



HAL
open science

Impact de la réactivation de l'acétylation des histones sur les performances mnésiques dans un modèle transgénique murin de la maladie d'Alzheimer : vers une nouvelle stratégie thérapeutique ?

Raphaëlle Cassel

► To cite this version:

Raphaëlle Cassel. Impact de la réactivation de l'acétylation des histones sur les performances mnésiques dans un modèle transgénique murin de la maladie d'Alzheimer : vers une nouvelle stratégie thérapeutique ?. Neurobiologie. Université de Strasbourg, 2014. Français. NNT : 2014STRAJ040 . tel-01250740

HAL Id: tel-01250740

<https://theses.hal.science/tel-01250740>

Submitted on 7 Jan 2016

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.

ÉCOLE DOCTORALE DES SCIENCES DE LA VIE ET DE LA SANTÉ (ED414)

Laboratoires de Neurosciences Cognitives et Adaptatives

THÈSE présentée par :
Raphaëlle CASSEL

Soutenue le : **29 septembre 2014**

Pour obtenir le grade de : **Docteur de l'université de Strasbourg**

Discipline/ Spécialité : Neurosciences

**Impact de la réactivation de l'acétylation des histones
sur les performances mnésiques dans un modèle
transgénique murin de la maladie d'Alzheimer : vers
une nouvelle stratégie thérapeutique ?**

THÈSE dirigée par :

Mme BOUTILLIER Anne-Laurence Directeur de recherche, Université de Strasbourg

RAPPORTEURS :

Mr MAURICE Tanguy

Directeur de recherche, Université de Montpellier

Mr BRION Jean-Pierre

Professeur, Université libre de Bruxelles

AUTRES MEMBRES DU JURY :

Mr DUPUIS Luc

Directeur de recherche, Faculté de médecine de Strasbourg

REMERCIEMENTS

Je remercie tout d'abord les membres de mon comité de thèse, les Dr Tangui Maurice et Luc Dupuis et le Pr Jean-Pierre Brion pour avoir accepté d'examiner ce travail de thèse.

Je tiens à remercier tout particulièrement ma directrice de thèse, le Dr Anne-Laurence Boutillier, Laurette pour les intimes, pour m'avoir donné l'opportunité de faire ma thèse sous sa direction, pour m'avoir permis d'appréhender une partie du monde de la biochimie. Merci également pour les voyages/congrès (Espagne, Lille et surtout Inde) mais surtout et par-dessus tout, pour ces discussions intenses que nous avons pu avoir.

Je remercie également le Dr Christian Kelche et le Pr Jean-Christophe Cassel pour m'avoir accueillie au LNCA. Je remercie tout particulièrement JC, disons qu'un passé commun nous lie... Merci de m'avoir transmis cette passion des neurosciences et de la rigueur. Etre « *fille de* » n'est jamais facile, mais je suis tellement fière d'être la tienne.

Je remercie Catherine Krieger pour sa disponibilité, ses réponses précieuses, son aide administrative. Je ne viendrai plus te déranger dans ton bureau les après-midis parce que je ne serai plus en comportement tous les matins.

Je tiens à remercier du fond du cœur Aurélie Bombardier, Brigitte Cosquer, Karin Geiger, Carole Schrittmatter pour leur aide précieuse durant toute ma thèse. Des petites mains fabuleuses, des oreilles à l'écoute... merci.

Je remercie aussi mes collègues de « bioch' », Anne, Olivier, Romain, Céline, qui m'ont appris une grande partie de ce que je sais des blots. J'aimerais aussi remercier Jyoti, grâce à qui l'anglais est devenu une langue presque courante pour moi.

Je remercie l'ensemble des statutaires et étudiants du LNCA pour les discussions et conseils qu'ils m'ont donné. Je remercie plus particulièrement le Dr Chantal Mathis pour tous ses conseils sur ces petites bêtes noires à quatre pattes et grandes oreilles. Ce n'est pas toujours facile de passer du Rat à la Souris, ses conseils m'ont été d'une aide très précieuse. Merci également au Dr Anne Pereira de Vasconcelos pour son soutien et ses mots d'encouragements.

Je remercie les animaliers pour avoir pris soin de mes souris, toutes mes souris....

Finalement, je remercie ma famille (ma pim's mim's pour son soutien au quotidien, mon frère pour ses encouragements), mes amis (Ste, Nel, Alicia, Flora et Audrey) toujours là pour me soutenir malgré le peu de temps que j'avais à leur accorder. J'ai également une pensée très émue pour tous « mes » disparus sans lesquels je n'aurais pas réalisé l'ensemble de mon cursus universitaire avec tant d'assiduité.

Enfin, et surtout, merci Thibault.

SOMMAIRE

LISTE DES FIGURES	
ABREVIATIONS PRINCIPALES	
PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS SCIENTIFIQUES	

INTRODUCTION GENERALE ET OBJECTIFS DE LA THESE 1

1. CADRE GENERAL DE LA THESE	1
2. OBJECTIFS DE LA THESE	2
3. STRUCTURE DE LA THESE	3

PARTIE 1 : CONTEXTE SCIENTIFIQUE 4

CHAPITRE 1 : LA MALADIE D'ALZHEIMER 4

1. GENERALITES	4
1.1. Histoire	4
1.2. Prévalence	5
2. MANIFESTATIONS CLINIQUES DE LA MALADIE D'ALZHEIMER.....	6
2.1. Les troubles mnésiques.....	6
2.2. Les troubles du langage.....	7
2.3. Les troubles gnosiques	7
2.4. Les fonctions exécutives	7
2.5. Les troubles praxiques	8
2.6. Les modifications psychologiques et comportementales.....	8
3. NEUROPATHOLOGIE DE LA MALADIE D'ALZHEIMER.....	9
3.1. Les plaques séniles ou amyloïdes	9
3.2. Les dégénérescences neurofibrillaires.....	12
3.2.1. <i>La protéine TAU</i>	13
3.2.2. <i>La protéine TAU et les Microtubules</i>	15
3.2.3. <i>Phosphorylation de la protéine TAU</i>	16
3.2.4. <i>Hyperphosphorylation de la protéine TAU</i>	17
3.3. L'atrophie corticale et la dilatation ventriculaire.....	23
4. ETIOLOGIE DE LA MALADIE D'ALZHEIMER.....	25
4.1. Les mutations génétiques	25
4.1.1. <i>Les mutations du gène codant pour l'APP</i>	25
4.1.2. <i>Les mutations des gènes codant pour les présénilines</i>	26

4.1.3.	<i>Le gène de l'Apolipoprotéine E</i>	26
4.2.	Les facteurs de risques	27
4.2.1.	<i>L'âge</i>	27
4.2.2.	<i>Le niveau d'éducation</i>	28
4.2.3.	<i>Les interactions sociales</i>	28
4.2.4.	<i>Le genre</i>	29
4.2.5.	<i>Les traumatismes crâniens</i>	29
5.	MODELISATION DE LA MALADIE D'ALZHEIMER	30
6.	LES SOURIS TRANSGENIQUES THY-TAU22	31
6.1.	Description du modèle	31
6.2.	Caractéristiques physiopathologiques	32
6.3.	Critères comportementaux	36
7.	LES TRAITEMENTS THERAPEUTIQUES	38
7.1.	Les traitements symptomatiques	38
7.2.	Les traitements neuroprotecteurs	38
	CHAPITRE 2 : LA MEMOIRE	40
1.	DEFINITIONS ET CLASSIFICATIONS DE LA MEMOIRE	40
1.1.	Définitions	40
1.2.	Classifications des différents systèmes de mémoire	41
1.2.1.	<i>Mémoire sensorielle et registres d'informations sensorielles</i>	41
1.2.2.	<i>Mémoire à court terme et mémoire de travail</i>	42
1.2.3.	<i>Mémoire à long terme et ses sous-systèmes</i>	44
1.2.4.	<i>Le modèles MNESIS</i>	48
1.2.5.	<i>Cas particulier de la mémoire spatiale</i>	49
2.	LA MEMOIRE SPATIALE ET L'HIPPOCAMPE	51
2.1.	Données anatomiques sur l'hippocampe	51
2.1.1.	<i>Organisation anatomique</i>	51
2.1.2.	<i>Connexions de l'hippocampe</i>	53
2.2.	Hippocampe et mémoires déclaratives	55
2.2.1.	<i>Rôle de l'hippocampe dans le codage neuronal de l'environnement</i>	55
2.2.2.	<i>Rôle de l'hippocampe dans les mémoires épisodique et sémantique</i>	57
3.	LA CONSOLIDATION MNESIQUE : DES SYNAPSES AUX SYSTEMES	59
3.1.	Généralités	59
3.2.	La consolidation synaptique	59

3.2.1.	<i>Plasticité synaptique et mémoire</i>	62
3.2.2.	<i>De la consolidation synaptique à l'expression des gènes</i>	63
3.2.3.	<i>Les bases moléculaires de la mémoire</i>	66
3.2.4.	<i>Plasticité synaptique et modifications épigénétiques</i>	66
3.3.	La consolidation systémique	68
3.3.1.	<i>L'émergence du concept de consolidation systémique</i>	68
3.3.2.	<i>La théorie standard de la consolidation systémique (Marr, 1971)</i>	68
3.3.3.	<i>La théorie des traces multiples (Nadel et Moscovitch, 1997)</i>	69
3.3.4.	<i>La théorie de la transformation (Moscovitch et coll., 2005)</i>	70
3.3.5.	<i>Consolidation systémique et cortex frontal</i>	71
4.	MEMOIRE ET NEUROGENESE	73
4.1.	La neurogenèse adulte	73
4.1.1.	<i>Régulation de la neurogenèse</i>	73
4.1.2.	<i>Comment un nouveau neurone devient-il fonctionnel ?</i>	77
4.2.	Rôles de la neurogenèse dans la mémoire	79
4.3.	Neurogenèse et vieillissement.....	81
4.4.	Neurogenèse et maladies neurodégénératives.....	82

CHAPITRE 3 : MODIFICATIONS EPIGENETIQUES 83

1.	LES MODIFICATIONS EPIGENETIQUES	83
1.1.	Définition générale	83
1.2.	Les nucléosomes	83
1.3.	Les différentes modifications épigénétiques.....	86
1.3.1.	<i>La méthylation</i>	87
1.3.2.	<i>La phosphorylation</i>	89
1.3.3.	<i>L'acétylation</i>	90
1.3.4.	<i>Interactions entre les différentes modifications épigénétiques</i>	93
2.	REGULATION DE L'ACETYLATION DES HISTONES : DIALOGUE ENTRE LES HATs ET LES HDACs	95
2.1.	Les Histones AcétylTransférases	95
2.1.1.	<i>Classification</i>	95
2.1.2.	<i>PCAF, CBP et p300</i>	96
2.2.	Les Histones Déacétylases.....	98
3.	REGULATIONS PHARMACOLOGIQUES DE L'ACETYLATION DES HISTONES	101
3.1.	Modulation des HATs	101
3.1.1.	<i>Inhibiteurs des HATs</i>	101
3.1.2.	<i>Activations des HATs</i>	102

3.2.	Modulation des HDACs	103
4.	MODIFICATIONS EPIGENETIQUE ET MEMOIRE	105
4.1.	Rôles des HATs dans la mémoire	106
4.1.1.	<i>Rôles de CBP</i>	107
4.1.2.	<i>Rôles de p300</i>	109
4.1.3.	<i>Rôles de PCAF</i>	110
4.2.	Rôles des HDACs dans la mémoire.....	112
5.	LE VIEILLISSEMENT ET LES MODIFICATIONS EPIGENETIQUES.....	114
6.	MODIFICATIONS EPIGENETIQUES DANS LES MALADIES NEURODEGENERATIVES.....	116
7.	MODIFICATIONS EPIGENETIQUES DANS LA MALADIE D'ALZHEIMER	118
7.1.	Méthylation de l'ADN.....	118
7.2.	Acétylation des histones	118
7.2.1.	<i>Rôles des HATs</i>	119
7.2.2.	<i>Rôles des HDACs</i>	121

PARTIE 2 : CONTRIBUTIONS EXPERIMENTALES 125

PUBLICATION 1: A NOVEL ACTIVATOR OF CBP/p300 HAT PROMOTES NEUROGENESIS AND EXTENDS MEMORY DURATION IN ADULT MICE 125

Contexte scientifique et objectifs	125
Article	127
Discussion.....	142
1. CSP-TTK21 ET LA MATURATION NEURONALE	143
2. CSP-TTK21 ET LA MEMOIRE SPATIALE	144
3. VERS UNE NOUVELLE CIBLE THERAPEUTIQUE DANS LES MALADIES DE LA MEMOIRE ?.....	145
PERSPECTIVES.....	146

PUBLICATION 2: EFFECT OF AN ACUTE OR CHRONIC TREATMENT WITH AN HDAC INHIBITOR (4-PHENYLBUTYRATE) ON SPATIAL MEMORY PERFORMANCES AND PATHOLOGICAL MARKERS IN A MOUSE MODEL OF TAUOPATHY 148

Contexte scientifique et objectifs	148
Article	150
Données supplémentaires.....	177
1. Matériels et méthodes complémentaires	177
2. Résultats.....	178

Discussion	182
1. RESTAURATION DES PERFORMANCES MNESIQUES CHEZ LES SOURIS THY-TAU22	182
2. IMPACT DE L'ADMINISTRATION CHRONIQUE DU PHEBU SUR LE DEVELOPPEMENT DE LA PATHOLOGIE	183
3. RESTAURATION DES PERFORMANCES MNESIQUES CHEZ LES SOURIS AGEES.....	184
4. L'EFFET NEFASTE DU PHENYL BUTYRATE EN INJECTIONS AIGUËS CHEZ LES SOURIS WT	184
Perspectives	186

PUBLICATION 3: POTENTIAL THERAPEUTIC EFFECT OF A HAT ACTIVATOR MOLECULE (CSP-TTK21) IN A MOUSE MODEL OF ALZHEIMER'S DISEASE..... 187

Contexte scientifique et objectifs	187
Matériels et méthodes	188
Résultats	193
1. NIVEAU D'ACÉTYLATION DES HISTONES CHEZ LES SOURIS THY-TAU22 DE 12 MOIS.....	193
2. NIVEAU D'EXPRESSION DE CBP	194
3. IMPACT DE CSP-TTK21 SUR LA MEMOIRE SPATIALE DES SOURIS THY-TAU22.....	196
4. EFFET DE CSP-TTK21 SUR LA NEUROGENESE ADULTE DES SOURIS THY-TAU 22.....	198
5. ADMINISTRATION DE CSP-TTK21 ET ACÉTYLATION DES HISTONES DES THY-TAU22	200
Discussion	202
1. DEREGULATIONS EPIGENETIQUES CHEZ LES SOURIS THY-TAU22	202
2. RESTAURATION DES PERFORMANCES EN MEMOIRE SPATIALE CHEZ LES SOURIS THY-TAU22.....	203
3. CSP-TTK21 ET LA NEUROGENESE ADULTE CHEZ LES SOURIS THY-TAU22.....	204
Perspectives.....	206

PARTIE 3 : DISCUSSION GENERALE ET PERSPECTIVES 208

1. VALIDITE DU MODELE DES SOURIS THY-TAU22.....	208
2. LIMITES DES MOLECULES UTILISEES	219
3. ACTIVER LES HATS OU INHIBER LES HDACs ?	222
4. PERSPECTIVES	231

ANNEXES 234

EVALUATION DE LA MEMOIRE SPATIALE DE REFERENCE AVEC LE TEST DE LA PISCINE DE MORRIS CHEZ LA SOURIS	
1. DESCRIPTION DU DISPOSITIF.....	234
2. PROCEDURE EXPERIMENTALE	235

PUBLICATIONS ISSUES DE COLLABORATIONS PENDANT LA THESE

PUBLICATION 4	239
---------------------	-----

Schneider A, Chatterjee S, Bousiges O, Selvi BR, Swaminathan A, Cassel R, Blanc F, Kundu TK, Boutillier AL. Acetyltransferases (HATs) as targets for neurological therapeutics. *Neurotherapeutics*, 2013 Oct; 10(4):568-88.

PUBLICATION 5 241

Cassel R, Kelche C, Lecourtier L, Cassel JC. The match/mismatch of visuo-spatial cues between acquisition and retrieval contexts influences the expression of response vs. place memory in rats. *Behavioral Brain Research*, 2012 May 1;230(2):333-42.

PUBLICATION 6 243

Cholvin T, Loureiro M, Cassel R, Cosquer B, Geiger K, Kelche C, Cassel JC & Pereira de Vasconcelos A. Dorsal hippocampus and medial prefrontal cortex each contribute to the retrieval of a recent spatial memory in rats. *En révision pour Brain Structure and Function*

PUBLICATION 7 245

Cholvin T*, Loureiro M*, Cassel R*, Cosquer B, Geiger K, De Sa Nogueira D, Raingard H, Robelin L, Kelche C, Pereira de Vasconcelos A, Cassel JC. The ventral midline thalamus contributes to strategy shifting in a memory task requiring both prefrontal and hippocampal functions. *Equal contributors. *Journal of Neuroscience*, 2013 May 15; 33(20):8772-83

PUBLICATION 8 247

Jacquet M, Lecourtier L, Cassel R, Loureiro M, Cosquer B, Escoffier G, Migliorati M, Cassel JC, Romana FS, Marchetti E. Dorsolateral striatum and dorsal hippocampus: A serial contribution to acquisition of cue-reward associations in rats. *Behavioural Brain Research* 239 (2013) 94–103

PUBLICATION 9 249

Swaminathan A, Delage H, Chatterjee S, Dutron L, Cassel R, Martinez N, Cosquer B, Kumari S, Mongelard F, Lannes B, Cassel JC, Boutillier AL, Bouvet P, Kundu TK. Multifunctional Chromatin Organizing protein, PC4 is critical for brain plasticity. *En préparation pour Nature communication*

BIBLIOGRAPHIE 251

LISTE DES FIGURES

PARTIE 1 : CONTEXTE SCIENTIFIQUE

CHAPITRE 1 : LA MALADIE D'ALZHEIMER

Figure 1 : Alois Alzheimer et Auguste D	4
Figure 2 : Estimation du nombre de personnes touchées par la MA en France.....	5
Figure 3 : Images de microscopie des plaques séniles.....	9
Figure 4 : Les deux voies de protéolyse de l'APP	10
Figure 5 : Représentation schématique de l'atteinte par les plaques séniles	12
Figure 6 : Photographies de dégénérescences neurofibrillaires.....	12
Figure 7 : Les différents domaines de la protéine TAU	13
Figure 8 : Les 6 isoformes de la protéine TAU.....	14
Figure 9 : Modèle de liaison entre la protéine TAU et les MTs.....	16
Figure 10 : Sites de phosphorylation de la protéine TAU	17
Figure 11 : Les diverses fonctions de la protéine TAU	18
Figure 12 : La protéine TAU et le transport axonal	20
Figure 13 : Lien entre le développement des DNFs et les troubles cognitifs.....	20
Figure 14 : Evolution des DNFs dans le cerveau de patients atteints de la MA	22
Figure 15 : L'atrophie corticale dans la MA.....	24
Figure 16 : Fonctions de l'ApoE	26
Figure 17 : Corrélation de l'âge de développement de la MA en fonction du statut marital .	28
Figure 18 : Génération du modèle murin THY-Tau22	31
Figure 19 : Gliose réactionnelle chez les souris THY-Tau22	33
Figure 20 : Test de suspension par la queue	33
Figure 21 : Evaluation de la densité cellulaire dans la couche CA1	34
Figure 22 : Dépression à long terme chez les souris THY-Tau22	35

CHAPITRE 2 : LA MEMOIRE

Figure 23 : Modèle modal proposé par Atkinson et Shiffrin	42
Figure 24 : Modèle de la mémoire de travail proposé par Baddeley et Hitch.....	43
Figure 25 : Présentation de Henry Molaison	45
Figure 26 : Modèle d'organisation hiérarchique des sous-systèmes de la MLT	46
Figure 27 : Le modèle MNESIS.....	49
Figure 28 : L'hippocampe chez l'Homme, le Singe et le Rat	51
Figure 29 : Sections horizontales de l'hippocampe de Rat	52
Figure 30 : La voie trisynaptique de l'hippocampe	54
Figure 31 : Les cellules spécialisées dans le codage de l'environnement.....	56
Figure 32 : La plasticité synaptique à court terme	61
Figure 33 : Mécanismes moléculaires de la plasticité à long terme précoce et tardive.....	64

Figure 34 : De la stimulation neurale à la création de nouvelles synapses	65
Figure 35 : Modulation épigénétique de l'expression de <i>c-Fos</i>	67
Figure 36 : La théorie standard de de la consolidation systémique	69
Figure 37 : La théorie des traces multiples	70
Figure 38 : L'activité corticale au cours du temps.....	71
Figure 39 : Rôle du cortex préfrontal dans le rappel d'une mémoire ancienne.....	72
Figure 40 : Modulation de la neurogenèse adulte	74
Figure 41 : Régulation épigénétique de la NGS adulte hippocampique	75
Figure 42 : Prolifération et maturation des nouveaux neurones	78
Figure 43 : Rôle de la neurogenèse dans la mémoire	80
Figure 44 : Effet de l'âge sur la neurogenèse.....	81

CHAPITRE 3 : LES MODIFICATIONS EPIGENETIQUES

Figure 45 : Le nucléosome.....	84
Figure 46 : Niveaux successifs de condensation de l'ADN	85
Figure 47 : Les différentes modifications épigénétiques	86
Figure 48 : Méthylation et déméthylation de l'ADN	87
Figure 49 : La méthylation des histones.....	89
Figure 50 : L'acétylation des histones	90
Figure 51 : Le dialogue des modifications épigénétiques	93
Figure 52 : Classification des différentes HATs	96
Figure 53 : Les différents domaines fonctionnels de PCAF	97
Figure 54 : Les différents domaines fonctionnels de CBP	97
Figure 55 : Voies d'activation de CBP dans les neurones.....	98
Figure 56 : Les différentes HDACs	99
Figure 57 : Voies d'activation des HDAC1/2 et 3	100
Figure 58 : Description des différents inhibiteurs des HDACs	103
Figure 59 : Implication des mécanismes épigénétiques dans la mémoire	105
Figure 60 : Expression des gènes au cours de la consolidation d'une mémoire	111
Figure 61 : Modèle de la répression de l'expression des gènes	113
Figure 62 : Altérations épigénétiques dans les maladies neurodégénératives	117
Figure 63 : Modifications épigénétiques dans la maladie d'Alzheimer	123

PARTIE 2 : CONTRIBUTIONS EXPERIMENTALES

Figure 64 : CSP-TTK21 dans la cellule	142
Figure 65 : Photographie de l'injection intrapéritonéale d'une souris	178
Figure 66 : Administration aiguë de PheBu chez des souris WT de 12 et 18 mois	179
Figure 67 : Administration chronique du PheBu chez des souris WT	181

PARTIE 3 : DISCUSSION GENERALE

Figure 68 : Effet de l'administration d'iHDACs dans les modèles murins de la MA	224
Figure 69 : Effet de l'administration de CSP-TTK21 chez les souris WT	226
Figure 70 : Effet de l'administration de CSP-TTK21 les souris THY-Tau22	227

ANNEXES

Figure 71 : Photographie de la pièce et du test de la piscine de Morris	234
Figure 72 : Photographie des conditions d'élevage des souris.....	235
Figure 73 : Décours temporel d'une expérience de piscine de Morris.....	237
Figure 74 : Evaluation du rappel d'une mémoire dans le test de la piscine de Morris	238

ABREVIATIONS PRINCIPALES

ADN	Acide DésoxyRibonucléique
aHAT	activateur des HATs
APP	<i>Amyloid Protein Precursor</i>
ARN	Acide Ribonucléique
BDNF	<i>Brain-derived Neurotrophic factors</i>
BHE	Barrière Hémato Encéphalique
CA1, 2 et 3	Corne d'Ammon 1, 2 et 3
CaMKII	<i>Calcium/CalModuline-dependent protein Kinase II</i>
CBP	<i>CREB-Binding Protein (CREBBP)</i>
CRE	<i>cAMP Response Element</i>
CREB	<i>cAMP Response Element-binding Protein</i>
DNFs	Dégénérescence NeuroFibrillaires
DNMTs	DNA Méthyl Transférases
FTs	Facteurs de Transcription
FTDP-17	<i>Frontotemporal dementia and parkinsonism linked to chromosome 17</i> (démences frontotemporales avec syndrome parkinsonien liée au chromosome 17)
GSK-3 β	<i>Glycogen Synthase kinase 3β</i>
HATs	Histones AcétylTransférases
HDACs	Histones DéAcétylases
H.M.	Henry Molaison
iHDACs	inhibiteurs des HDACs
K	résidu lysine
MA	Maladie d'Alzheimer
MAP	<i>Microtubule-Associated Protein</i>
MAPK	<i>Mitogen-Activated Protein Kinase</i>
MCT	Mémoire à Court Terme
MdT	Mémoire de Travail
MECP2	<i>MEthyl CpG binding Protein 2</i>
MLT	Mémoire à Long Terme
MTs	MicroTubules
NaBu	sodium butyrate
NMDA	N-Méthyl-D-Aspartate
PCAF	<i>p300/CBP-associated factor</i>
Peptide A β	peptide amyloïde beta
PheBu	phénylbutyrate de sodium
PLT	Potentialisation à Long Terme
R	résidu Arginine
ARN pol II	ARN polymérase II
S	résidu Sérine
T	résidu Thréonine
WT	<i>Wild Type</i> , souris sauvages
Y	résidu Tyrosine

PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS

PUBLICATIONS DISCUTEES DANS CETTE THESE

Chatterjee S*, Mizar P*, **Cassel R***, Neidl R, Selvi BR, Mohankrishna DV, Vedamurthy BM, Schneider A, Bousiges O, Mathis C, Cassel JC, Eswaramoorthy M, Kundu TK, Boutillier AL. A novel activator of CBP/p300 acetyltransferases promotes neurogenesis and extends memory duration in adult mice.* Equal contributors. *Journal of Neuroscience*, 2013 Jun 26;33(26):10698-712

Cassel R, Cosquer B, Strittmatter C, Blum D, Buée L, Cassel JC, Boutillier AL. Effect of an acute or chronic treatment with an HDAC inhibitor (4-Phenylbutyrate) on spatial memory performances and pathological markers in a mouse model of tauopathy, *in preparation for Neurobiology of aging*

Cassel R, Chatterjee S, Bousiges O, Schneider A, Hamm V, Goutagny R, Cosquer B, Stittmatter C, Blum D, Buée L, Kundu TK, Cassel JC, Boutillier AL Potential therapeutic effect of a HAT activator molecule (CSP-TTK21) in a mouse model of Alzheimer's disease, *in preparation*

PUBLICATIONS ISSUES DE COLLABORATIONS PENDANT LA THESE

Cassel R, Kelche C, Lecourtier L, Cassel JC. The match/mismatch of visuo-spatial cues between acquisition and retrieval contexts influences the expression of response vs. place memory in rats. *Behavioral Brain Research*, 2012 May 1;230(2):333-42.

Cholvin T*, Loureiro M*, **Cassel R***, Cosquer B, Geiger K, De Sa Nogueira D, Raingard H, Robelin L, Kelche C, Pereira de Vasconcelos A, Cassel JC. The ventral midline thalamus contributes to strategy shifting in a memory task requiring both prefrontal and hippocampal functions. *Equal contributors. *Journal of Neuroscience*, 2013 May 15; 33(20):8772-83

Jacquet M, Lecourtier L, **Cassel R**, Loureiro M, Cosquer B, Escoffier G, Migliorati M, Cassel JC, Romana FS, Marchetti E. Dorsolateral striatum and dorsal hippocampus: A serial contribution to acquisition of cue-reward associations in rats. *Behavioural Brain Research* 239 (2013) 94–103

Schneider A, Chatterjee S, Bousiges O, Selvi BR, Swaminathan A, **Cassel R**, Blanc F, Kundu TK, Boutillier AL. Acetyltransferases (HATs) as targets for neurological therapeutics. *Neurotherapeutics*, 2013 Oct; 10(4):568-88.

Cholvin T, Loureiro M, **Cassel R**, Cosquer B, Geiger K, Kelche C, Cassel JC & Pereira de Vasconcelos A. Dorsal hippocampus and medial prefrontal cortex each contribute to the retrieval of a recent spatial memory in rats. *En révision pour Brain Structure and Function*.

Swaminathan A, Delage H, Chatterjee S, Dutron L, **Cassel R**, Martinez N, Cosquer B, Kumari S, Mongelard F, Lannes B, Cassel JC, Boutillier AL, Bouvet P, Kundu TK. Multifunctional Chromatin Organizing protein, PC4 is critical for brain plasticity. *Submit at Nature communications*

COMMUNICATIONS ORALES

Séminaire Invité : Inde, le 20 avril 2014, présentation de mes travaux devant le laboratoire du professeur Tapas Kundu (Transcription and disease Laboratory, (JNCASR), Bangalore, India) dans le cadre de la collaboration que nous entretenons avec lui sur la molécule CSP-TTK21. ***Potential therapeutic effect of a HAT activator molecule (CSP-TTK21) in a mouse model of Alzheimer's disease.***

Neuropôle : Strasbourg, le 22 novembre 2013, ***Modulations épigénétiques au cours de la formation d'une mémoire spatiale : vers une nouvelle cible thérapeutique dans la maladie d'Alzheimer ?***

COMMUNICATIONS AFFICHÉES

Cassel R, Schneider A, Buée L, Blum D, Cassel JC, Boutillier AL: ***Acute treatment with an HDAC inhibitor (Phenylbutyrate) improves spatial memory performances in a mouse model of tauopathy.*** Neurex Annual meeting, Strasbourg, October 25th, 2012

Cassel R, Schneider A, Buée L, Blum D, Cassel JC, Boutillier AL: ***Acute treatment with an HDAC inhibitor (Phenylbutyrate) improves spatial memory performances in a mouse model of tauopathy.*** WORKSHOP "Neuroepigenetics: a new perspective on memory mechanisms and brain disorders." Baeza, Spain. October 29-31 2012

Cassel R, Chatterjee S, Mizar P, Neidl R, Selvi BR, Mohankrishna DV, Vedamurthy BM, Schneider A, Bousiges O, Mathis C, Cassel JC, Eswaramoorthy M, Kundu TK, Boutillier AL ***Small molecule activator of CBP/p300 acetyltransferases promotes neurogenesis and extends memory duration in adult mice,*** Neurex workshop : « Neuroprotection and neurogenesis », Strasbourg, March 26th 2013

Cassel R, Chatterjee S, Mizar P, Neidl R, Selvi BR, Mohankrishna DV, Vedamurthy BM, Schneider A, Bousiges O, Mathis C, Cassel JC, Eswaramoorthy M, Kundu TK, Boutillier AL ***Small molecule activator of CBP/p300 acetyltransferases promotes neurogenesis and extends memory duration in adult mice,*** The 11th meeting of the French Neuroscience Society. Lyon, May 22-24, 2013.

*INTRODUCTION GENERALE ET
OBJECTIFS DE LA THESE*

INTRODUCTION GENERALE ET OBJECTIFS DE LA THESE

1. CADRE GENERAL DE LA THESE

La maladie d'Alzheimer (MA) est la démence la plus répandue chez les personnes âgées et représente un réel problème de santé publique en raison du vieillissement de la population (et donc du nombre croissant de personnes atteintes). L'étiologie de la MA n'est pas encore élucidée ; elle est de forme sporadique dans 99% des cas, et a une origine génétique (familiale) dans 1% des cas (Lambert et Amouyel, 2007). Bien que beaucoup de facteurs de risque soient susceptibles d'influencer son développement, les conséquences physiologiques et le développement de cette maladie sont de mieux en mieux appréhendés. La MA est caractérisée par la présence de marqueurs neurophysiopathologiques spécifiques. Bien qu'une avancée incroyable ait été réalisée ces dernières années en ce qui concerne leur détection par Imagerie par Résonance Magnétique fonctionnelle (IRMf), le diagnostic certain reste l'apanage de l'examen post-mortem. Pour l'heure, la MA est diagnostiquée en terme de probabilité suite à une évaluation neuropsychologique et à la recherche de certains marqueurs dans le sang (pour établir les diagnostics différentiels) et dans le LCR (niveau de la protéine TAU phosphorylée ou le niveau du peptide A β 42). Concernant les troubles cognitifs dont les patients atteints de la MA souffrent, les troubles mnésiques sont les plus précoces (Storey et coll., 2002) mais il y en a beaucoup d'autres (aphasie, agnosie, apraxie). Les traitements disponibles à l'heure actuelle visent à diminuer les symptômes, et notamment les troubles mnésiques ressentis par les patients, mais n'ont qu'un effet modéré.

La mémoire est une fonction cognitive complexe qui vise à permettre l'adaptation des comportements d'un individu grâce à ses expériences passées. A l'échelle du cerveau entier, elle implique de nombreuses structures cérébrales, et à l'échelle du neurone, un grand nombre de processus physiologiques qui dépendent de la synthèse de nouvelles protéines (Kandel, 2001 ; Miyamoto, 2006). La synthèse protéique dépend de la transcription de gènes, mécanisme dont la régulation est assurée par les modifications épigénétiques. Plusieurs modifications épigénétiques ont été décrites, certaines ayant lieu sur l'ADN et d'autres sur les protéines histones. Au laboratoire, nous nous intéressons plus particulièrement à l'acétylation des histones, car cette modification épigénétique est

fortement impliquée dans la mise en place et le rappel d'une mémoire spatiale (Bousiges et coll., 2010 et 2013) et que son altération entraîne des troubles cognitifs importants (Peixoto et Abel, 2013). Le niveau d'acétylation des histones est régulée par deux familles d'enzymes, les histones acétyltransférases (HATs) et les histones déacétylases (HDACs), respectivement responsable de l'ajout ou du retrait d'un groupement acétyl au niveau des résidus lysines présents sur les queues N- et C-terminales des histones.

De nombreuses études ont poussé la communauté neuroscientifique à considérer qu'une altération des modifications épigénétiques, et notamment de l'acétylation des histones, pouvait être à l'origine des troubles cognitifs observés dans certaines maladies neurodégénératives, comme dans la Maladie d'Huntington (Steffan et coll., 2001), la maladie de Parkinson (Kontopoulos et coll., 2006), la Sclérose Latérale Amyotrophique (Rouaux et coll., 2003) ou encore la MA (Gräff et coll., 2012 ; Liu et coll., 2012 ; Fischer, 2014a). Dans un but thérapeutique, notre démarche a été de rétablir l'acétylation des histones dans un modèle murin de la MA, les souris THY-Tau22 (présentant des DNFs semblables à celles observées chez les patients souffrant de la MA).

2. OBJECTIFS DE LA THESE

Mon hypothèse de travail se base sur l'existence de dérégulations épigénétiques dans la MA, dérégulations qui seraient à l'origine de modifications transcriptionnelles pathologiques à la base des troubles mnésiques observés chez les patients atteints de la MA. Pour tester cette hypothèse, nous avons utilisé un modèle de souris transgéniques de la MA, les souris THY-Tau22, auquel nous avons administré deux traitements susceptibles d'augmenter le niveau d'acétylation des histones : le phénylbutyrate (un inhibiteurs des HDACs) et la CSP-TTK21 (un activateur des HATs). CSP-TTK21 est actuellement la seule molécule connue capable à la fois de passer la Barrière Hémato Encéphalique (BHE) et d'activer les HATs *in vitro* (brevet WO 2013/160885 A1). Cette molécule étant pour la toute première fois utilisée *in vivo*, nous l'avons d'abord caractérisée chez des souris sauvages jeunes adultes (WT).

De nombreux auteurs ont montré que l'acquisition d'une mémoire engendre une augmentation de l'acétylation des histones et que l'altération de ce mécanisme entraîne des troubles de l'apprentissage (Levenson et coll., 2004 ; Alarcón et coll., 2004 ; Chen et coll., 2010 ; Valor et coll., 2011). Nous avons observé l'effet de l'administration d'un activateur

des HATs, CSP-TTK21, chez les souris THY-Tau22 en condition basale (les animaux restent dans leur cage) mais également lors de l'apprentissage d'une mémoire spatiale. Nous nous sommes intéressés à l'effet de ce traitement sur la neurogenèse et sur la transcription de gènes impliqués dans la mémoire. La seconde stratégie thérapeutique visait également à augmenter le niveau d'acétylation, mais en utilisant un inhibiteur des HDACs. Ces enzymes étant responsables de la déacétylation des histones, en diminuant l'activité des HDACs, le niveau d'acétylation augmente. Nous avons ainsi observé les effets du phénylbutyrate, administré de façon aiguë ou chronique, sur les capacités mnésiques de souris THY-Tau22 et de souris WT âgées, ainsi que sur le développement des DNFs chez les souris THY-Tau22.

3. STRUCTURE DE LA THESE

Dans la première partie de ma thèse, intitulée « Contexte scientifique », je développe en trois chapitres les concepts autour desquels s'articule mon travail de thèse. J'aborde dans un premier temps la maladie d'Alzheimer, ses caractéristiques physiopathologiques, les symptômes qu'elle engendre mais également sa modélisation chez l'animal, en décrivant plus particulièrement le modèle que j'ai utilisé dans le cadre de ma thèse. Je décris ensuite les différents systèmes de mémoire, leur fonctionnement, leurs substrats neuroanatomiques et l'implication de la neurogenèse adulte dans les processus mnésiques. Enfin, je développe le lien entre la mémoire et les modifications épigénétiques, ainsi que l'implication de ces modifications dans la MA. Dans la deuxième partie de cette thèse, « Contributions expérimentales », je présente les principaux résultats obtenus sous forme d'articles publiés ou en préparation. Enfin, dans la dernière partie, « Discussion générale et perspectives », je discute de la validité du modèle de souris THY-Tau22. J'y aborde notamment les limites des molécules utilisées dans le cadre de ma thèse. Enfin, après un rapide résumé des résultats que j'ai obtenus avec le phénylbutyrate et CSP-TTK21, je discute de l'efficacité de ces deux molécules et de la différence entre ces deux approches, avant de finir sur les perspectives ouvertes par les résultats obtenus au cours de ma thèse.

PARTIE 1 :
CONTEXTE SCIENTIFIQUE

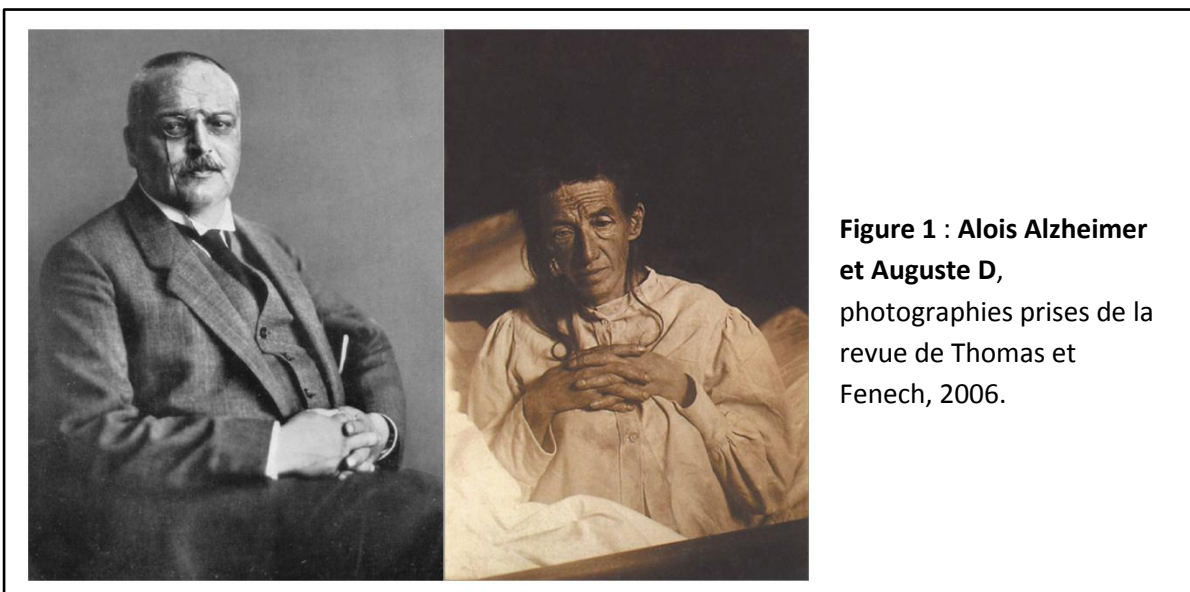
CHAPITRE 1 : LA MALADIE D'ALZHEIMER

CHAPITRE 1 : LA MALADIE D'ALZHEIMER

1. GENERALITES

1.1. Histoire

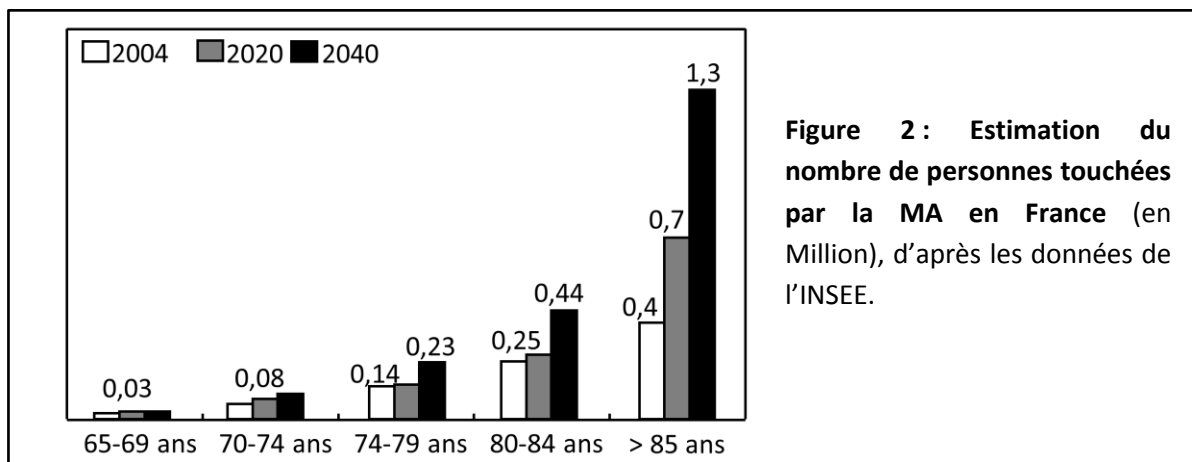
En 1907, Aloïs Alzheimer publie un article intitulé « *une maladie caractéristique grave du cortex cérébral* ». Il y décrit « *une femme de 51 ans* », Auguste D qui présentait « *parmi les premiers symptômes de sa maladie une forte jalousie envers son mari. Elle montra très vite une dégradation importante de la mémoire, elle était désorientée [...] elle mourut après quatre ans et demi de la maladie* ». Cette patiente présente également des troubles praxiques (réalisation des gestes), phasiques (langage) et graphiques (dessin) à l'origine d'un handicap social important (retrait et isolement social) et d'une perte d'autonomie. Aloïs Alzheimer poursuit ses recherches sur le plan anatomique et décrit « *au centre d'une cellule apparemment normale, se dressent plusieurs fibrilles caractérisées par leur épaisseur et leur imprégnabilité importante* » à une coloration argentée. « *De nombreux petits foyers similaires se trouvent dans les couches supérieures du cortex, caractérisés par l'accumulation d'une substance* ». Le tableau clinique est clair dès le début : il y a une apparition progressive de troubles des fonctions supérieures dont l'évolution inexorable conduit à un état démentiel et à une dépendance complète en 5 à 10 ans.



Il faudra attendre 1984 pour que la nature et la composition des plaques séniles (ou amyloïdes) soient décrites : il s'agit d'agrégats du peptide β -amyloïde (Glennner et coll., 1984). L'année suivante, Brion et ses collaborateurs décrivent la nature des dégénérescences neurofibrillaires : elles sont formées d'agrégats constitués principalement de la protéine TAU.

1.2. Prévalence

La Maladie d'Alzheimer est une maladie neurodégénérative qui représente la démence la plus fréquente chez les personnes âgées (70 à 80 %). A l'heure actuelle, 600 000 à 800 000 personnes souffrent de la MA en France et 110 000 nouveaux cas sont recensés chaque année (cf. Figure 2). Dans une étude de 2005, Ferri et collaborateurs estiment qu'en 2020 le nombre de personnes touchées par la MA atteindra 42,3 millions de personnes dans la monde et approximativement 81,1 millions à l'horizon 2040.



Au vu du vieillissement général de la population, la MA représente un grave problème de santé publique en raison de la perte d'autonomie dont les patients souffrent, de la nécessité de mise en place d'aide à domicile et finalement de la mise en institution.

2. MANIFESTATIONS CLINIQUES DE LA MALADIE D'ALZHEIMER

La MA évolue en plusieurs stades. Tout commence par le stade **préclinique** durant lequel aucun signe clinique n'est observé, mais la formation lente et progressive des foyers lésionnels (notamment au niveau de l'hippocampe et de l'amygdale) débute. La seconde phase est la phase **pré-déméntielle** ou *Mild Cognitive Impairment*. Les premiers troubles de la mémoire apparaissent (en raison des lésions hippocampiques) et il n'est pas rare de constater des modifications émotionnelles (liées à l'atteinte de l'amygdale). A ce stade, l'autonomie du patient est préservée. Arrive ensuite la **phase démentielle** caractérisée par une aggravation des troubles mnésiques et émotionnels, l'apparition d'autres troubles cognitifs (aphasie, apraxie, agnosie) et d'une diminution importante de l'autonomie du patient.

2.1. Les troubles mnésiques

Les troubles de la mémoire (amnésie) sont observés dès le stade pré-déméntiel de la pathologie chez 75% des patients. La première mémoire altérée est la mémoire épisodique (Storey et coll., 2002). Cette mémoire regroupe l'ensemble des événements personnellement vécus par un individu. Au début, le patient oublie ce qu'il a fait la veille. Ensuite, l'entourage constate l'oubli d'événements marquants de la vie du patient accompagné d'une confusion dans l'ordre chronologique des souvenirs (désorientation temporelle). Dans le stade ultime, le patient ne se souvient plus de sa vie, de son mariage, de ses enfants, de son conjoint. L'origine de cette atteinte résulterait plutôt d'un trouble de l'encodage que d'un trouble du stockage ou du rappel de l'information (Greene et coll., 1996 ; Grober et Kawas, 1997 ; Grober et coll., 1999).

On observe également une perturbation des capacités d'orientation dans l'espace de l'individu (Pai et Jacobs, 2004). Le patient se perd dans des quartiers qu'il a parcourus pendant des années et finit même par être désorienté dans son propre appartement. Une corrélation entre les troubles de désorientation et l'atteinte précoce de l'hippocampe postérieur a été mise en évidence chez les patients souffrant de la MA par Delpolyi et ses collaborateurs en 2007.

Des troubles de la mémoire sémantique sont aussi observés dans la maladie mais ils apparaissent plus tardivement (Corbett et coll., 2014). Les patients oublient le sens de certains mots, les connaissances générales apprises des années auparavant. Les mémoires à court terme et procédurale sont relativement préservées (Beaunieux et coll., 2011).

De nombreuses questions restent en suspens concernant la cause des troubles cognitifs. Certains auteurs proposent que ces troubles sont liés aux plaques séniles, d'autres aux DNFs et d'autres encore à l'atrophie corticale (Swerdlow, 2012 ; Sheng et coll., 2012).

2.2. Les troubles du langage

L'aphasie, ou trouble du langage, est retrouvée dans 40 % des cas dès le début de la pathologie. Ce symptôme débute avec un trouble de la dénomination ou anomie, c'est-à-dire que le patient souffre d'un manque de mot (Macoir et coll., 2014). Au début, l'aphasie peut passer inaperçue parce que le patient utilise assez souvent des paraphrases. Ce trouble est évalué grâce à des tâches d'évocation lexicale (« donnez-moi autant de mot que vous pouvez commençant par la lettre A »), tâches pour lesquelles les patients Alzheimer présentent de faibles performances (Weakley et Schmitter-Edgecombe, 2014). Ces troubles s'accompagnent de dysorthographe (mauvaise orthographe des mots) et d'agraphie (écriture illisible) (Sakurai et coll., 2013).

2.3. Les troubles gnosiques

L'agnosie regroupe les troubles de la reconnaissance. Dans 30% des cas, les patients présentent une agnosie visuelle, c'est-à-dire qu'ils ne reconnaissent pas les objets qu'on leur présente. Au début, les troubles gnosiques touchent les objets du quotidien puis les visages (prosopagnosie, Cheng et Pai, 2010 ; Lee et Pai, 2012), souvent à l'origine des troubles du comportement car l'entourage est alors perçu comme étranger par les patients (Davis et coll., 2011). Les patients souffrent également d'anosognosie, c'est-à-dire qu'ils n'ont pas conscience d'être malade (Verhülsdonk et coll., 2013 ; Chen et coll., 2014).

2.4. Les fonctions exécutives

Les fonctions exécutives regroupent l'ensemble des fonctions nécessaires au contrôle et à la réalisation des tâches complexes nouvelles et non automatiques. Ainsi, la résolution de

problème, la planification d'une tâche, la gestion d'imprévus deviennent ingérables pour les patients (Greene et coll., 1995 ; Law et coll., 2014).

2.5. Les troubles praxiques

Les troubles praxiques désignent les troubles de la coordination des gestes (alors que les fonctions motrices et sensitives sont intactes). Ces troubles sont rarement présents dès le début de la pathologie mais apparaissent par la suite (Lesourd et coll., 2013). On peut ainsi retrouver différents types d'apraxie chez les patients Alzheimer : l'apraxie réflexive (le patient est incapable de reproduire des gestes sans signification), l'apraxie visuo-constructive (incapacité de reproduire un dessin), l'apraxie de l'habillement (impossibilité de s'habiller seul), l'apraxie idéo-motrice (difficulté à mimer l'utilisation d'un objet ou des gestes symboliques, comme mettre une lettre dans une enveloppe et y apposer un timbre).

2.6. Les modifications psychologiques et comportementales

Les patients Alzheimer présentent souvent un désintérêt global, une apathie (incapacité à ressentir du plaisir), un émoussement affectif et un retrait social (Mizukami, 2013 ; Spalletta et coll., 2014). Dans 50 % des cas de MA, les patients présentent des troubles de l'anxiété, une agressivité importante et une agitation générale (liées aux gnosies multiples).

La restriction des activités quotidiennes est précoce. Elle touche dans un premier temps les activités élaborées telles que la gestion des finances, des papiers et des loisirs, avant de s'étendre aux activités de la vie quotidienne : les personnes malade ne font plus le ménage, ne cuisinent plus. Enfin, et c'est à ce moment-là que l'institutionnalisation devient absolument nécessaire, les activités de maintenance telles que manger, marcher, aller aux toilettes ne sont plus réalisées (Derouesné et coll., 2002).

3. NEUROPATHOLOGIE DE LA MALADIE D'ALZHEIMER

D'un point de vue histologique, la MA est caractérisée par trois marqueurs physiopathologiques : les dépôts extracellulaires du **peptide beta amyloïde** (peptide A β) qui donnent naissance aux plaques séniles, l'accumulation intracellulaire de la protéine TAU hyperphosphorylée qui entraîne l'apparition des **Dégénérescences NeuroFibrillaires** (DNFs) et une **atrophie corticale**.

3.1. Les plaques séniles ou amyloïdes

Un des critères physiopathologiques de la maladie d'Alzheimer est l'accumulation d'un peptide spécifique, le peptide amyloïde beta (peptide A β), qui s'agrège sous la forme de plaques séniles (aussi appelées plaques amyloïdes). Les plaques séniles sont des inclusions extraneuronales sphériques d'environ 100 microns, formées par des dépôts de fibrilles amyloïdes. Il existe deux types de dépôts amyloïdes, les plaques neuritiques et les dépôts diffus que l'on peut différencier par des techniques de coloration histologiques différentes (rouge Congo, thioflavine-S). Les plaques séniles sont composées de deux parties (*cf.* Figure 3). Au centre, les peptides A β se regroupent et s'agrègent entre eux sous la forme de faisceaux de filaments droits d'un diamètre de 6 à 9 nanomètres. Cette partie centrale des plaques est aussi appelée **cœur amyloïde**. Le cœur amyloïde est entouré d'une deuxième partie circulaire, la **couronne radiaire**, formée des prolongements nerveux (surtout axones), neurites dystrophiques et de cellules microgliales (Selkoe, 2004).

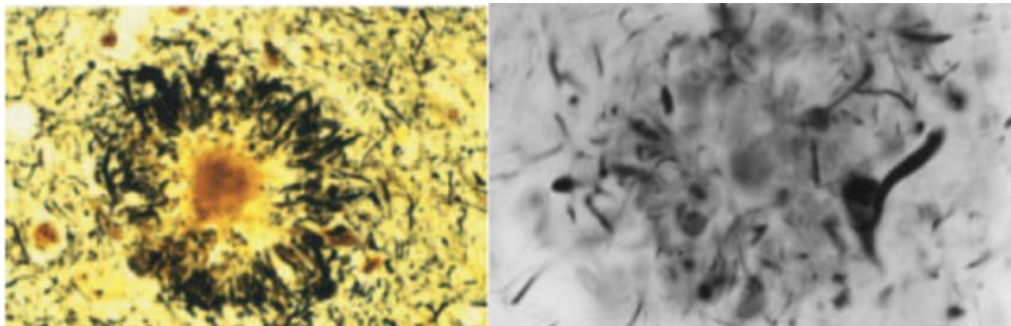
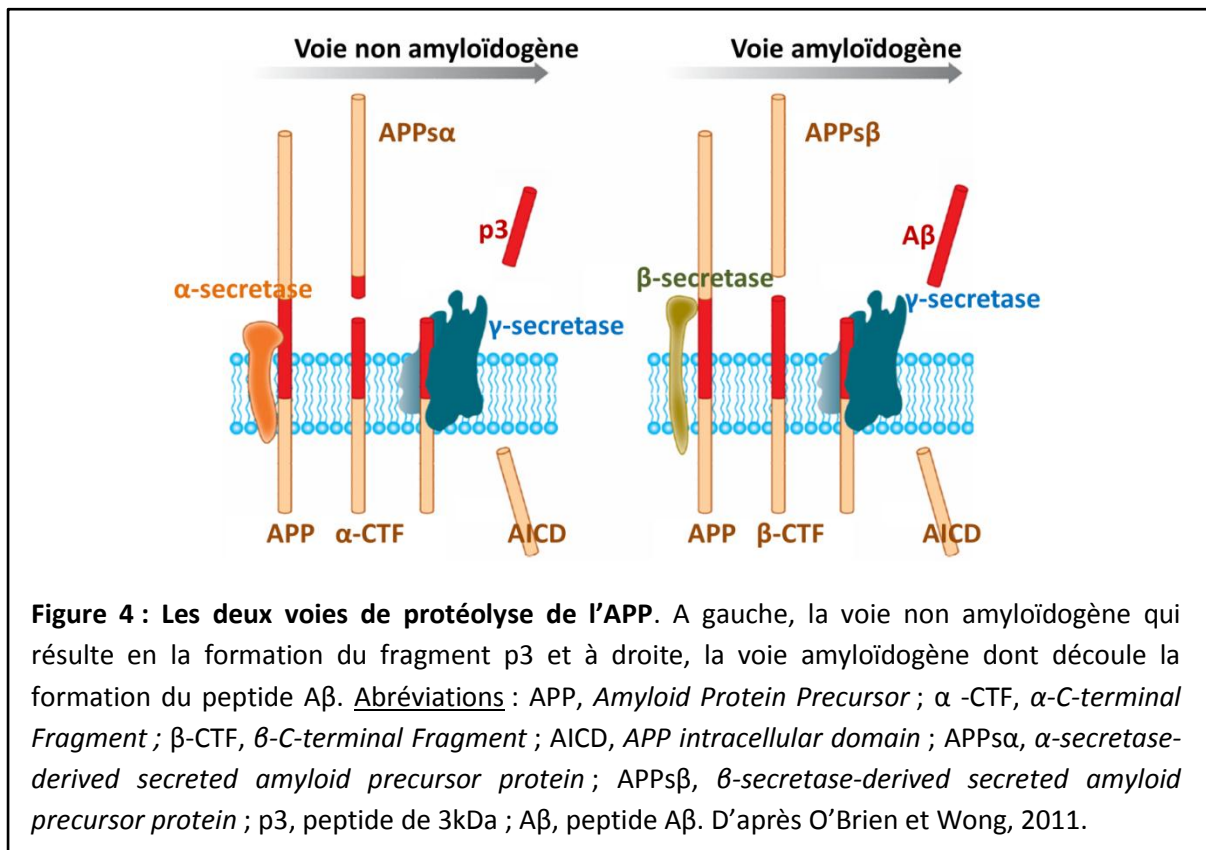


Figure 3 : Images de microscopie des plaques séniles montrant le noyau amyloïde central entouré de la couronne radiaire. Extraites de Thomas et Fenech, 2006 et Anderton, 1997.

Le peptide A β est composé de 39 à 43 acides aminés environ, retrouvé sous deux formes : l'A β 1-40 et l'A β 1-42. Ce peptide est le produit du clivage de la protéine APP

(*Amyloid Protein Precursor*). L'APP est une protéine transmembranaire impliquée dans de nombreux mécanismes physiologiques : elle intervient dans la formation du cytosquelette, dans la régulation de la concentration de calcium intracellulaire, dans la formation des synapses ou encore dans la plasticité neuronale (Thinakaran et Koo, 2008 ; Zhou et coll., 2011). L'APP peut suivre deux voies protéolytiques différentes en fonction des enzymes qui la clivent : la **voie non amyloïdogène** et la **voie amyloïdogène** (cf. Figure 4).



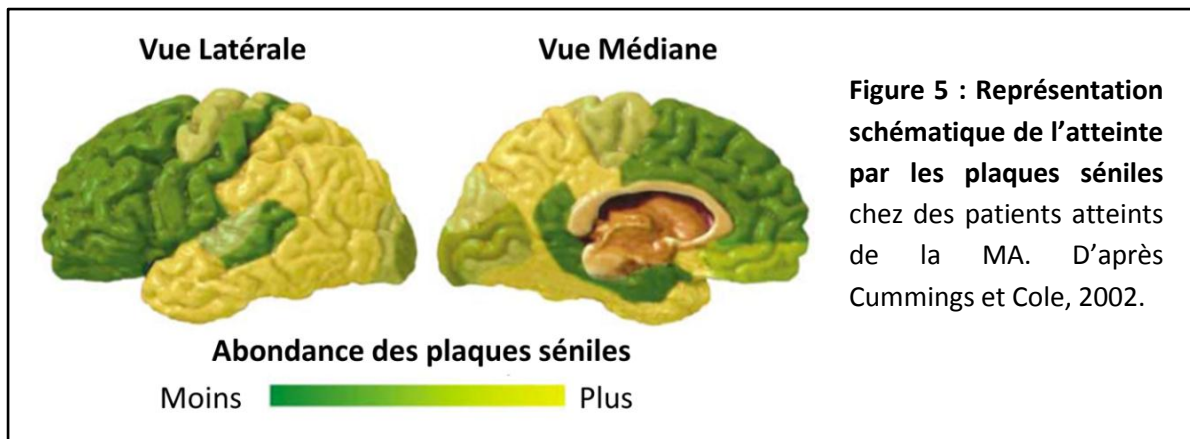
La **voie non amyloïdogène** est initiée par l'α-sécrétase qui clive l'APP dans son domaine cytosolique ; plus exactement entre les peptides 16 et 17 de la séquence correspondant au peptide Aβ, elle en abolit ainsi sa formation. L'α-sécrétase libère deux fragments : un fragment C-terminal de 83 acides aminés (α-CTF ou C83) et un fragment plus large, l'APPsα. Le fragment APPsα ainsi libéré aurait des propriétés neurotrophiques et jouerait un rôle de facteur de croissance (Zhou et coll., 2011). De plus, ce même fragment inhibe l'activité de la kinase cdk5 (*Cyclin-Dependent Kinase5*), en partie responsable de l'hyperphosphorylation de la protéine TAU observée dans la MA (Han et coll., 2005). Le niveau d'expression du fragment APPsα serait inversement proportionnel au niveau d'activité de la kinase cdk5. Le

second clivage est catalysé par la γ -sécrétase dans le domaine transmembranaire du fragment résiduel (C83) entre les résidus 711 ou 713 et donnent naissance à un peptide de 3kDa, appelé p3, et à l'AICD (*APP intracellular domain*). Etant donné le clivage du peptide A β mais également la formation du fragment APPs β jugé neurotrophique et neuroprotecteur (Ring et coll. 2007 ; Guillot-Sestier et coll. 2012), la voie **non amyloïdogène** est non toxique.

La seconde voie, la **voie amyloïdogène**, est à l'origine de la création du peptide A β et représente donc la voie toxique. Le clivage de l'APP est cette fois-ci initié par la β -sécrétase dans la partie cytosolique de l'APP au niveau du résidu 671 et donne naissance à deux fragments : un fragment C-terminal de 99 acides aminés (β -CTF ou C99) et un fragment plus large, l'APPs β . La γ -sécrétase clive au niveau des mêmes résidus (711 ou 713) le fragment C99 entraînant la libération du peptide A β (et de l'AICD).

Les peptides A β ont pendant longtemps été considérés comme toxiques. En réalité, il semblerait que ce ne soit pas le peptide en tant que tel qui est toxique, mais son regroupement sous forme d'oligomères (plusieurs monomères assemblés), à l'origine de la formation de fragments insolubles (Lublin et Gandy, 2010). Différentes hypothèses pour expliquer la toxicité de ces oligomères ont vu le jour. Certaines postulent que cette toxicité repose sur la capacité des oligomères à rompre la perméabilité de la membrane aux ions calciques (par l'amincissement des membranes, la formation de pores ou l'altération du fonctionnement des canaux ioniques), entraînant ainsi l'entrée du calcium extracellulaire dans le compartiment intracellulaire (Demuro et coll., 2005 ; Demuro et coll., 2010).

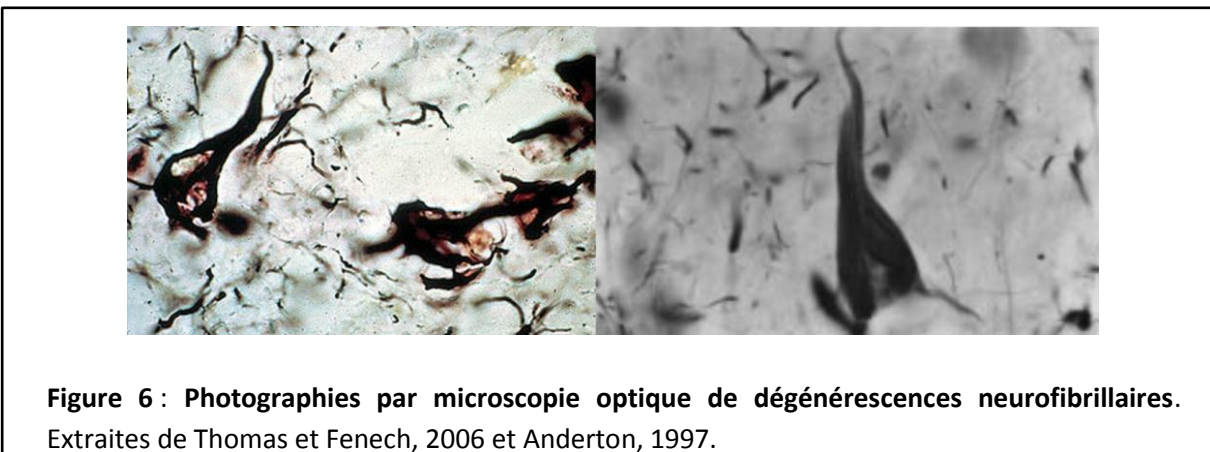
Finalement, les oligomères s'agrègent et forment les plaques séniles. Chacune d'entre elles représente une zone lésionnelle comprenant les terminaisons axonales et dendrites des neurones alentours. Ces plaques séniles entraînent de sévères déconnexions neuronales. Le développement des plaques séniles suit un schéma particulier (*cf.* Figure 5). Selon certains auteurs, la distribution de plaques séniles est corrélée aux troubles cognitifs observés chez les patients (Dragicevic et coll., 2010 ; Hampel, 2013). Ainsi, la présence de plaques séniles dans l'hippocampe explique les troubles mnésiques, tandis que leur présence dans les régions des cortex associatifs explique les troubles des fonctions exécutives (planification, résolution de problème).



3.2. Les dégénérescences neurofibrillaires

Les dégénérescences neurofibrillaires (DNFs) ont été décrites la première fois par Aloïs Alzheimer en 1906 comme des agrégats intracellulaires. Kidd en 1963 élucide la structure des DNFs, il s'agit d'association de filaments hélicoïdaux entre eux. C'est seulement en 1985 que Brion et collaborateurs ont montré que ces agrégats étaient constitués de la protéine TAU à la fois hyperphosphorylée et anormalement phosphorylée (Brion et coll., 1985 ; Grundke-Iqbak et coll., 1986).

Les DNFs (*cf.* Figure 6) interfèrent avec le fonctionnement cellulaire en déplaçant les organelles. En déstabilisant les microtubules, elles entraînent des dysfonctionnements du transport axonal et altèrent le fonctionnement des neurites.



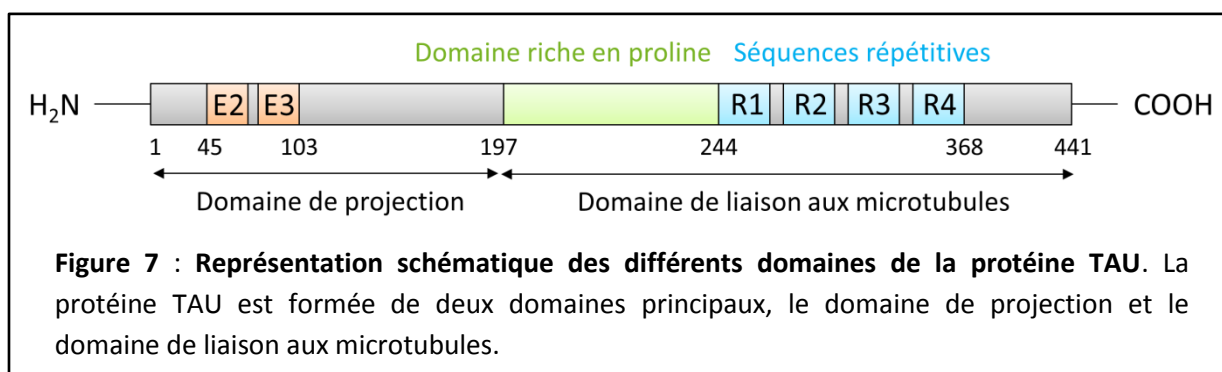
Les DNFs ne sont pas spécifiques de la MA et se retrouvent dans d'autres pathologies regroupées dans la famille des **taupathies**. On les retrouve aussi chez les sujets sains âgés (en moindre mesure) (Nelson et coll., 2012). L'étude des démences fronto-temporales a permis de mettre en évidence la présence de mutations de la protéine TAU dans certaines

formes familiales, les FTDP-17 (démences fronto-temporales avec syndrome parkinsonien liée au chromosome 17) (Seelaar et coll., 2011). Ces mutations entraînent dans la majorité des cas une diminution de la liaison entre la protéine TAU et les microtubules et favorisent l'agrégation de la protéine TAU (Goedert et Jakes, 2005). Bien qu'aucune mutation de la protéine TAU ne soit retrouvée chez les patients atteints de la MA, les mêmes dépôts fibrillaires sont observés dans ces deux pathologies.

3.2.1. La protéine TAU

Description

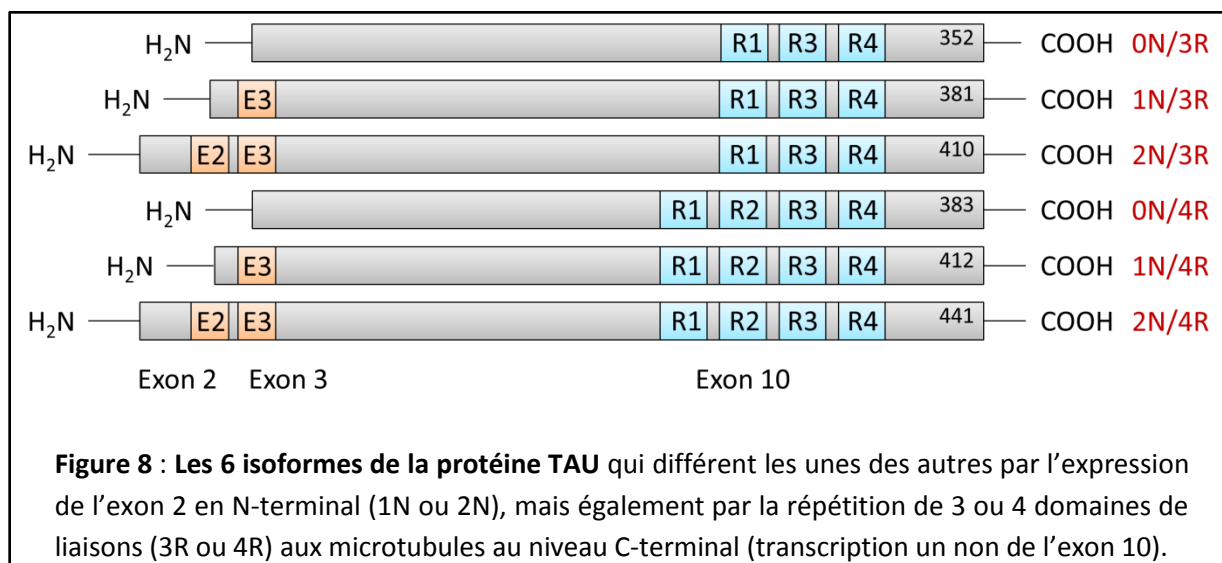
La protéine TAU est une protéine cytoplasmique appartenant à la famille des protéines associées aux microtubules (*Microtubule-Associated Protein* ou MAP). Elle est constituée de deux domaines principaux : un domaine de projection (en N-terminal) qui intervient dans les mécanismes de transport axonal rétrograde (Magnani et coll., 2007), un domaine de liaison avec les microtubules comprenant un domaine riche en proline (codée par l'exon 9) et les séquences répétitives (cf. Figure 7). Cette protéine se retrouve principalement dans les neurones et suit un gradient de concentration allant de l'axone, où il y en a le plus, vers les épines dendritiques où elle est en très faible quantité voire absente (Lovestone et Reynolds, 1997). Les fonctions de la protéine TAU sont différentes et varient entre le domaine de projection et celui de liaison aux microtubules.



Le **domaine de projection** a un rôle encore mal connu. Il a été proposé qu'il puisse être impliqué dans la régulation de la liaison entre la protéine TAU et les microtubules (MTs). Ce domaine interagit avec d'autres protéines du cytosquelette comme les neurofilaments et régule ainsi le maintien cytoarchitectural. De plus, la protéine TAU contient des domaines de liaisons (PPXXP ou PXXP) aux protéines FYN ou encore SRC, ce qui laisse penser qu'elle

pourrait réguler les processus de croissance du cône axonal, d'élongation axonale et de migration neuronale au cours de l'embryogenèse (Wang et Liu, 2008). En inhibant la protéine TAU par l'utilisation d'oligonucléotides anti-sens, Caceres et Kosik (1990) ont montré que la protéine TAU était nécessaire au maintien de la cytoarchitecture du neurone mais également dans la formation et le maintien des neurites (puis Caceres et coll., 1991). Le second domaine de la protéine TAU, le **domaine de liaison aux MTs**, est clairement impliqué dans la stabilisation des MTs. Ce domaine contient 3 ou 4 domaines de liaison aux MTs (en fonction de l'isoforme de la protéine TAU) similaires mais pas identiques, de 31 ou 32 résidus, présentent la plus haute affinité pour les MTs (Goode et coll., 1997).

La protéine TAU est codée par un seul gène situé sur le chromosome 17 en position 17q21. Le transcrit primaire contient 16 exons, parmi lesquels 14 sont codants dans le système nerveux central (exons 6 et 8 non transcrits). L'ARN pré-messager suit un épissage alternatif des exons 2, 3 et 10 qui donne naissance à six isoformes différentes de la protéine TAU, composées de 352 à 441 acides aminés (cf. Figure 8).



Ces isoformes diffèrent les unes des autres par l'expression de l'exon 2 dans le domaine N-terminal (1N ou 2N), mais également par la répétition de 3 ou 4 domaines de liaisons aux microtubules (3R ou 4R) au niveau C-terminal. En effet, les exons 2 et 3 codent chacun une région de 29 acides aminés dans la zone N-terminale. L'inclusion de l'exon 2 est systématiquement couplée à celle de l'exon 3 mais l'inverse n'est pas vrai. Les isoformes de la protéine TAU peuvent donc être 2N (les exons 2 et 3 sont présents), 1N (seul l'exon 3 est exprimé) ou 0N (aucun de ces deux exons n'est présent). L'exon 10 code une séquence de 31

acides aminés dans la zone C-Terminale, au niveau des domaines répétés de liaisons aux microtubules. L'épissage alternatif entraîne son inclusion (isoforme 4R – 4 domaines répétés) ou son exclusion (isoforme 3R) (Mandelkow et Mandelkow 2012).

3.2.2. La protéine TAU et les Microtubules

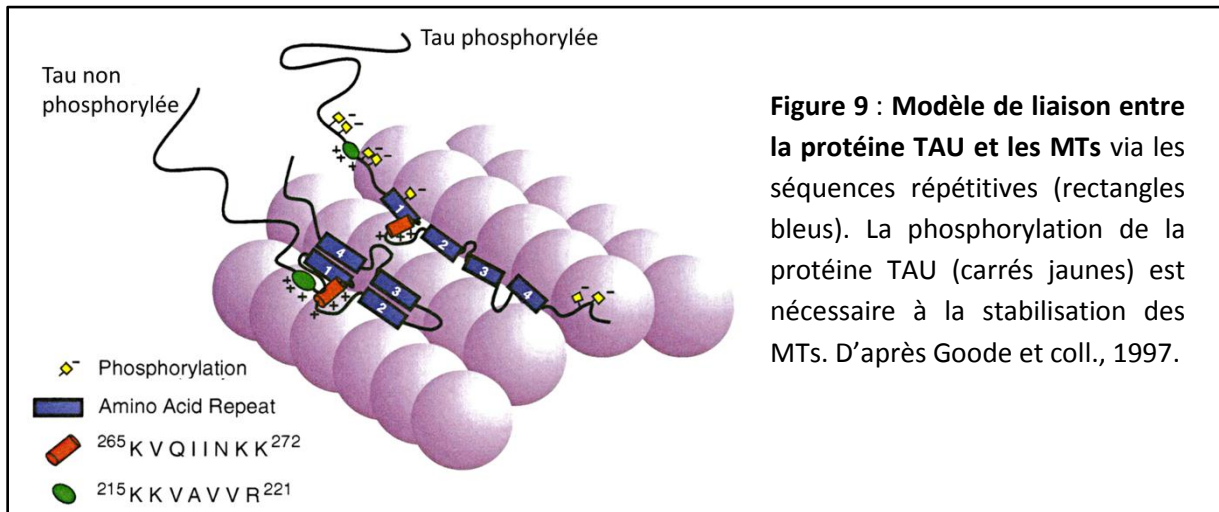
Les microtubules

Les microtubules (MTs) font partie intégrante des fibres du cytosquelette retrouvées dans les cellules eucaryotes. Ils ont une forme de cylindres creux d'environ 25 nm de diamètre, constitués de 13 protofilaments de tubuline, chaque molécule de tubuline étant un hétérodimère d' α -et de β -tubuline. Les MTs sont impliqués dans un grand nombre de processus cellulaires comprenant la séparation des chromosomes au cours de la mitose, le transport des vésicules dans les cellules nerveuses, la mobilité intra- et extracellulaire et la division cellulaire (Mandelkow et Mandelkow, 1989). Dans les pages qui suivent, je discuterai du lien entre les MTs et la protéine TAU dans les mécanismes physiopathologiques des tauopathies, dont la MA fait partie.

Protéine TAU et microtubules

Les MTs se polymérisent et se dépolymérisent continuellement, constituant un réseau dynamique. Cette instabilité dynamique est cruciale puisqu'elle permet une plasticité et une réactivité importante du système nécessaire au bon fonctionnement du système nerveux central. En raison de cette instabilité, il y existe des protéines spécialisées dans la stabilisation et le maintien des MTs. Ces protéines sont regroupées dans la famille des MAPs (*Microtubule-Associated Protein*) et présentent toutes une homologie importante au niveau des domaines de liaison aux MTs. Par exemple, la majorité des MAPs possèdent un domaine de liaison KXGS dans chacune des séquences répétées, et elles présentent toutes un domaine de projection.

La protéine TAU se lie aux MTs au niveau des séquences répétitives, les 3R ou 4R selon l'isoforme de la protéine (*cf.* Figure 9) (Mandelkow et coll., 1995). Butner et Kirschner (1991) ont montré que l'affinité de la protéine TAU pour les MTs est plus importante lorsqu'elle est sous sa forme 4R que 3R.

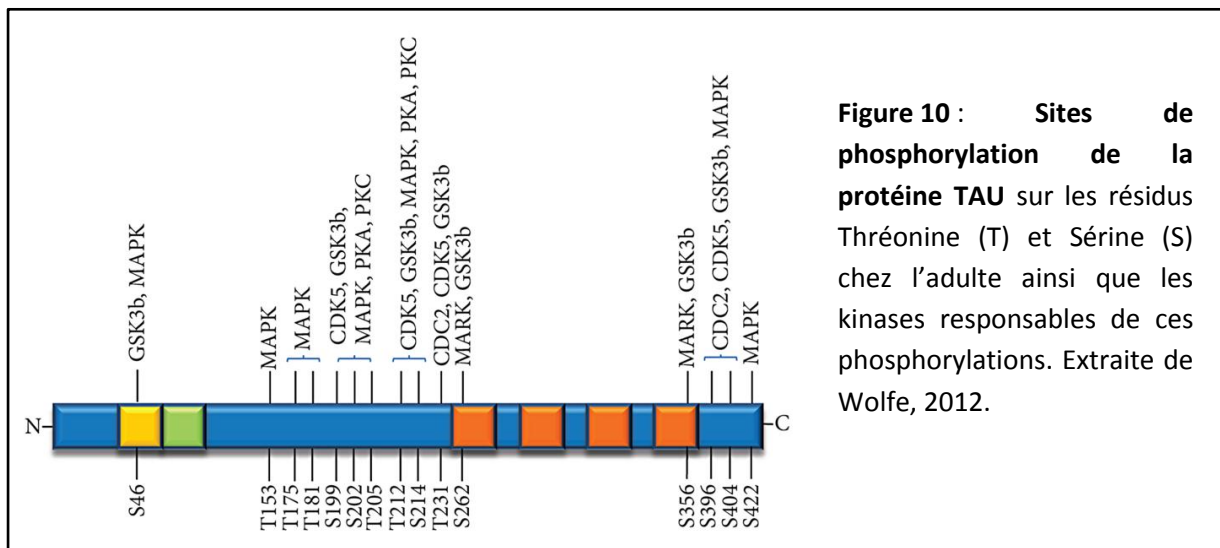


La liaison de la protéine TAU aux MTs est nécessaire pour la stabilisation des MTs (Trinczek et coll., 1995). Elle s'établit au niveau de la région C-terminale de la protéine TAU, par l'intermédiaire de séquences répétitives Pro-Gly-Gly-Gly présentes dans les quatre domaines de liaison aux MTs (Baumann et coll., 1993).

3.2.3. Phosphorylation de la protéine TAU

Différentes modifications post-traductionnelles s'opèrent sur la protéine TAU : la glycosylation, l'ubiquitination, la nitration, l'acétylation, la glycation et surtout la **phosphorylation**. C'est à cette modification post-traductionnelle que nous nous intéressons plus particulièrement car elle régule l'affinité de la protéine TAU pour les MTs. La phosphorylation consiste en l'ajout d'un groupement phosphate (dont le donneur est une molécule d'ATP, Adénosine Triphosphate) sur les résidus sérine, thréonine ou tyrosine (en moindre mesure). Cette modification est catalysée par des enzymes spécifiques, les kinases qui regroupent 27 familles de protéines capables de phosphoryler d'autres protéines. Il existerait plus de 2000 kinases différentes chez l'Homme. A l'opposé, la déphosphorylation est catalysée par des phosphatases (Lee et Leugers, 2012). Il y a plus de 10 kinases impliquées dans la phosphorylation de Tau *in vitro* (cf. Figure 10). Parmi les plus communes, citons la GSK3 β , cdk5, PKA et PKC (*Protein Kinase A et C*), CaMKII, la tau-tubuline kinase ou encore p^{100MARK} (Lee et Leugers, 2012).

La liaison entre les MTs et la protéine TAU est dépendante de la phosphorylation des sérines comprises dans les domaines de liaison [(comme c'est le cas pour les domaines KXGS, catalysées par la kinase p¹⁰⁰MARK (Trinczek et coll., 1995) ou la PKA (Dehmelt et Halpain, 2005)] mais également et majoritairement dans deux régions : 181-235 et 396-422 entourant les domaines de liaison aux MTs et qui sont nécessaires à l'établissement d'une liaison solide entre la protéine TAU et les MTs (Buée et coll., 2000). Les différents sites de phosphorylation sont résumés dans la figure 10. L'affinité de liaison entre la protéine TAU et les MTs est largement amoindrie lors de la mutation des résidus suivants : G272V, P301L, V337M, R406W (Hasegawa et coll., 1998 ; Hong et coll., 1998 ; Brandt et coll., 2005), mutations retrouvées dans les formes familiales de démences fronto-temporales.

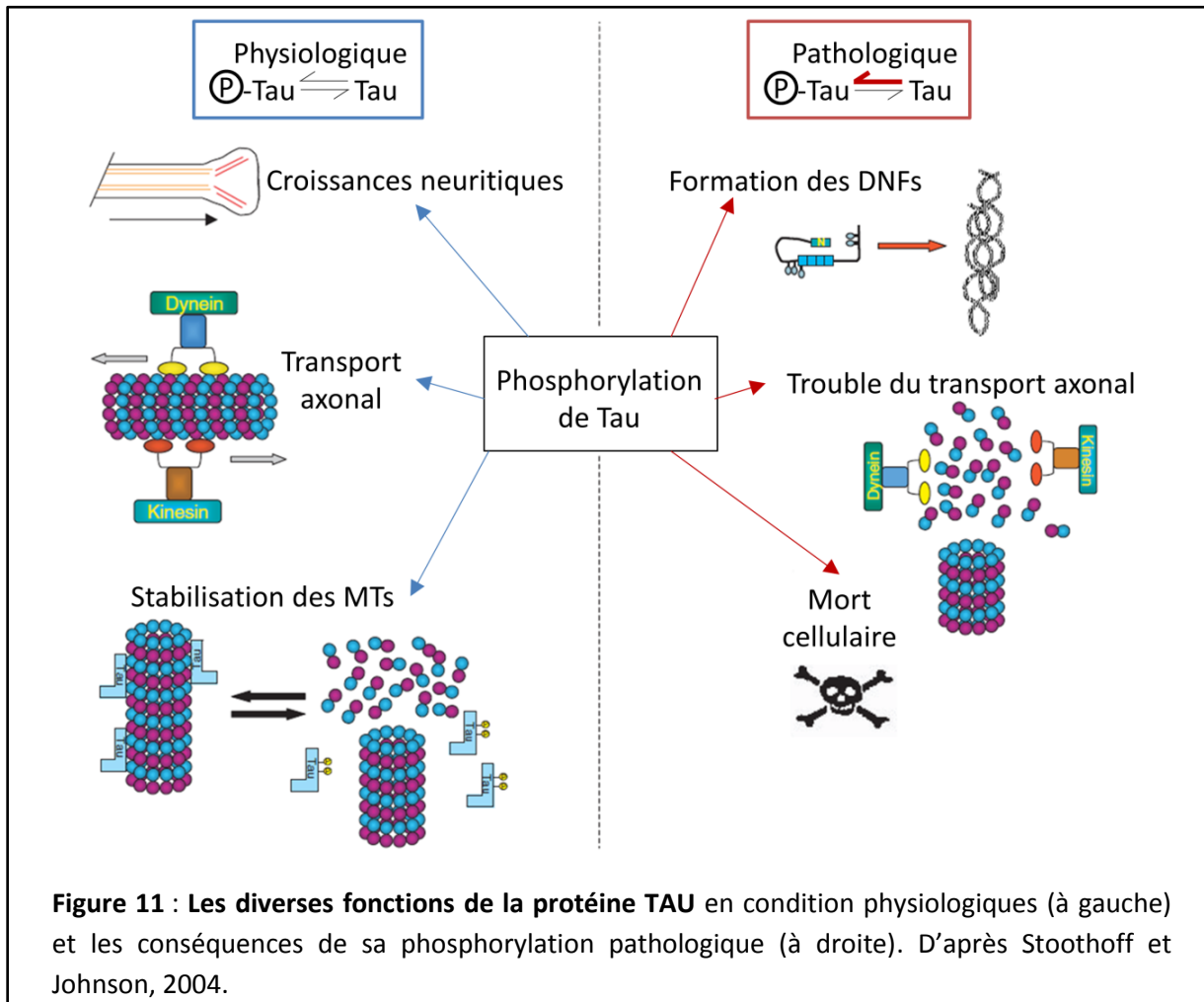


La liaison de la protéine TAU aux MTs est donc contrôlée par un équilibre entre phosphorylation et déphosphorylation. Un déséquilibre marqué de cette balance, entraîne une hyperphosphorylation de la protéine et est à l'origine du développement de certaines maladies neurodégénératives, dont la MA, regroupées sous le nom de tauopathie.

3.2.4. Hyperphosphorylation de la protéine TAU

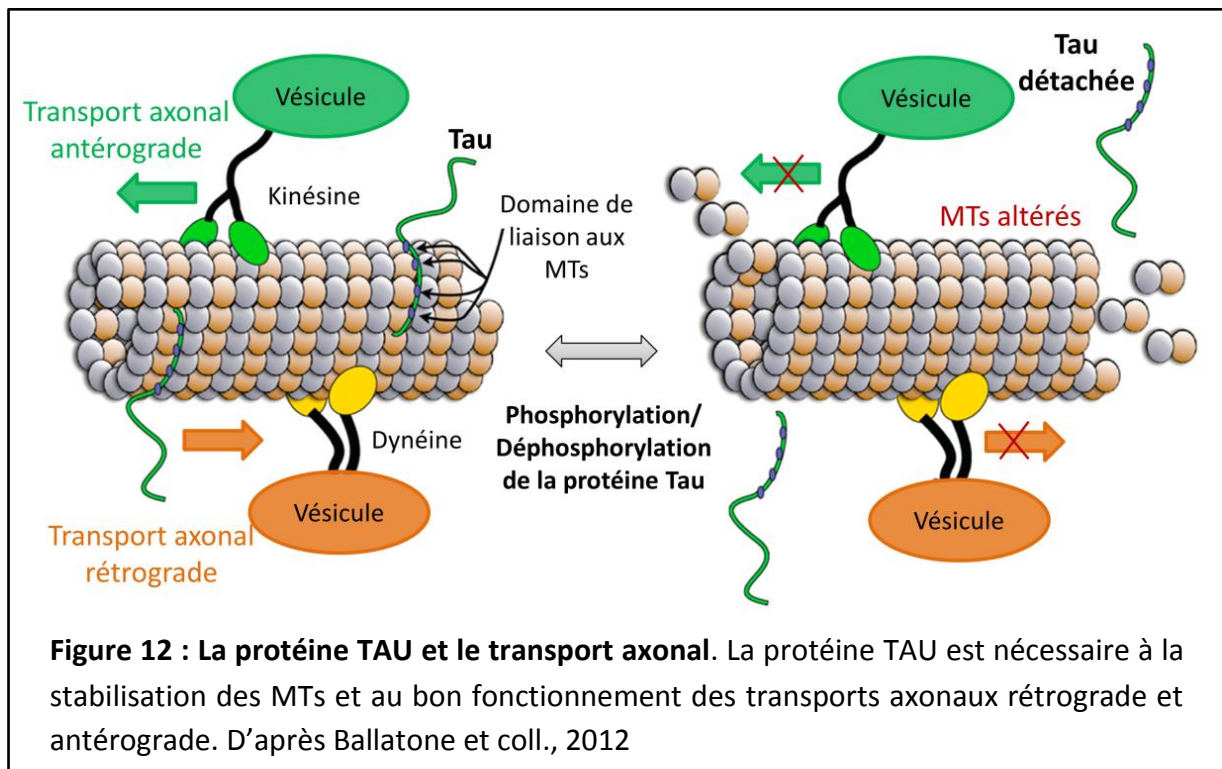
Dans les tauopathies, la protéine TAU est anormalement phosphorylée (phosphorylation *de novo* – des résidus habituellement non phosphorylés le deviennent) et hyperphosphorylée (une phosphorylation plus importante que le niveau habituellement observé) (Castellani et coll., 2010). Ces troubles de la phosphorylation engendrent différentes conséquences dont certaines sont schématisées sur la figure 11. La surexpression

de la protéine TAU (dans un modèle transgénique murin), entraîne à elle seule la formation de DNFs, un dysfonctionnement synaptique, une mort neuronale et des troubles comportementaux (Sheng et coll., 2012).

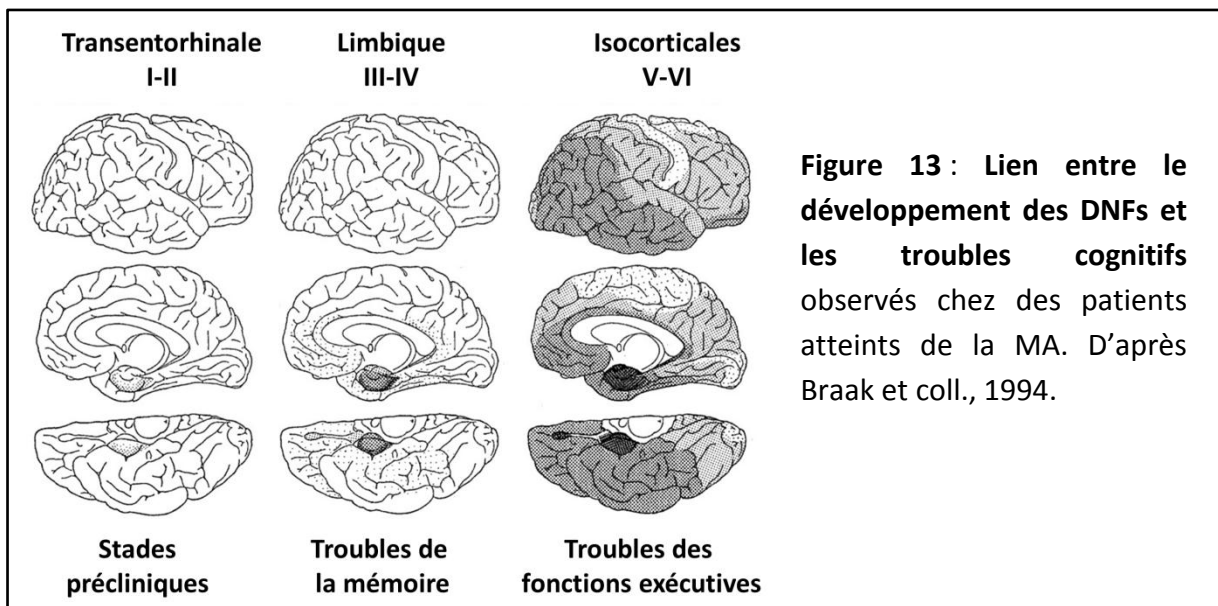


L'hyperphosphorylation de la protéine TAU serait le résultat de l'augmentation de l'activité de certaines kinases, comme la GSK3 β (Brion et coll., 2001 ; Wang et coll., 2007 ; Wang et Liu, 2008 ; Avila et coll., 2010), les cdk2 et cdk5 (*cyclin-dependent kinase*) (Baumann et coll., 1993) ; et/ou la conséquence de la réduction de l'activité des phosphatases chez les patients Alzheimer (Sontag et Sontag, 2014). L'hyperphosphorylation de la protéine TAU altère ses propriétés isoélectriques, entraînant une diminution de sa mobilité et son insolubilité (Dehmelt et Halpain, 2005). Cette insolubilité entraîne la formation d'agrégats de filaments de la protéine TAU, ou PHF (*Paired-Helical-Filaments*) dans les compartiments somato-dendritiques et axonaux (Brion et coll., 1999). C'est l'association des PHFs qui forment les DNFs.

Dans des cultures de neurones humains, Merrick et collaborateurs (1997) ont montré que l'hyperphosphorylation de la protéine TAU entraîne une diminution de sa liaison aux MTs, et finalement une dépolymérisation des MTs. La phosphorylation du résidu Ser262 de la protéine TAU (selon la numérotation de l'isoforme la plus longue), située dans le premier domaine de liaison, module l'affinité de la protéine TAU aux MTs (Biernat et coll., 1993 ; Mandelkow et coll., 1995). La même année, Bramblett et collaborateurs ont montré que la phosphorylation anormale de la protéine TAU au niveau de la Ser396 retrouvée dans la MA contribue également à la diminution de l'interaction entre la protéine TAU et les MTs. Les conséquences de la diminution de l'affinité de la protéine TAU pour les MTs sont multiples. Les microtubules n'étant plus stabilisés correctement, on observe une désorganisation des neurites et une distribution anormale des organelles (Morfini et coll., 2009). A ceci s'accompagne des troubles du transport axonal : les protéines responsables du transport axonal ne peuvent plus circuler au sein des différents compartiments de la cellule (*cf.* Figure 12). C'est le cas des kinésines qui permettent le transport du pôle négatif au pôle positif du MT (transport antérograde, c'est-à-dire du noyau cellulaire vers les neurites), et des dynéines qui assurent le transport du pôle positif vers le pôle négatif (transport rétrograde, c'est-à-dire des neurites vers le noyau cellulaire). Les neurones atteints de DNFs présentent une altération du trafic intracellulaire, du transport axonal rétrograde et antérograde, ce qui engendre un dysfonctionnement mitochondrial et une augmentation du stress oxydatif (Brandt et coll., 2005) ainsi qu'une accumulation des déchets cellulaires (Reddy, 2011). Le blocage du trafic intracellulaire des protéines neurotrophiques et fonctionnelles entraîne un déclin du fonctionnement axonal voire une perte de celui-ci (Salehi et coll., 2003).



Tout comme les plaques séniles, le développement des DNFs dans la MA suit une distribution particulière au sein du cerveau, définie par les stades de Braak (cf. Figures 13 et 14) (Braak et Braak, 1991).

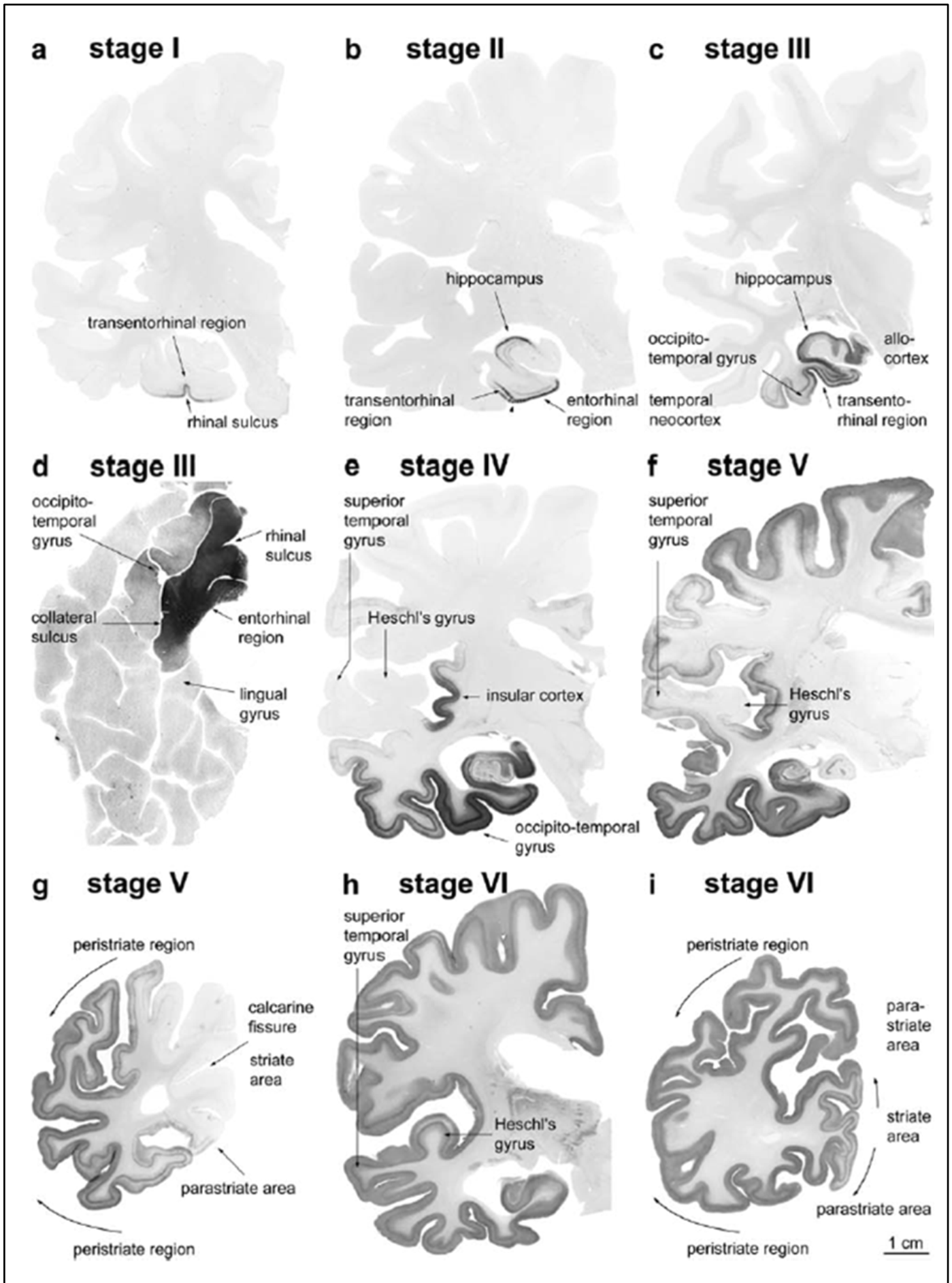


Certaines régions, comme c'est le cas de l'amygdale, présentent une sensibilité importante aux plaques séniles et aux DNFs. L'hippocampe et le subiculum sont plus précocement colonisés par les DNFs que le néocortex, tandis que le néocortex présente plus de plaques séniles que l'hippocampe. Le lien entre le développement des DNFs et les

troubles cognitifs fait l'objet d'un grand nombre d'études. Certaines d'entre elles montrent que les DNFs présentent une meilleure corrélation avec les troubles cognitifs observés dans la MA que les plaques séniles (Spires-Jones et Hyman 2014). Ingelsson et collaborateurs (2004) ont mené une étude sur 83 patients souffrants de la MA et 26 sujets sains. Grâce à des analyses détaillées des cerveaux des patients mis en lien avec la progression de leur maladie, ces auteurs ont démontré la corrélation entre le degré d'atteinte par les DNFs, la durée de la maladie et les troubles cognitifs. Cette corrélation n'a pas été retrouvée avec les plaques séniles. En 2003, les travaux de Giannakopoulos et collaborateurs ont également permis de corréler la quantité de DNFs avec les troubles cognitifs chez des personnes âgées ne souffrant pas de la MA (suivie neuropsychologique). Ces auteurs ont montré que la quantité de DNFs présentes dans le cortex frontal et dans le champ CA1 de l'hippocampe évoluait de manière conjointe avec les troubles cognitifs observés chez des sujets âgés. Cette corrélation n'est pas retrouvée avec les plaques séniles. C'est pourquoi, bien qu'aucune mutation n'ait été observée sur la protéine TAU dans la MA, des modèles animaux de tauopathie sont utilisés pour comprendre les mécanismes pathogéniques à l'origine du développement des DNFs dans la MA. C'est le cas du modèle THY-Tau22 utilisé au cours de ma thèse.

Figure 14 (ci-dessous) : Evolution des DNFs dans le cerveau de patients atteints de la MA.

Evolution des DNFs révélées par immunomarquage AT8 (protéine TAU hyperphosphorylée). **a)** Au stade I, l'atteinte est très légère et restreinte à la région transentorhinal (atteinte retrouvée aussi chez des personnes âgées ne présentant aucune démence). **b)** Au cours du stade II, la couche II des régions entorhinales ainsi que l'hippocampe présentent une hyperphosphorylation de la protéine TAU. **c)** Dans le stade III, les lésions de l'hippocampe s'aggravent, les régions entorhinales présentent de sévères altérations et le néocortex temporal présente ses premiers agrégats. **d)** L'atteinte du cortex entorhinal est sévère à ce stade, on observe une propagation vers le lobe temporal et les cortex adjacents. **e)** Stade IV : le cortex sensoriel associatif, le lobe temporal médian commencent à présenter des DNFs. **f)** Des changements neuropathologiques apparaissent maintenant dans le gyrus temporal supérieur et atteignent le cortex pré-moteur. **g)** Dans le lobe occipital, les premières zones lésionnelles apparaissent. **h)** et **i)** Une forte immunoréactivité est observée dans les aires sensorielles associatives les aires primaires du néocortex occipital. La barre d'échelle est identique pour toutes les sections. Extraite de Braak et coll., 2006.



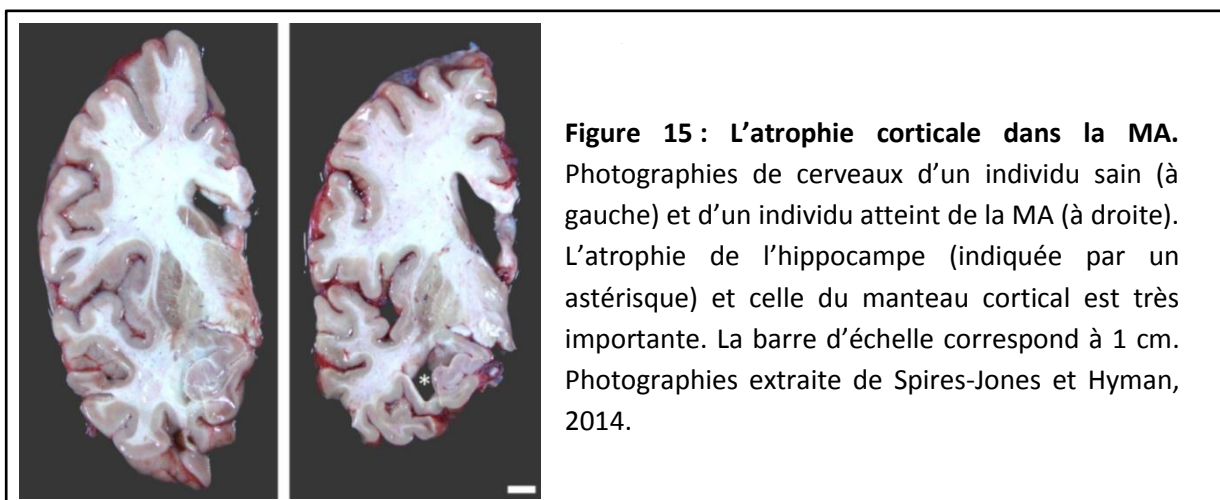
Le mécanisme exact de propagation des DNFs au sein du parenchyme cérébral n'est pas complètement compris. Jusqu'à maintenant, l'hypothèse dominante s'appuyait sur la propagation de la protéine TAU hyperphosphorylée, qui une fois libérée dans le milieu extracellulaire lors de la mort neuronale (Fath et coll. 2002 ; Thies et Mandelkow, 2007 ; Zhang et coll., 2012) aller agir sur les neurones alentours. Une autre possibilité se base sur le principe de l'équilibre homéostatique. La libération de la protéine TAU dans le milieu extracellulaire est un processus physiologique que l'on observe dans des conditions non pathologiques et reliée à l'activité neuronale (Pooler et coll., 2013). Dans la MA, la protéine TAU intracellulaire étant en quantité trop importante (problème de dégradations), des mécanismes compensatoires de vésiculations extracellulaires (exocytose) se mettent en place (Simón et coll., 2012a), expliquant le niveau élevé de la protéine TAU retrouvé dans le LCR des patients souffrant de la MA (Saman et coll., 2012). Dans une revue de 2014, Medina et Avila proposent que la propagation des DNFs suive un mécanisme comparable à celui observé dans les maladies à Prion. Au cours des processus de neurodégénérescence, la protéine TAU serait libérée sous une forme insoluble et agrégative et entraînerait un changement conformationnel de la protéine TAU non atteintes présente dans les neurones alentours (Medina et Avila, 2014 ; Pooler et coll., 2014). De récentes études réalisées sur des modèles de souris transgéniques qui expriment la protéine TAU humaine mutée uniquement dans le cortex entorhinal, ont mis en évidence que la propagation des agrégats formés à partir de la protéine TAU est dépendante de la connexion entre les structures. Ainsi, les régions cérébrales anatomiquement connectées au cortex entorhinal présentaient plus d'agrégats de la protéine TAU que les autres. Ces études semblent indiquer que la protéine TAU se propage suivant un mécanisme trans-synaptique à travers les connections neuronales établies entre les différentes structures cérébrales (de Calignon et coll., 2012 ; Liu et coll., 2012 ; Iba et coll., 2013). Différents facteurs sont susceptibles d'influencer l'évolution des DNFs. Le peptide A β , le stress oxydatif et un dysfonctionnement mitochondrial augmente la phosphorylation de la protéine TAU (Oddo et coll., 2003 ; Melov et coll., 2007 ; Brion et coll., 2010 ; Reddy, 2011 ; Dupuis, 2014).

3.3. L'atrophie corticale et la dilatation ventriculaire

Santiago Ramón y Cajal fut le premier à réaliser que les démences pouvaient être le résultat d'un dysfonctionnement synaptique. En 1928, il écrit *"One also might imagine that*

amnesia, a paucity of thought associations, retardation, and dementia could result when synapses between neurons are weakened as a result of a more or less pathological condition, that is, when processes atrophy and no longer form contacts, when cortical mnemonic or association areas suffer partial disorganization”.

Il faudra attendre 1996 et le papier de Terry RD pour que l'idée de Ramón y Cajal soit prouvée. Des données de microscopies électroniques et d'immunomarquages ont permis de mettre en évidence que la perte synaptique dans l'hippocampe et le cortex entorhinal était un des marqueurs précoces de la MA. Les plaques séniles et les dégénérescences neurofibrillaires sont accompagnées **d'une perte neuronale** qui résulte en l'apparition d'une **atrophie corticale** et d'une dilatation des ventricules latéraux (cf. Figure 15). Davies et ses collaborateurs (1987) ont réalisé une expérience d'analyse de morphométrie sur des cerveaux de patients souffrant de la MA. Ils ont mis en évidence que la densité synaptique diminuait de 25 % dans les couches II et III du cortex temporal et de 36 % et 27 % dans la couche V du cortex temporal et frontal respectivement. Cette perte synaptique serait encore plus importante dans l'hippocampe, pouvant atteindre 44 à 55% (Scheff et coll., 2007). Le volume cérébral total est diminué de 8 à 15 % chez des personnes souffrant de la MA par rapport à des sujets sains du même âge (Sheng et coll., 2012). La diminution du nombre de neurones et de synapses est accompagnée d'une perte des composants moléculaires, des vésicules synaptiques (notamment responsables de la neurotransmission) dans les compartiments pré- et post-synaptique (Arendt, 2009). De nombreuses hypothèses ont vu le jour pour expliquer cette perte neuronale, certaines basées sur la toxicité du peptide A β , d'autres sur les troubles du transport axonal rétrograde en raison de l'hyperphosphorylation de la protéine TAU, et d'autres encore sur le stress oxydatif (Ingelsson et coll., 2004).



4. ETIOLOGIE DE LA MALADIE D'ALZHEIMER

Il existe globalement deux formes de la maladie d'Alzheimer, celle génétique (qui représente 1 % des cas, on parle de forme familiale) et celle sporadique qui représente la grande majorité des cas mais dont la cause reste encore mal comprise et surtout difficile à déterminer (Lambert et Amouyel, 2007). La MA est une pathologie très complexe en raison de la multitude de facteurs pouvant influencer son développement. Un grand nombre de facteurs de risques ont ainsi été mis en évidence ces dernières années.

4.1. Les mutations génétiques

La MA est d'origine génétique dans seulement 1% des cas (Lambert et Amouyel, 2007). Les formes familiales de la MA se déclarent plus précocement que les formes sporadiques. L'identification de mutations génétiques dans les formes familiales de la MA a permis d'incriminer trois mutations génétiques principales.

4.1.1. Les mutations du gène codant pour l'APP

L'**APP** (*Amyloid Protein Precursor*) est une glycoprotéine transmembranaire et ubiquitaire, dont le gène est situé sur le chromosome 21. Il y a trois isoformes de l'APP : l'APP695, l'APP751 et l'APP770, le nombre correspondant au nombre d'acides aminés qui composent ces protéines. Les formes APP751 et APP770 possèdent un domaine KPI (*Kunitz-type protease inhibitor*, séquence de 56 acides aminés analogue aux inhibiteurs de protéase) et sont exprimées principalement dans les cellules gliales, tandis que la forme APP695 ne possède pas ce domaine et est majoritairement exprimée dans les neurones (Selkoe, 1998). Ces trois isoformes contiennent la séquence peptidique de 39-43 acides aminés responsable de la production du peptide A β retrouvé dans les plaques séniles.

Trente mutations ponctuelles de ce gène ont été associées aux formes familiales de la MA. Dans tous les cas, ces mutations favorisent la protéolyse de l'APP par la voie toxique (ou voie amyloïdogène) et augmentent ainsi la production des peptides A β (cf. Figure 4 page 10) (Selkoe, 1998).

4.1.2. Les mutations des gènes codant pour les présénilines

L'étude de la protéolyse de l'APP a entraîné la découverte de multiples mutations des gènes *PSEN1* (chromosome 14) et *PSEN2* (chromosome 1), codant pour les **protéines présénilines 1 (PS1) et 2**. Ces deux protéines sont transmembranaires et situées au niveau du réticulum endoplasmique et de l'appareil de Golgi. Elles interviennent dans la protéolyse de l'APP.

La combinaison des mutations de l'APP et de la PS1 induit une surproduction du peptide Aβ et favorise son accumulation (Citron et coll., 1997 ; Selkoe, 2011).

4.1.3. Le gène de l'Apolipoprotéine E

Le gène de l'**Apolipoprotéine (ApoE)** est situé sur le chromosome 19. Chez l'Homme, l'ApoE est composée de 299 acides aminés. Elle est impliquée dans un grand nombre de processus biologiques (cf. Figure 16) et sa mutation affecte certains d'entre eux dans la MA (stabilisation des MTs, plasticité synaptique).

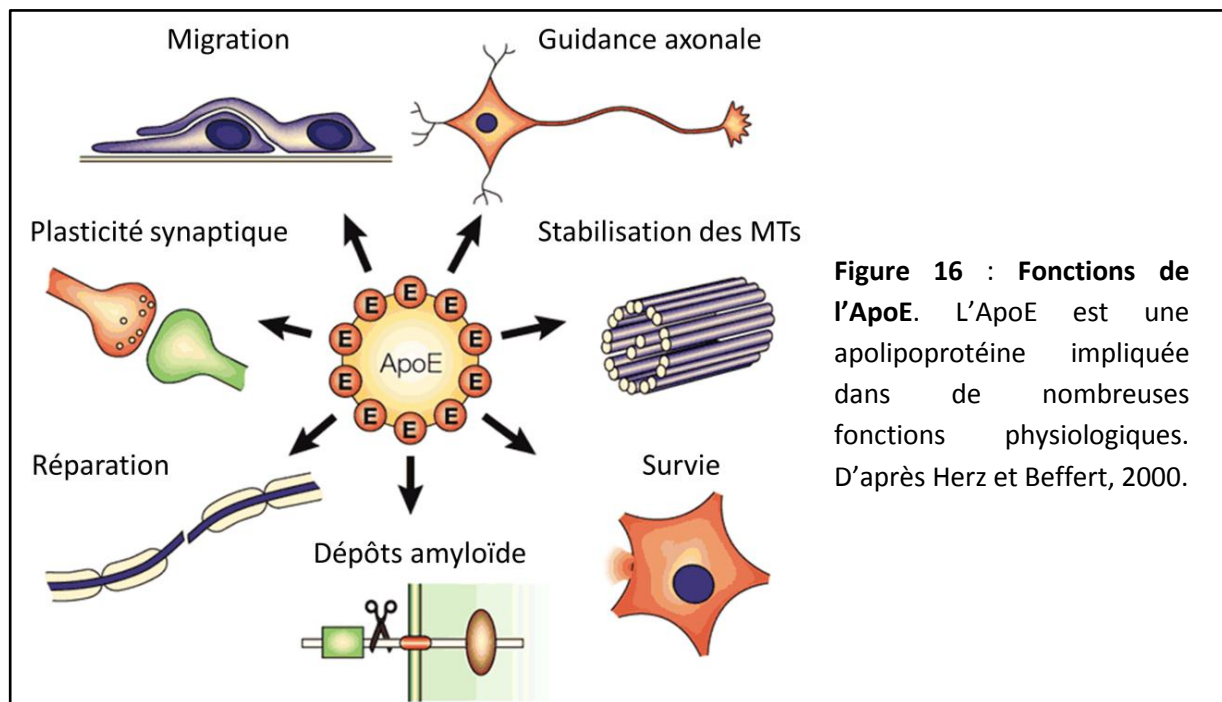


Figure 16 : Fonctions de l'ApoE. L'ApoE est une apolipoprotéine impliquée dans de nombreuses fonctions physiologiques. D'après Herz et Beffert, 2000.

Chez l'Homme, le gène codant pour l'ApoE existe sous trois allèles principaux : ε2, ε3 et ε4. Une copie est transmise par chacun des parents ce qui autorise six génotypes différents : ε2/ ε2, ε2/ε3, ε2/ε4, ε3/ ε3, ε3/ ε4 ou ε4/ ε4. L'allèle ε4 est un facteur de risque de

développer la MA. L'allèle $\epsilon 2$, plus rare, confère un faible facteur de risque et aurait même un rôle neuroprotecteur tandis, que l'allèle $\epsilon 3$, le plus commun, n'a pas d'influence (Liu et coll., 2013). En comparaison d'individus ne possédant pas l'allèle $\epsilon 4$ de l'ApoE, le risque de développer la MA est 2 à 3 fois supérieur chez des personnes qui ne possèdent qu'un allèle $\epsilon 4$ et 12 fois supérieur chez les personnes homozygotes pour cet allèle (Bertram et coll., 2007). L'expression des doubles allèles $\epsilon 4$ diminue les fonctions synaptiques, la neurogenèse, les mécanismes de dégradation du peptide A β , augmente l'atrophie cérébrale, la formation des DNFs et l'agrégation du peptide A β (Bertram et coll., 2007). Cependant, toutes les personnes présentant les deux allèles $\epsilon 4$ ne développent pas systématiquement la MA, c'est pour cela que la mutation de ce gène est souvent considérée comme un facteur de risque.

4.2. Les facteurs de risque

Dans la majorité des cas, 99% (Lambert et Amouyel, 2007), la MA n'est pas d'origine génétique, elle est alors dite d'origine sporadique. Le développement de la MA est la conséquence de l'interaction de facteurs environnementaux et génétiques. On parle de facteurs de risque (élément participant à l'augmentation du risque d'être atteint par une maladie). Un grand nombre de facteurs de risque ont été mis en évidence.

4.2.1. L'âge

Le facteur de risque le plus important est l'**âge** de l'individu. Ainsi, plus l'individu vieillit, plus grand est son risque de développer la MA. C'est pourquoi, l'augmentation de l'espérance de vie moyenne a entraîné une augmentation générale du nombre de cas de MA observés.

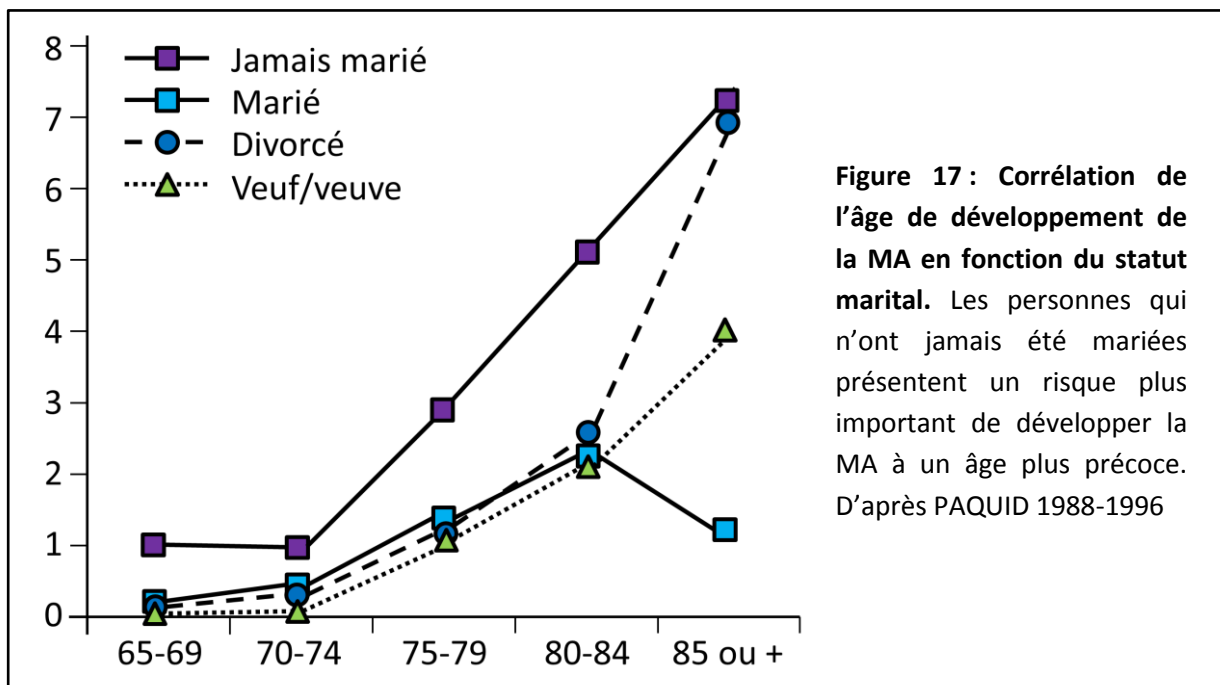
Plusieurs études ont mis en évidence que la prévalence de la MA augmente avec l'âge (Berg et coll., 1998 ; Ferri et coll., 2005 ; Castellani et coll., 2010). Sauf dans le cas de formes familiales de la MA, il est très rare de voir des individus atteints de la MA avant 60 ans. C'est à partir de 70 ans que le risque de développer cette pathologie augmente progressivement et s'accroît avec l'âge : 4 % entre 75 et 80 ans, 20 % entre 80 et 90 ans et près de 40% au-delà de 90 ans (Berg et coll., 1998 ; Ferri et coll., 2005 ; Castellani et coll., 2010).

4.2.2. Le niveau d'éducation

Le **niveau d'éducation** influence également le risque de développer la MA. Ainsi, les personnes ayant un faible niveau d'éducation sont plus sujettes au développement de la MA que les personnes avec un haut niveau d'étude (Katzman, 1993 ; Butler et coll., 1996). Il est question ici de « réserve cognitive » plus importante avec un niveau d'études supérieures permettant de palier aux troubles cognitifs. Aussi, les personnes ayant un niveau d'études élevé font globalement une activité intellectuelle plus riche et donc préservent une stimulation neuronale plus importante. D'ailleurs, il est souvent décrit que les troubles cognitifs débutent suite à l'arrêt de l'activité professionnelle (retraite) (Fratiglioni et coll., 2004).

4.2.3. Les interactions sociales

L'**isolement social** représente également un facteur de risque. En effet, des personnes veuves ou célibataires ont une moins forte stimulation cognitive quotidienne et développent, en moyenne, la MA à un âge plus précoce (cf. Figure 17) (Wilson et coll., 2007).



4.2.4. Le genre

Les **femmes** sont plus souvent atteintes que les hommes par la MA (Rountree et coll., 2012). L'étude PAQUID réalisée en France en 2003 a mis en évidence que dans une population de sujets âgés de 75 ans, 13,2% des hommes souffraient de la MA alors que ce pourcentage s'élevait à 20,5% pour les femmes. Cette différence de ratio en fonction du sexe pourrait s'expliquer par les niveaux d'hormones. Des études ont montré que la restauration du niveau d'œstrogène après la ménopause entraînait une diminution du risque de développer la MA (Henderson, 1997 ; Kawas et coll., 1997).

4.2.5. Les traumatismes crâniens

Un traumatisme crânien entraîne une augmentation des radicaux libres et du stress oxydatif facilitant la perte neuronale et synaptique observée chez les patients atteints de la MA. La répétition de **traumatismes crâniens** est associée à l'augmentation du risque de développer la MA. Roberts et collaborateurs ont mis en évidence (1994) que les dépôts de la protéine A β étaient augmentés suite à un traumatisme crânien sévère chez l'Homme. Aussi, chez des patients présentant une mutation sur le gène de l'APP, le traumatisme crânien accélère le développement de la MA. En travaillant sur un modèle transgénique murin de la MA (double mutation sur les gènes de l'APP et des PS1), Tajiri et collaborateurs ont montré (2013) que le traumatisme crânien accélère le développement et la propagation des dépôts extracellulaires du peptide A β dans l'hippocampe de souris.

5. MODELISATION DE LA MALADIE D'ALZHEIMER

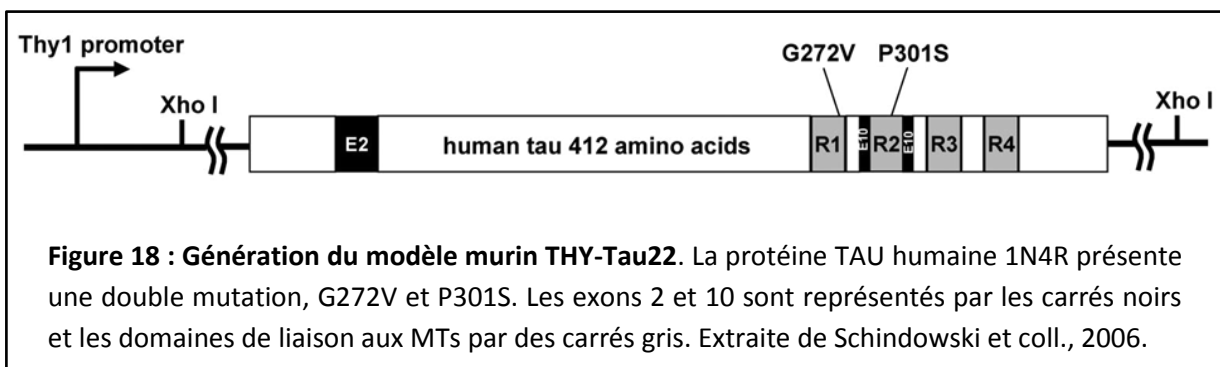
Différentes approches sont utilisées pour modéliser la MA. La MA entraînant une neurodégénérescence dans des zones restreintes, du moins au début de la maladie, il est possible de modéliser les lésions structurelles observées à l'aide de techniques lésionnelles en injectant des molécules neurotoxiques (e. g. acide iboténique, 192 IgG-saporine) dans ces régions spécifiques (cortex entorhinal, hippocampe ou les noyaux acétylcholinergiques comme le noyau basal de Meynert).

Il est possible d'utiliser des animaux transgéniques, présentant des mutations identiques à celles observées chez l'Homme. Une autre possibilité est l'utilisation de souris transgéniques qui présentent les mêmes marqueurs physiopathologiques ou les mêmes troubles mnésiques en raison de mutations qui ne sont pas nécessairement retrouvées chez l'Homme. Le modèle de souris transgénique que j'ai utilisé au cours de ma thèse exprime la protéine TAU humaine avec deux mutations qui ne se retrouvent pas chez les patients souffrant de la MA mais dans les cas familiaux de démence fronto-temporale liée au chromosome 17. Cependant, ces deux mutations (G272V et P301S) favorisent la phosphorylation de la protéine TAU et son agrégation sous forme de DNFs comme on l'observe chez les patients atteints de la MA.

6. LES SOURIS TRANSGENIQUES THY-TAU22

6.1. Description du modèle

Dans le cadre de ma thèse, nous avons utilisé un modèle murin de tauopathie, les souris THY-Tau22. Ces souris expriment la protéine TAU murine et également la protéine TAU humaine sous son isoforme 1N4R, qui est mutée sur deux résidus : G272V et P301S. Nous utilisons des souris THY-Tau22 hétérozygote (un seul des allèles porte la mutation). La protéine TAU humaine 1N4R, de 412 acides aminés, présentant une double mutation, G272V et P301S, est introduite via l'enzyme de restriction Xho I (cf. Figure 18). L'expression de la protéine TAU est sous le contrôle du promoteur Thy1.2. Le vecteur a été injecté à des souris C57BL6/CBA croisée avec des souris C57BL6.



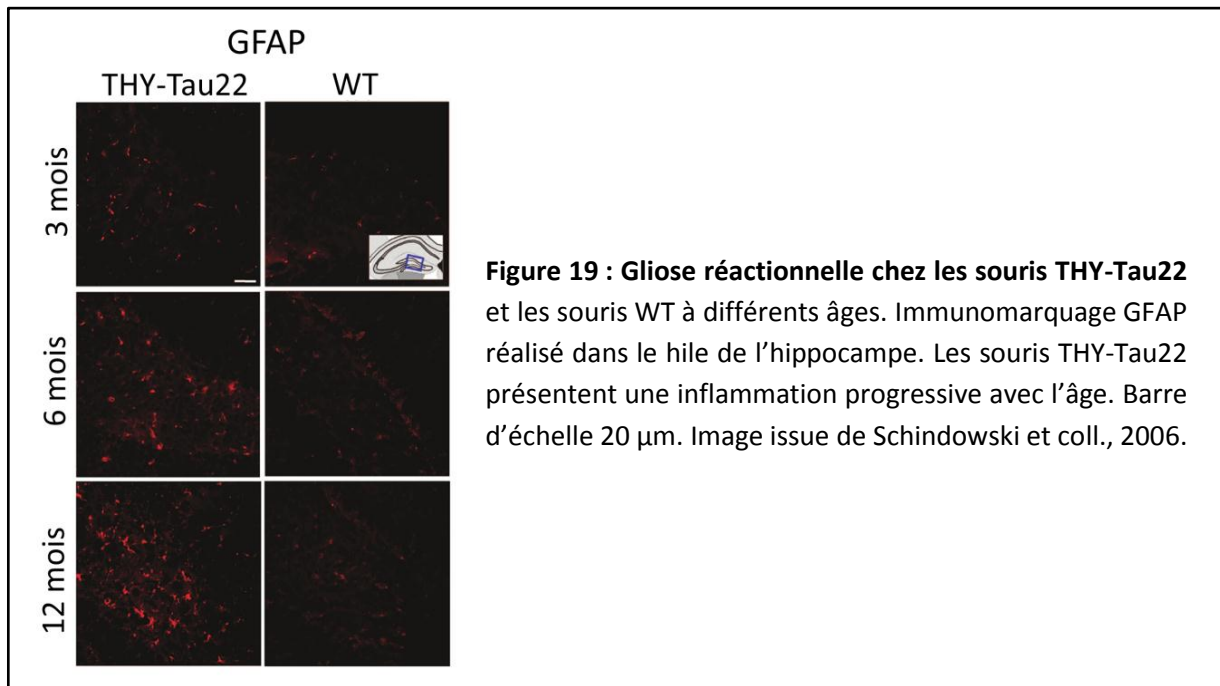
Thy1 est une protéine de surface (*Thy1 cell surface antigen*) découverte chez la souris en 1964 par Reif et Allen. Elle est impliquée dans le recrutement des leucocytes vers les sites d'inflammation. Cette protéine est retrouvée dans de nombreuses espèces. Le gène Thy1 est localisé sur le chromosome 11 (position 11q23.3) chez l'Homme et 9 chez la souris. Le promoteur Thy1 est exprimé spécifiquement dans le cerveau et plus particulièrement dans les neurones bien qu'il soit un peu retrouvé dans les cellules gliales. Il est très concentré dans l'hippocampe et le striatum mais on le retrouve également dans le néocortex et dans la moelle épinière. Il y a deux isoformes de la protéine Thy, Thy1.1 et Thy1.2 qui ne diffèrent que par l'expression d'un acide aminé (en position 108, une arginine est retrouvée dans l'isoforme Thy1.1 alors qu'il s'agit d'une glutamine dans l'isoforme Thy1.2). L'isoforme Thy1.2 est exprimée par la majorité des souches de souris contrairement à Thy1.1 est exprimée dans seulement deux souches de souris (AKR/J et PL).

Les mutations G272V et P301S, intégrées dans la protéine TAU humaine que les souris THY-Tau22 expriment, sont retrouvées dans les formes familiales de démences fronto-temporales (Goedert et Jakes, 2005). La mutation G272V entraîne une diminution de l'association entre la protéine TAU et les MTs ainsi qu'une augmentation de la formation de filaments agrégatifs (Brandt et coll., 2005, Bunker et coll., 2006). La mutation P301S entraîne la formation de *pré-tangle* et de DNFs comme observées chez l'Homme. Les souris transgéniques exprimant cette mutation présentent des déficits cognitifs, des troubles du transport axonal (Onishi et coll., 2014) et une altération de la plasticité synaptique (Hoffmann et coll., 2013).

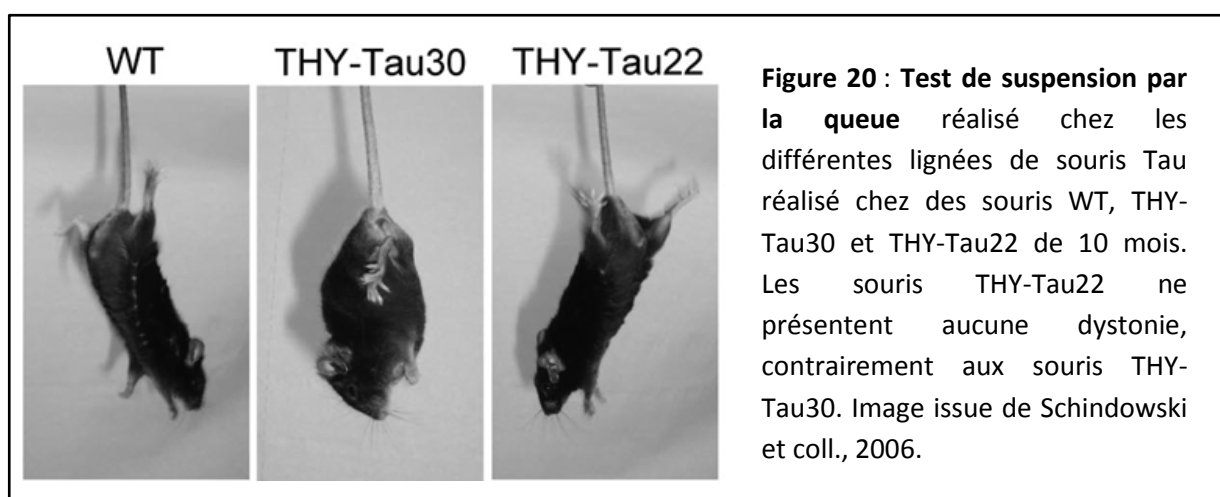
Dans le modèle transgénique des souris THY-Tau22, l'expression de la protéine TAU humaine mutée (hTAUm) est sous contrôle du promoteur Thy1.2, ce qui permet une expression restreinte au neurone, et qui débute 6 jours après la naissance. Ceci est un point critique vu le rôle de la protéine TAU durant l'embryogenèse. De plus, ces souris expriment la protéine hTAUm principalement dans le cerveau (Schindowski et coll., 2006). La quantité de protéine hTAUm exprimée évolue avec l'âge ce qui confère un aspect évolutif au développement de la tauopathie laissant ainsi place aux mécanismes compensatoires comme ce que l'on peut observer chez l'Homme. A trois mois, les souris THY-Tau22 expriment la protéine hTAUm dans le cortex et dans l'hippocampe, mais pas ou peu dans la moelle épinière. La protéine hTAUm est plus exprimée dans le cortex et dans l'hippocampe à 12 mois. Une petite quantité de htau est retrouvée dans la moelle épinière à cet âge-là, mais aucune trace de htau n'a été retrouvée dans les autres organes du corps (le cœur, les reins, la rate, les muscles).

6.2. Caractéristiques physiopathologiques

Les souris THY-Tau22 présentent des DNFs (révélées par l'utilisation d'anticorps dirigé contre deux sites de phosphorylations anormales de la protéine TAU, l'AT100) dans l'hippocampe (plus précisément dans la zone CA1) et le cortex frontal dès l'âge de 3 mois. Le nombre de neurones touchés par les DNFs augmente ensuite progressivement avec l'âge (Schindowski et coll., 2006). Comme chez les patients atteints de la MA, une gliose réactionnelle se met en place assez rapidement après le début de la pathologie (débute vers 7 mois, cf. Figure 19).



La protéine hTAU_m est peu exprimée dans la moelle épinière et absente dans les muscles, même à un âge avancé (Schindowski et coll., 2006). Lors du test de suspension par la queue, les souris THY-Tau22 se comportent comme les souris WT du même âge contrairement aux souris THY-Tau30 qui présentent des dystonies et une paralysie des pattes importantes (*cf.* Figure 20). Il était très important pour nous que le modèle animal de la MA que nous allons utiliser ne présente pas de troubles moteurs afin que les capacités cognitives et mnésiques puissent être évaluées à l'aide de tests comportementaux.



A 14 mois, les souris THY-Tau22 présentent une diminution de la densité de cellules pyramidales dans la CA1 de l'hippocampe. Cette perte a été évaluée à 30 % (cf. Figure 21).

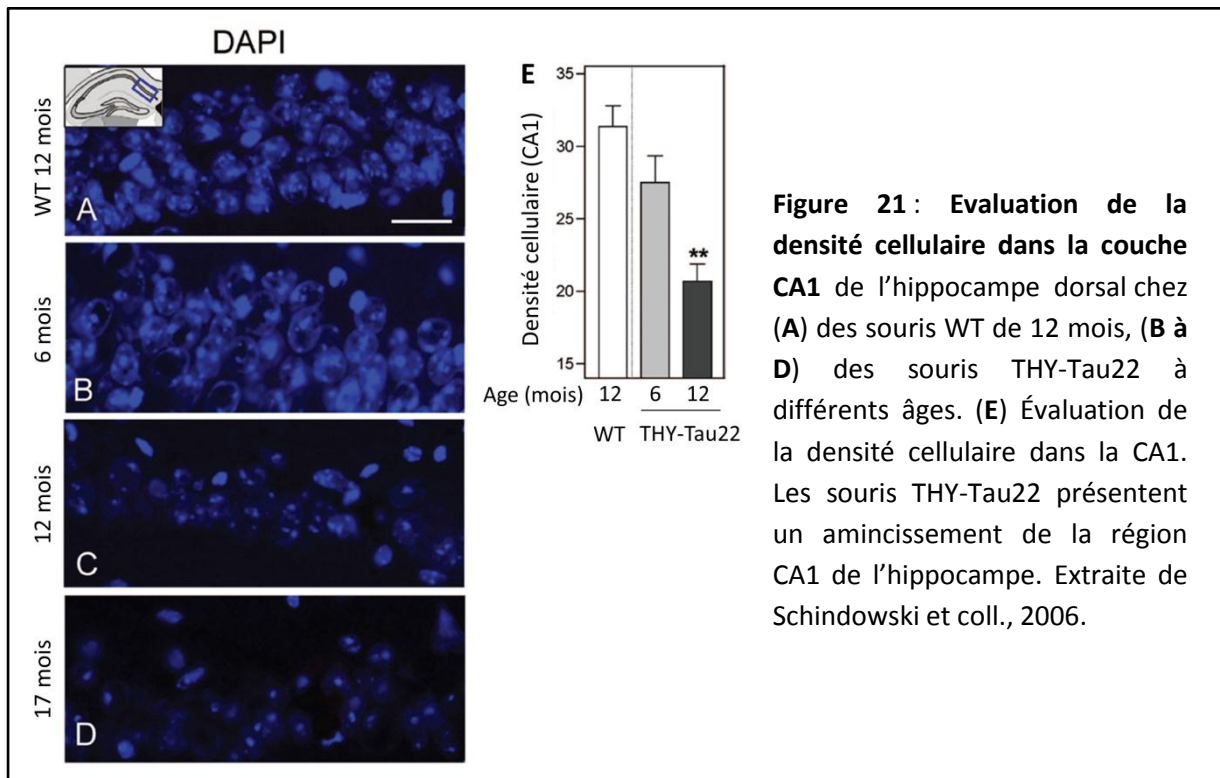
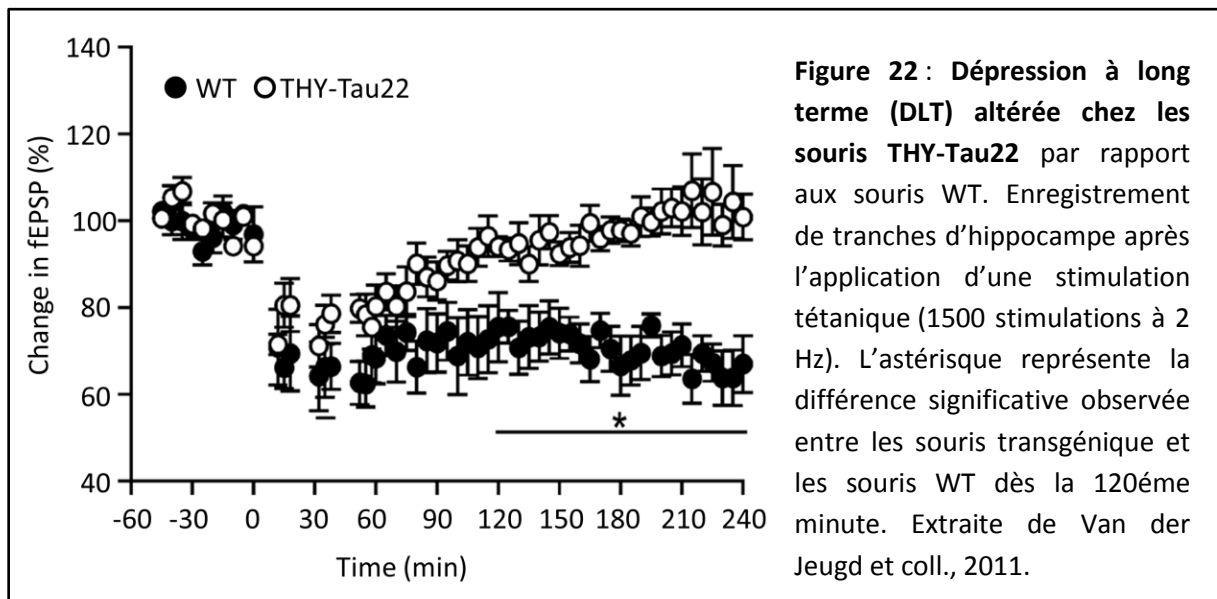


Figure 21 : Evaluation de la densité cellulaire dans la couche CA1 de l'hippocampe dorsal chez (A) des souris WT de 12 mois, (B à D) des souris THY-Tau22 à différents âges. (E) Évaluation de la densité cellulaire dans la CA1. Les souris THY-Tau22 présentent un amincissement de la région CA1 de l'hippocampe. Extraite de Schindowski et coll., 2006.

Belarbi et collaborateurs ont étudié le système cholinergique des souris THY-Tau22, ce système de neurotransmission étant atteint de la MA. Ils ont mis en évidence que les souris THY-Tau22 présentent une atteinte du système cholinergique grâce à l'instillation d'un traceur antérograde (le fluorogold) dans l'hippocampe. Ils ont relevé une hyperphosphorylation et une phosphorylation anormale de la protéine TAU dans l'hippocampe, dans le noyau basal de Meynert ainsi que dans la bande diagonale de Broca (les deux noyaux cholinergiques principaux) et enfin dans le septum médian. Ces souris présentent également un trouble dans le transport axonal rétrograde (Belarbi et coll., 2009 ; Belarbi et coll., 2011b).

La potentialisation à long terme (PLT) et la dépression à long terme (DLT) sont des mécanismes de plasticité synaptique considérés comme la base de la mémoire. Schindowski et collaborateurs (2006) se sont intéressés à la PLT sur des tranches d'hippocampe de souris THY-Tau22 de 6 mois et de 12 mois. Ils ont observé que ces souris présentent une PLT normale à ces deux âges mais que l'excitabilité des neurones est amoindrie à 12 mois (elle est normale à 6 mois). Van der Jeugd et collaborateurs (2011) ont montré que les souris THY-

Tau22 présentent une altération du maintien de la DLT (*cf.* Figure 22). Après l'application d'un train de stimulation tétanique (induit une dépression), le niveau d'activité globale enregistrée rejoint la ligne de base sur les coupes d'hippocampe des souris THY-tau22 en 3 heures, tandis ce niveau est toujours largement diminué sur les coupes d'hippocampe de souris WT même 4 heures après la stimulation.



Le rôle du BDNF dans la plasticité synaptique et dans les processus mnésiques n'est plus à prouver (Bekinschtein et coll., 2007 ; Bekinschtein et coll., 2008 ; Cuhna et coll., 2010). Ainsi, afin de mieux comprendre pourquoi les souris THY-Tau22 présentent des troubles mnésiques, Burnouf et ses collaborateurs (2012) ont analysé le niveau protéique de BDNF (*Brain-Derived Neurotrophic Factor*) chez ces souris à différents âges. Burnouf et ses collaborateurs ont mis en évidence que le développement de la tauopathie chez ces souris n'a pas de lien avec le niveau de BDNF. En effet, les souris THY-Tau22 ne présentent pas de diminution de l'expression protéique du BDNF mais au contraire, une augmentation significative à 7 mois. Cependant, cette augmentation est transitoire puisqu'à 12 mois, le niveau protéique du BDNF est à nouveau comparable à celui observé chez les souris WT du même âge (Burnouf et coll., 2012). L'application de BDNF sur des tranches d'hippocampe de souris WT de 7 mois induit une augmentation de la transmission synaptique au travers d'un mécanisme impliquant TrkB et les récepteurs NMDA. Ce phénomène n'est pas observé chez les souris THY-Tau22 de 7 mois malgré le niveau d'expression de TrkB qui est inchangé (par

rapport à celui observé chez les WT). L'application de NMDA sur des coupes d'hippocampe de souris WT de 7 mois entraîne une augmentation des potentiels post-synaptiques excitateurs, mécanisme largement atténué sur les coupes hippocampiques des THY-Tau22, indiquant que le potentiel d'activation du récepteur NMDA est altéré. Les auteurs expliquent ce phénomène par la séquestration de la kinase Src (impliquée dans la phosphorylation de la sous-unité NR2B au niveau du résidu Y1472 du récepteur NMDA et nécessaire à son activation) dans les agrégats formés par la protéine TAU.

Des mesures de potentiels évoqués visuels ont été réalisées afin de s'assurer que les souris THY-Tau22 ne présentent pas de troubles visuels qui pourraient altérer leurs performances dans les tests comportementaux. Ces mesures, des modifications de l'activité cérébrale suite à une stimulation visuelle, n'ont révélé aucune différence entre les souris WT et les souris THY-Tau22 (Van der Jeugd et coll., 2011). De même, les souris THY-Tau22 ne présentent pas de déficits en terme de réponse nociceptive (Van der Jeugd et coll., 2011).

L'atrophie corticale fait partie des marqueurs neuropathologique de la MA. Schindowski et collaborateurs (2008) ont décrit une perte du poids du cerveau de 6 % chez les souris THY-Tau22 de 12-13 mois tandis que dans la publication de Van der Jeugd et collaborateurs (2011), aucune atrophie corticale n'a été observée chez des souris à 12 mois.

6.3. Critères comportementaux

Les souris THY-Tau22 présentent des troubles comportementaux dans de nombreuses tâches mnésiques. En 2006, Schindowski et ses collaborateurs ont mis en évidence que les souris THY-Tau22 présentent des déficits d'acquisition (sur une période de 4 jours) mais également de rappel (à un délai de 5 jours) dans une tâche de mémoire spatiale de référence (le test aquatique de la piscine de Morris) dès 6 mois. Les capacités en mémoire de travail ont été évaluées dans le labyrinthe en Y et ont été trouvées altérée à 12 mois.

Dans un paradigme de conditionnement de peur au son, les souris THY-Tau22 comme les souris WT expriment un taux d'immobilisation identique (indiquant la peur de l'animal) indiquant que la mémoire associative de ces souris est normale. Par contre, le conditionnement de peur au contexte, apprentissage fortement dépendant de

l'hippocampe, est altéré chez les THY-Tau22 de 10 mois (Van der Jeugd et coll., 2011 ; Van der Jeugd et coll., 2013a).

Les capacités mnésiques de souris THY-Tau22 de 10 mois ont été évaluées dans un autre test également dépendant de l'hippocampe, la transmission sociale de préférence alimentaire sont également altérées (Van der Jeugd et coll., 2011). Tandis que les souris WT présentent une forte préférence pour la nourriture présentée par leurs congénères, les souris THY-Tau22 consomment indifféremment les deux types de nourriture ce qui indique un déficit dans l'acquisition de la nourriture préalablement présentée.

En 2013, Van der Jeugd et collaborateurs ont montré que les souris THY-Tau22 de 12 mois présentent d'autres traits caractéristiques de la MA : une hyperactivité nocturne, une agressivité plus importante que les souris contrôles, ainsi qu'une anhédonie. Les auteurs expliquent ceci par le niveau anormalement bas de sérotonine mesuré dans l'hippocampe de ces souris (Van der Jeugd et coll., 2013b).

Les souris THY-Tau22 présentent donc des déficits dans des tâches mnésiques dépendantes de l'hippocampe. Ces déficits sont corrélés au développement des DNFs. Ces souris présentent peu de DNFs à 3 mois dans l'hippocampe (CA1) et n'ont pas de déficits mnésiques, la quantité de DNFs augmente significativement dès 6 mois, moment où les premiers troubles mnésiques apparaissent. Enfin, ces souris expriment des déficits mnésiques dans de multiples tâches dépendantes de l'hippocampe à 10 mois lorsque la zone CA1 de l'hippocampe est envahie de DNFs (Van der Jeugd et coll., 2013a).

7. LES TRAITEMENTS THERAPEUTIQUES

La majorité des traitements prescrits aux patients atteints de la MA sont des médicaments visant à traiter les troubles mnésiques observés dans la maladie mais n'ont malheureusement qu'un effet modéré. Depuis peu, des stratégies neuroprotectrices et neuroréparatrices voient aussi le jour.

7.1. Les traitements symptomatiques

Les traitements symptomatiques ont été développés pour contrecarrer la diminution d'acétylcholine observée chez les patients. Ces traitements agissent sur les enzymes responsables de la dégradation de l'acétylcholine, les acétylcholinestérases. C'est le cas de la tacrine qui fut le premier traitement développé (mais non commercialisé en raison de ces effets indésirables), suivi par le donépétyl, la galanthamine et la rivastigmine qui sont les plus connus (Charbier, 2009). D'autres cibles thérapeutiques sont recherchées, notamment pour viser les récepteurs AMPA et le système de neurotransmission sérotoninergique à l'origine des troubles dépressifs souvent observés dans la MA (Jacobsen et coll., 2005).

7.2. Les traitements neuroprotecteurs

Le concept est simple : il faut s'opposer à la mort neuronale. Par exemple, il est possible d'agir sur le stress oxydatif (antioxydant comme la vitamine E), sur l'excitotoxicité (comme c'est le cas de la mémantine) ou encore sur l'inflammation (anti-inflammatoire non stéroïdien). Concernant les stratégies spécifiques de la MA, elles visent à prévenir la formation des plaques séniles, en utilisant des modulateurs des sécrétases ou l'immunothérapie A β (Blennow et coll., 2006), et la formation des DNFs, en inhibant les kinases majeures responsables de l'hyperphosphorylation de la protéine TAU (cdk5 et GSK3 β) (Ballatore et coll., 2007) ou également l'immunothérapie contre la protéine TAU (Chai et coll., 2011 ; Ando et coll., 2014 ; Castillo-Carranza et coll., 2014).

Les traitements que nous avons utilisés dans le cadre de cette thèse appartiennent à ces deux catégories de traitements : ils agissent d'une part sur les symptômes et d'autre part sur le développement de la pathologie (comme dans le cas du phénylbutyrate).

La maladie d'Alzheimer est la maladie neurodégénérative la plus répandue chez les personnes de plus de 65 ans. Elle est caractérisée par le développement progressif de trois marqueurs physiopathologiques principaux : les plaques séniles, les dégénérescences neurofibrillaires et l'atrophie corticale. Dans le cadre de cette thèse, nous avons utilisé un modèle de souris transgéniques modélisant le développement des DNFs dans le but d'envisager de nouvelles stratégies thérapeutiques pour traiter la MA. A l'heure actuelle, les traitements disponibles ont des effets modérés et l'étiologie de la MA, dans 99 % des cas d'origine sporadique, est encore mal comprise. La MA est caractérisée, d'un point de vue clinique, par l'apparition de troubles de la mémoire. La mémoire et ses différents sous-systèmes font l'objet du second chapitre de cette introduction.

CHAPITRE 2 : LA MEMOIRE

CHAPITRE 2 : LA MEMOIRE

1. DEFINITIONS ET CLASSIFICATIONS DE LA MEMOIRE

1.1. Définitions

La mémoire peut être définie comme l'ensemble des processus mentaux qui permettent d'acquérir, de stocker et de restituer une information. Aristote, il y a 200 ans, la définissait dans son *Traité de la mémoire et de la réminiscence*, comme « *la présence dans l'esprit de l'image, comme copie d'un objet dont elle est l'image* », comme une trace appartenant au passé et non plus au présent. Le concept de la mémoire n'a cessé d'évoluer au cours des siècles. Aujourd'hui, les définitions de la mémoire, encore multiples, se rassemblent toutes sur la notion d'utilité de ces traces mnésiques, de ces souvenirs acquis dans le passé, pour réagir de la manière la plus adaptée possible à l'environnement.

Le processus de mémorisation comporte 3 étapes principales : l'encodage, la consolidation et le rappel. L'encodage fait référence au processus permettant l'acquisition puis la transformation d'une information en représentation mentale ou trace mnésique. La deuxième étape est la consolidation qui permet à la trace mnésique acquise d'être stockée à (très) long terme. La consolidation implique la synthèse de protéines, la création de nouvelles connexions synaptiques (consolidation synaptique) mais également des réorganisations structurelles et fonctionnelles au sein de circuits neuronaux notamment hippocampo-corticaux : on parle alors de consolidation systémique. La dernière étape est le rappel, ou la restitution de l'information préalablement acquise.

Pendant longtemps, on voyait la mémoire comme un système unitaire, suivant une organisation relativement simple. L'observation de cas cliniques a permis de préciser cette définition et d'appréhender la mémoire comme un ensemble de processus dynamiques, sous-tendus par plusieurs circuits neuronaux mettant en jeu de nombreuses structures cérébrales.

Le cerveau n'est plus vu comme un organe uniforme mais comme un ensemble de sous-régions connectées ayant des rôles différents et permettant d'assurer des fonctions aussi complexes que la mémoire.

1.2. Classifications des différents systèmes de mémoire

L'étude de cas cliniques a amené les neurosciences à considérer la mémoire comme organisée en systèmes de mémoire. Ces différents systèmes sont régis par des réseaux neuronaux qui diffèrent par leur localisation, leur anatomie et le type d'informations traitées. Un système de mémoire se définit ainsi comme un réseau neuronal anatomique et fonctionnel, spécialisé dans le traitement d'un type d'information (Tulving, 1972).

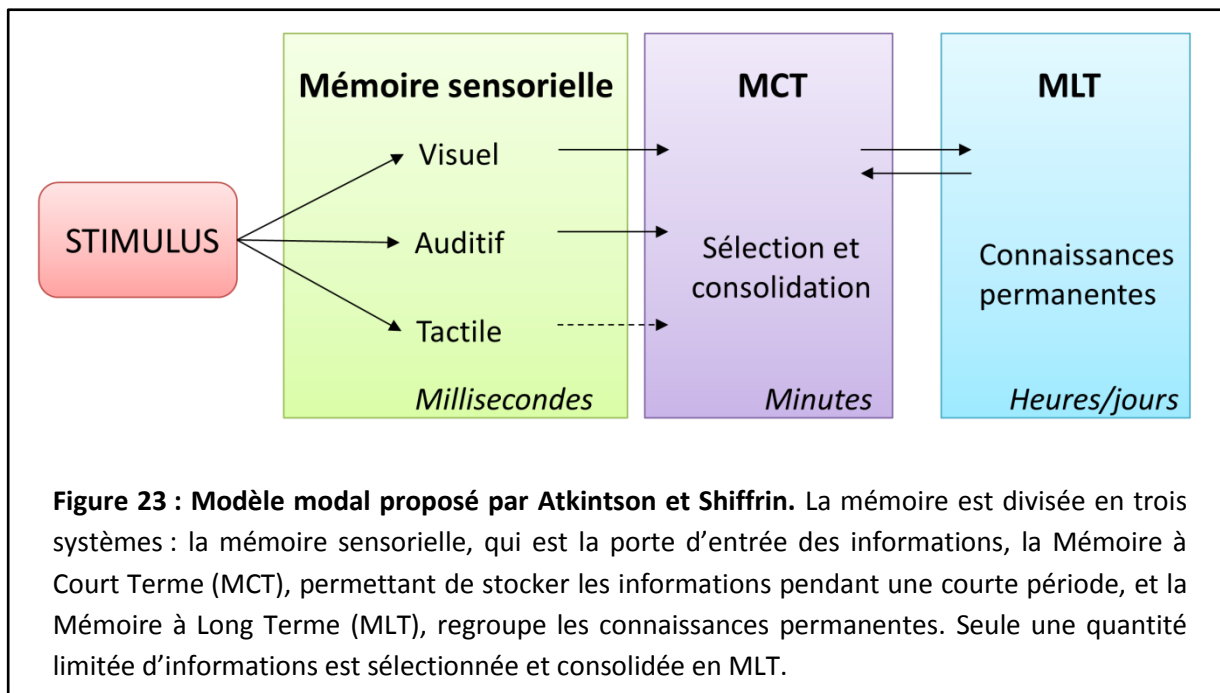
Différents systèmes de mémoire ont été mis en évidence et définis en fonction du registre sensoriel (visuel, auditif, tactile), du format des représentations mentales (déclarative vs. non déclarative, Squire, 1992), du mode de récupération de la trace (explicite vs. implicite), ou encore du décours temporel (mémoire à court terme vs. mémoire à long terme). Ces différentes classifications ne sont pas exclusives.

William James, en 1890, fut le premier à distinguer deux types de mémoire, la mémoire primaire, connue aujourd'hui comme la Mémoire à Court Terme (MCT), et la mémoire secondaire, qu'on nomme aujourd'hui la Mémoire à Long Terme (MLT). La MCT comprend les événements conscients proches du présent (minutes, heures), et la MLT les souvenirs d'un passé plus ou moins lointain (jours, mois, année).

En 1971, Atkinson et Shiffrin ont décrit, dans le **modèle modal**, l'interconnexion des différents systèmes de mémoire : la mémoire sensorielle, la MCT et la MLT (cf. Figure 23). Je vais me baser sur ce modèle pour vous expliquer les distinctions entre ces différents systèmes de mémoire.

1.2.1. Mémoire sensorielle et registres d'informations sensorielles

Pour qu'une information soit mémorisée, elle doit faire l'objet d'un traitement et d'un encodage. La première étape est le **registre sensoriel**, ou **mémoire sensorielle**, qui est donc la voie d'entrée. Ce registre peut traiter un très grand nombre d'informations mais ne peut la stocker que pendant un temps très limité. Cette mémoire sensorielle peut être d'ordre auditif, olfactif ou visuel. Seules les informations sur lesquelles l'attention est portée pourront passer dans le second système, la MCT (Atkinson et Shiffrin, 1971).



1.2.2. Mémoire à court terme et mémoire de travail

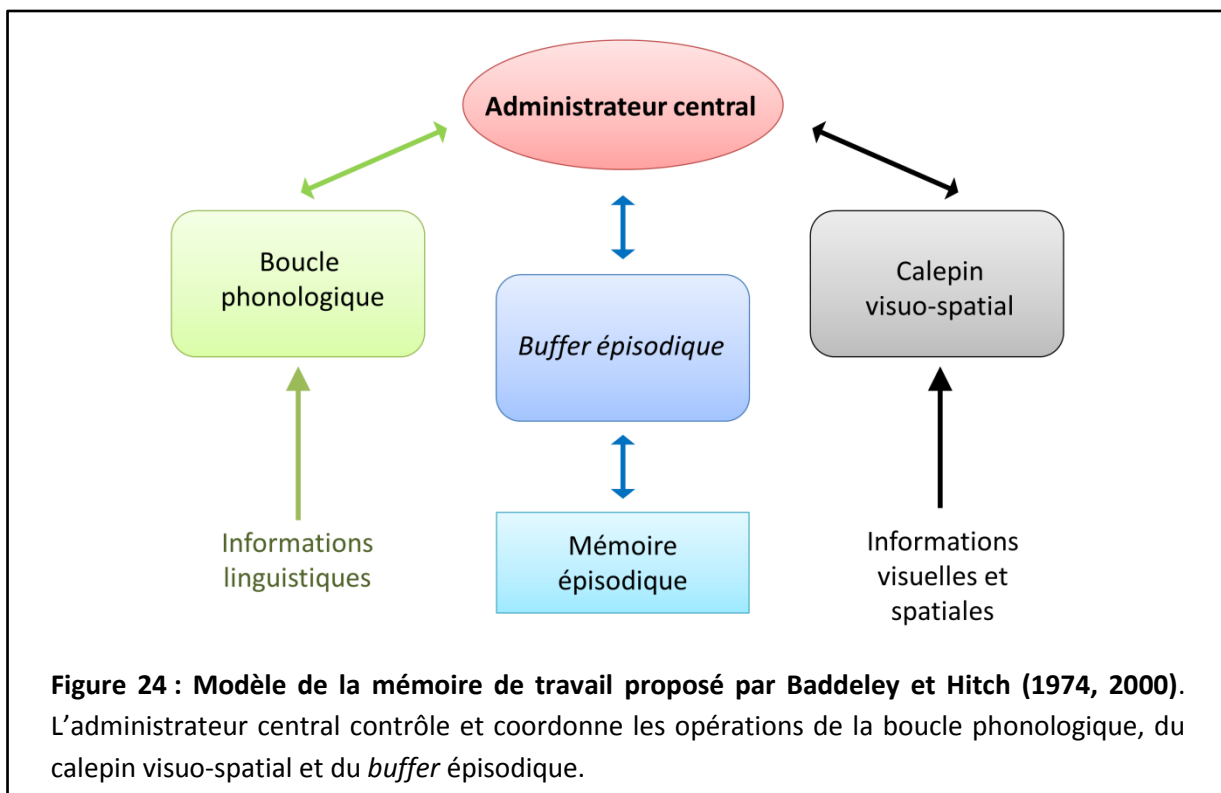
Mémoire à court terme

La **MCT** permet de stocker l'information sur une période de temps courte. La MCT a une capacité de stockage limitée, on parle d'empan mnésique, en moyenne 6-7 items. L'information est disponible pendant une durée allant de quelques secondes à quelques minutes / heures. C'est une mémoire qu'on utilise au quotidien, par exemple lorsque vous recevez un appel téléphonique pour obtenir le numéro de téléphone d'un partenaire, vous allez être capable de retenir ce numéro pour une courte durée, généralement jusqu'à ce que vous l'avez écrit quelque part.

Mémoire de travail

Si au cours du maintien en MCT, l'information fait l'objet d'une manipulation mentale (par exemple une opération cognitive telle qu'un calcul mathématique), on parle de **mémoire de travail** (MdT). En consultation neuropsychologique, le test permettant d'évaluer la MdT consiste en la restitution d'une suite de nombre dans le sens inverse de celui énoncé. Pour résoudre ce problème, vous devez stocker l'information (la liste de nombre : 1, 3, 5, 7, 2), la manipuler (la mettre dans le sens inverse : 2, 7, 5, 3, 1) et enfin la restituer.

Le modèle le plus connu est celui de Baddeley et Hitch de 1974, mis à jour en 2000 (cf. Figure 24). Ces auteurs divisent la mémoire de travail en quatre composantes. Il y a **l'administrateur central** qui est un système de contrôle et coordonne les opérations de traitement des trois systèmes qui s'articulent autour. Il y a d'un côté **la boucle phonologique** qui est spécialisée dans le traitement de l'information linguistique et de l'autre côté, **le calepin visuo-spatial**, qui traite et manipule les informations visuelles et spatiales. En 2000, Baddeley et Hitch rajoutent un module fonctionnel à ce modèle, **le buffer épisodique**. Celui-ci permet de stocker temporairement les informations provenant de la mémoire épisodique à long terme (rappel d'une information pertinente stockée en mémoire).



Les structures fortement impliquées dans la MdT sont le cortex préfrontal (pour l'administrateur central), le cortex pariétal et le cortex visuel (calepin visuo-spatial), le cortex auditif et de l'aire de Broca (boucle phonologique), et l'hippocampe (*buffer* épisodique) (Baddeley et Hitch, 1974, 2000).

Si les informations disponibles dans la MCT ne font pas l'objet d'une consolidation, elles seront oubliées. Seules les informations pertinentes, associées à une charge émotionnelle forte, ou présentées de manière répétée feront l'objet d'une consolidation et seront maintenues dans le système de **Mémoire à Long Terme** (MLT). Les informations ainsi consolidées sont maintenues durant une période plus longue (jours, mois, années, voire la vie entière)

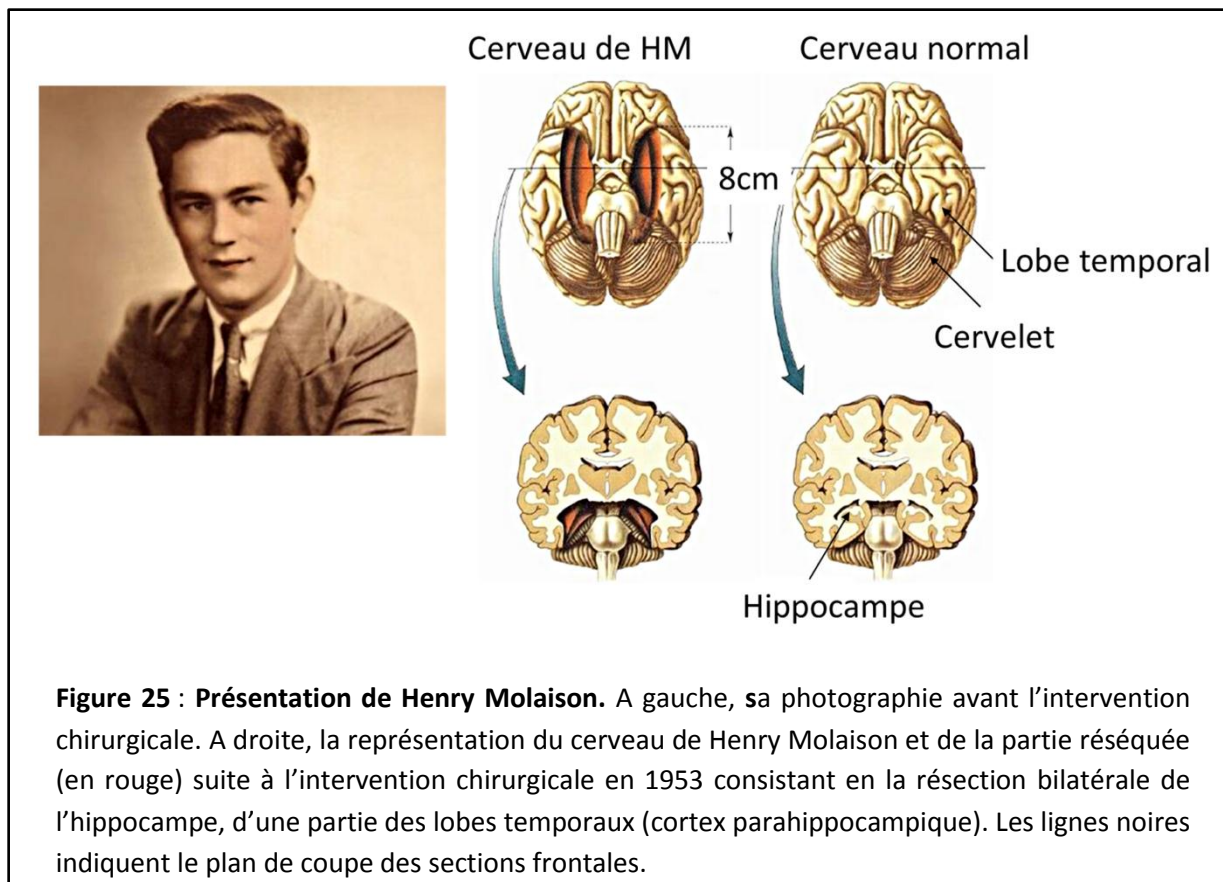
1.2.3. Mémoire à long terme et ses sous-systèmes

La mémoire à long terme (MLT) a d'abord été considérée comme un système permettant de stocker les informations sur une longue période de temps, quelle que soit la nature de cette information. Les études neuropsychologiques de patients amnésiques ont contribué à l'élaboration de différents systèmes de MLT et forment encore à l'heure actuelle le socle de nos connaissances sur la mémoire. S'il fallait ne citer qu'un de ces cas, le patient Henry Molaison (plus connu sous les initiales H.M.) a largement contribué à la découverte d'une des plus grandes avancées dans les neurosciences concernant la distinction des différents systèmes de mémoire.

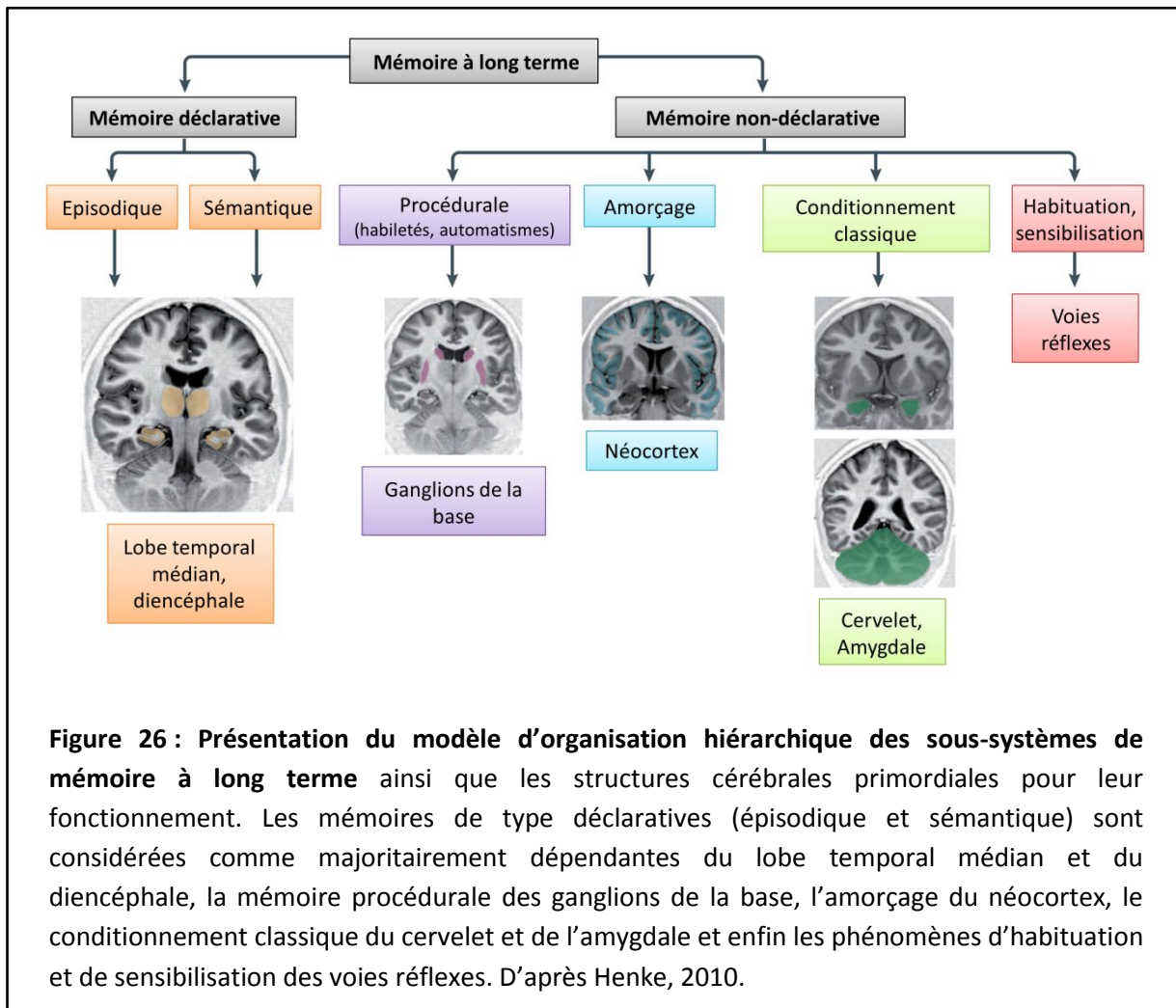
A l'âge de 27 ans, Henry Molaison (H.M.) souffrait d'une épilepsie sévère, pharmaco-résistante, dont la gravité et le retentissement sur sa vie quotidienne ont amené le neurochirurgien William Scoville à réséquer les deux lobes temporaux du patient (cf. Figure 25). Après cette intervention chirurgicale, H.M. est examiné par la neuropsychologue Brenda Milner. Elle constate qu'à la suite de son opération, H.M. présente une sévère amnésie antérograde, il n'est plus capable d'apprendre de nouvelles informations sémantiques (connaissances générales) mais également épisodiques (événements personnels). Il souffre également d'une amnésie rétrograde (incapacité de se rappeler des informations encodées au préalable, de ses souvenirs, Corkin, 2002). Cependant, H.M. peut parler sans problème et élabore des phrases suivant une syntaxe normale (Scoville et Milner, 1957).

« Sa compréhension du langage n'est pas perturbée : il peut répéter et transformer des phrases avec une syntaxe complexe, et il peut faire des pointes d'humour en utilisant une certaine subtilité sémantique ». Traduction d'une citation de Brenda Milner concernant son patient H.M.

Par ailleurs, H.M. ne présente aucun trouble des apprentissages moteurs. Ainsi, il réalise d'excellentes performances au test du dessin vu au travers d'un miroir (dessiner une étoile en regardant dans le miroir), présente une diminution du nombre d'erreur et du temps d'exécution mais il doit découvrir la tâche chaque jour. De la même manière, il joue particulièrement bien au tennis de table mais ne se souvient pas avoir joué auparavant.



L'étude du cas de H.M. et les nombreuses expériences auxquelles il a participé jusqu'en 2008, ont permis de mettre en évidence qu'il n'y a pas un seul et unique système de mémoire mais qu'il y a plusieurs systèmes de MLT capables de fonctionner de manière indépendante et reposant donc sur des circuits neuronaux distincts. Depuis les études réalisées avec Henry Molaison, d'autres cas de patients amnésiques (suite à des lésions cérébrales) ont été étudiés et ont ainsi permis d'établir une classification des sous-systèmes de la MLT en fonction du type d'information mémorisée : la mémoire non déclarative et la mémoire déclarative (cf. Figure 26).



Mémoire non déclarative

Le rappel des informations stockées en **mémoire non déclarative** (aussi appelée mémoire implicite) ne nécessite pas un accès conscient à l'information. Ce système de mémoire regroupe les apprentissages procéduraux (faire de la bicyclette, monter/descendre des escaliers), les habitudes (mettre sa ceinture en entrant dans une voiture) ou encore les conditionnements (classique et opérant). Cette mémoire est difficilement verbalisable. Il n'est pas facile d'expliquer à un enfant comment faire du vélo. La mémoire procédurale s'acquiert par la répétition. Si vous apprenez un nouveau sport, vous réfléchirez à votre geste dans le but de progresser. Avec le temps et la répétition, vous réaliserez les mouvements sans avoir besoin d'y réfléchir. Cette mémoire dépend de structures cérébrales telles que les noyaux gris centraux (pallidum, putamen et noyau caudé), le cervelet ou encore le cortex frontal et l'amygdale (cf. Figure 26).

Mémoire déclarative

Le stockage et la récupération des informations verbalisables, que l'individu peut faire émerger consciemment (Squire et McKee, 1993) sont assurés par le système de **mémoire déclarative** (ou explicite). Endel Tulving, en 1972, introduit une distinction entre deux sous-systèmes de mémoire déclarative : la mémoire sémantique et la mémoire épisodique.

La **mémoire sémantique** fait référence à la compréhension du langage, aux connaissances générales (la capitale de la France est Paris), aux informations et règles « de fonctionnement » qui permettent à l'individu d'évoluer dans son environnement de manière adaptée. Les informations stockées sont le plus souvent dissociées du contexte temporel, émotionnel et spatial dans lequel elles ont été acquises (vous pouvez me dire que Paris est la capitale de la France mais il vous sera plus difficile de me dire quand et dans quel contexte vous avez appris cette information). Cette mémoire est dépendante des régions corticales telles que le lobe frontal (guidance de nos comportements actuels en fonction des connaissances acquises au préalable) mais également le lobe temporal (code les informations factuelles). C'est une mémoire qui nécessite un rappel conscient de l'information, mais qui est dépourvue du contexte spatio-temporel.

D'un autre côté, il y a la **mémoire épisodique**. Cette mémoire regroupe les événements que l'individu a personnellement vécus, les informations concernant ses expériences personnelles. Les souvenirs sont alors associés à un contexte spatial et temporel précis et leur restitution nécessite un effort conscient de la part de l'individu. Les souvenirs stockés dans ce système de mémoire comprennent trois composantes : le « quoi », le « où » et le « quand » d'un événement. C'est la mémoire de notre histoire. Une femme se souvient toute sa vie de la naissance de ces enfants. Elle sera capable de dire quand c'était, où et avec qui elle était. Elle sera aussi capable de préciser son ressenti. Cette mémoire dépend de l'hippocampe (contexte spatial et temporel), de l'amygdale (composante émotionnelle) mais également du cortex frontal.

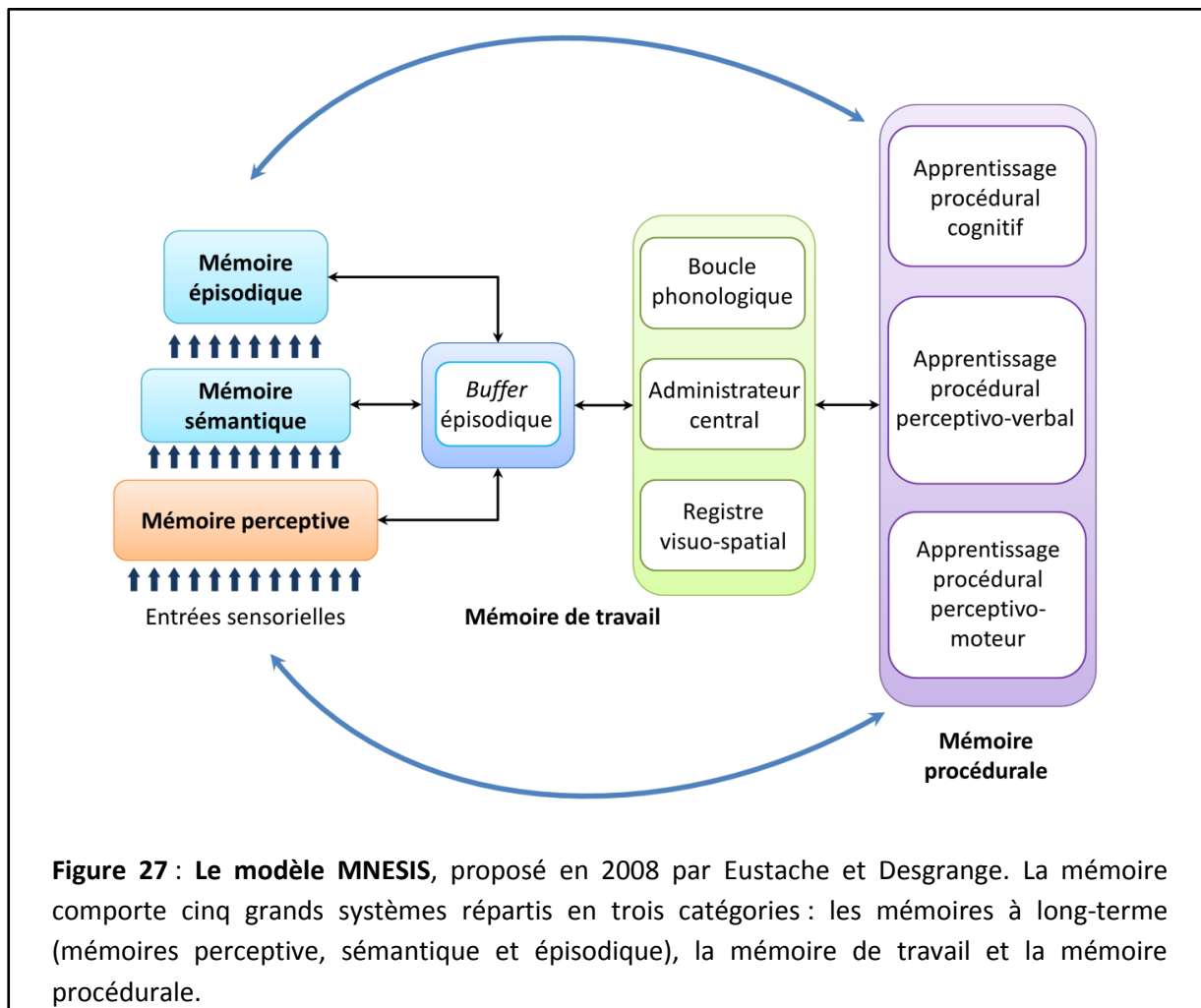
1.2.4. *Le modèle MNESIS*

Le modèle MNESIS (*Memory NEoStructural Inter-Systemic model* ou le modèle néostructural intersystémique) proposé en 2008 par Eustache et Desgrange fait une synthèse des orientations théoriques actuelles en neuropsychologie de la mémoire.

Ce modèle regroupe et interconnecte une partie des modèles proposés jusqu'alors, notamment celui de la MdT proposée par Baddeley et Hitch et le modèle SPI (Sérial, Parallèle et Indépendant) de Tulving (1995), et théorise les connexions entre les différents systèmes de mémoire.

Eustache et Desgrange présentent une vision plus dynamique, interactive et reconstructive de la mémoire. D'après ce modèle, la mémoire comporte cinq grands systèmes répartis en trois catégories : les mémoires à long-terme (mémoires perceptives, sémantique et épisodique), la mémoire de travail et la mémoire procédurale. Les mémoires perceptives alimentent la mémoire sémantique, elle-même à la source des informations transmises en mémoire épisodique. Lors de la mémorisation d'un événement, tout commence par des images, des sons et des impressions ressenties (mémoire perceptive). C'est seulement dans un second temps que le sens est donné à ces différentes images grâce à leur passage en mémoire sémantique. Le passage en mémoire épisodique donne naissance au souvenir dans sa globalité, comprenant les faits, lieux et dates (*cf.* Figure 27). Ce modèle explique également les processus de sémantisation, c'est-à-dire le passage d'une information de la mémoire épisodique en mémoire sémantique. Ce processus intervient au cours de la consolidation par la perte de détails contextuels caractéristiques de la mémoire épisodique.

La dimension temporelle du devenir de la trace mnésique, concept absent dans la plupart des modèles structuro-fonctionnel (SPI de Tulving, modèle de Baddeley), apparaît essentielle lorsqu'on s'intéresse au fonctionnement de la mémoire à long terme.



1.2.5. Cas particulier de la mémoire spatiale

La **mémoire spatiale** permet d’encoder, de stocker, et de restituer des informations sur l’environnement qui entoure l’individu. C’est la mémoire des lieux. Elle nous permet de nous orienter dans l’environnement, d’y naviguer mais également de nous souvenir d’endroits préalablement explorés. Cette mémoire est présente chez la majorité des espèces animales. Elle détermine la capacité à retrouver son nid/sa maison, les ressources alimentaires mais aussi les prédateurs ou les congénères. La mémoire spatiale est ainsi une fonction cognitive dont dépend la survie de l’individu. Ceci explique qu’en dépit de la diversité du règne animal, les processus de traitement de l’information spatiale et les capacités de navigations sont très comparables au sein des différentes espèces.

Les informations spatiales collectées dans l’environnement forment ce que Tolman appela en 1949 « la carte cognitive », c’est-à-dire la capacité de se construire une

représentation spatiale globale de l'environnement, représentation dans laquelle les différents éléments sont interconnectés. En 1978, O'Keefe et Nadel distinguent, dans leur ouvrage «*The hippocampus as a Cognitive Map*», deux systèmes de navigation spatiale : le système de « cartes » et celui de « routes / itinéraires ». Le système de « cartes » intègre des informations allocentrées, il permet de positionner de manière relative les différents indices entre eux. Le système de « routes » se base quant à lui sur des informations égocentrées, c'est-à-dire relatives à l'emplacement du corps dans l'espace.

Chez l'animal, Olton et collaborateurs (1979) ont distingué deux types de mémoire spatiale, la mémoire spatiale de référence qui fait partie du système de MLT et la mémoire spatiale de travail, qui ne nécessite pas une consolidation systémique et appartient au système de MCT. La mémoire spatiale chez le Rongeur est principalement évaluée dans le Test de la piscine de Morris (une description détaillée du test est disponible dans la première partie de l'Annexe de cette thèse). C'est la tâche comportementale la plus utilisée à ce jour en neurosciences avec le labyrinthe radial créé par Olton et Samuleson en 1976.

Nous nous intéressons tout particulièrement à la mémoire spatiale chez le Rongeur car elle permet de modéliser la mémoire épisodique. Dans la mesure où la mémoire déclarative chez l'Homme est par définition verbalisable et consciente, il paraît compliqué de parler de mémoire déclarative chez l'animal, on parle donc de mémoire « de type épisodique » (*episodic-like*). La mémoire épisodique comprend trois critères chez l'Homme. Il y a d'un côté la notion du « où », qui regroupe les informations spatiales. A celle-ci s'ajoute la notion du « quand » concernant cette fois les informations temporelles. Enfin, à ces deux critères s'ajoute la notion du « quoi ». La mémoire spatiale comprends deux de ces trois composantes, le « quoi » et le « où » d'un évènement. La mémoire spatiale définit ainsi le contexte spatial dans lequel sont survenus nos souvenirs épisodiques. Seul la conscience du moment (quand) auquel le souvenir fait référence (voyage mental dans le temps) ne peut pas être étudié chez les Rongeurs. De plus, la mémoire spatiale est évaluable chez les Rongeurs, contrairement à la mémoire épisodique à proprement parler. Comme dans la mémoire épisodique où les éléments d'un évènement sont reliés entre eux, la mise en place d'une mémoire spatiale nécessite la création de liens entre les divers indices spatiaux (Aggleton et Pearce, 2001).

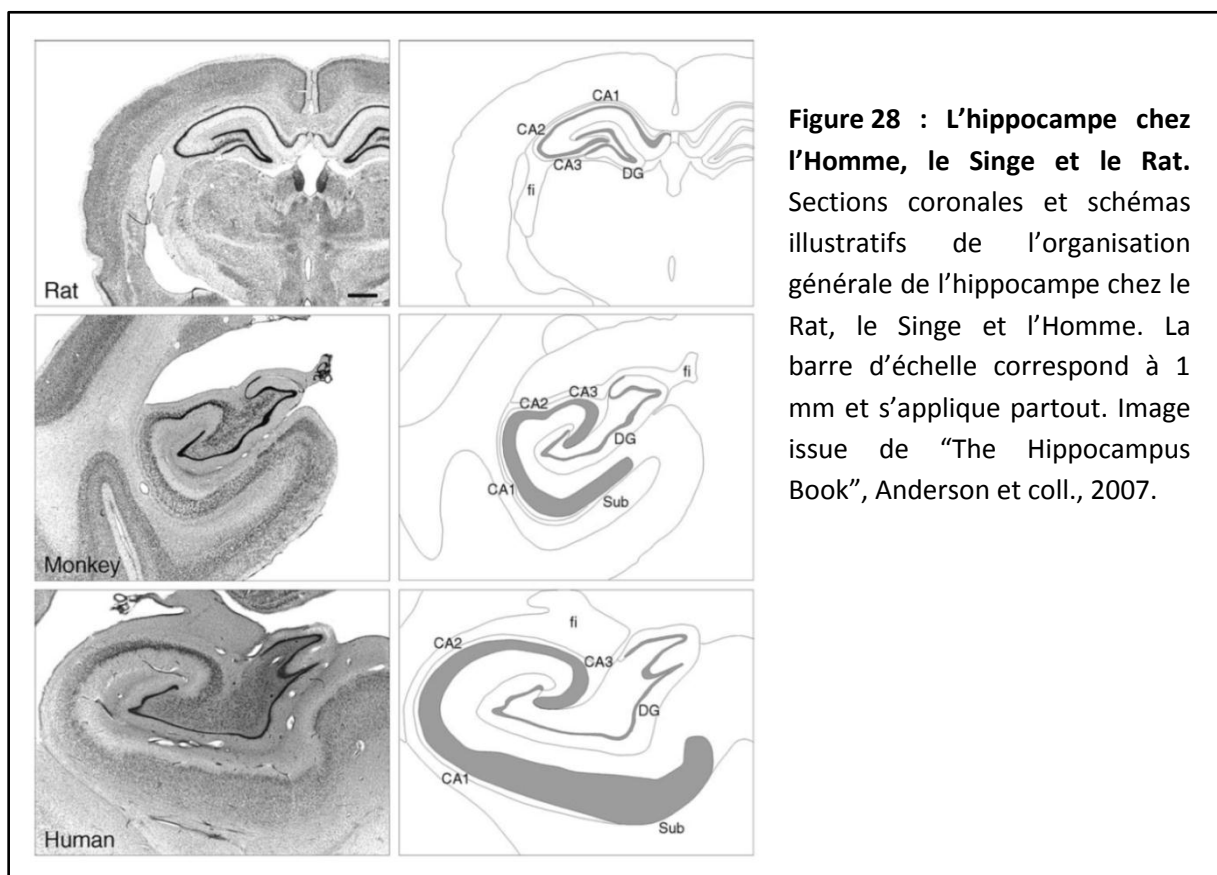
2. LA MEMOIRE SPATIALE ET L'HIPPOCAMPE

2.1. Données anatomiques sur l'hippocampe

L'anatomiste Giulio Cesare Aranzi, vers la fin du 16^{ème} siècle, créa le terme « hippocampe » pour désigner cette structure cérébrale qui ressemblait à l'animal marin *Hippocampus leria*. Les égyptiens y voyaient plutôt les cornes d'un bélier, symbole du dieu Amon en Egypte ancienne, et appelèrent ainsi l'hippocampe « cornu ammonis ». Ce terme désigne aujourd'hui les sous-régions de l'hippocampe, les 3 Cornes d'Ammon (CA1, CA2 et CA3).

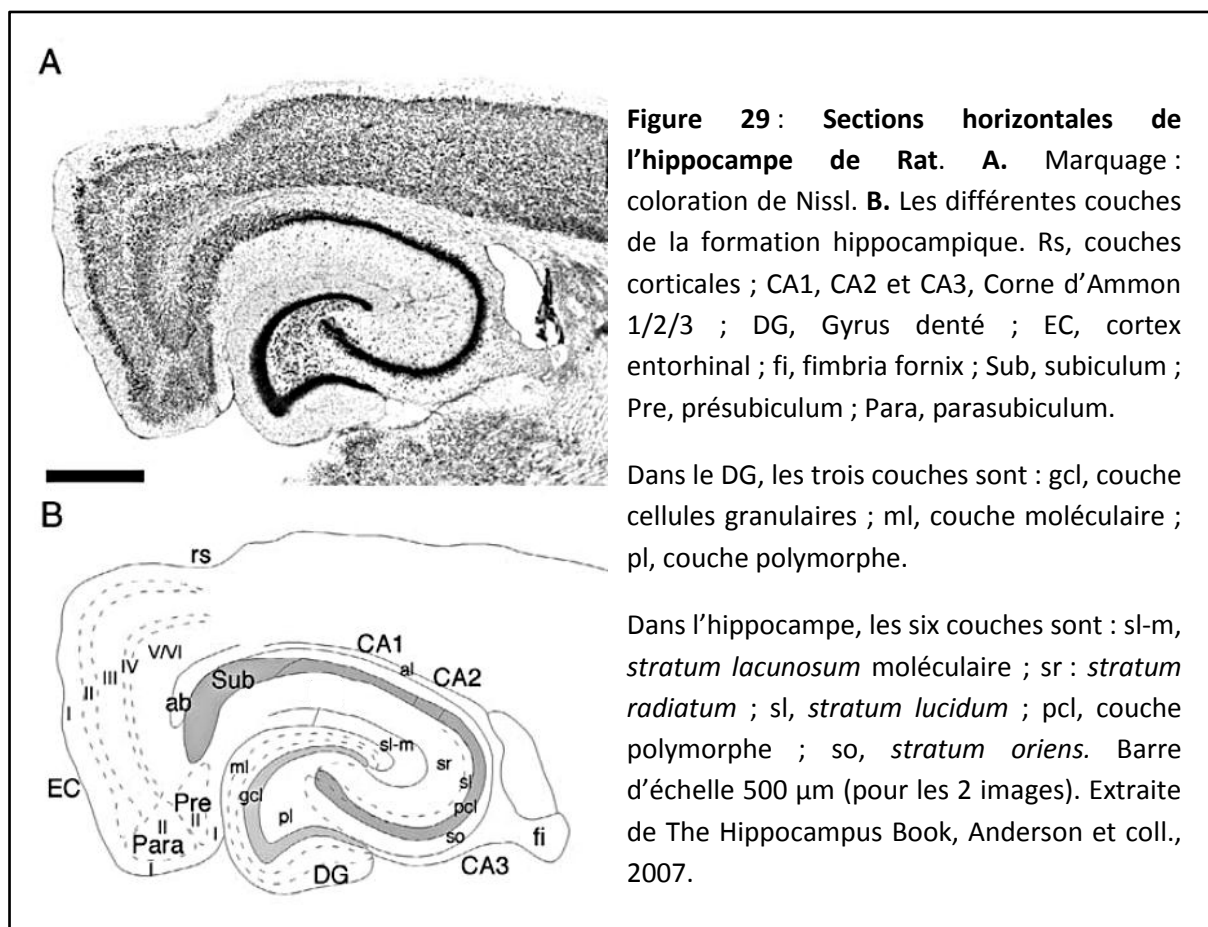
2.1.1. Organisation anatomique

L'hippocampe est une structure appartenant au télencéphale ce qui explique que son organisation architecturale soit commune à plusieurs espèces dont l'Homme, les primates non- humains et les Rongeurs. Quelques différences cytoarchitecturales apparaissent malgré tout d'une espèce à l'autre (cf. Figure 28) : l'hippocampe postérieur chez l'Homme a pour correspondance l'hippocampe dorsal chez le Rongeur tandis que l'hippocampe antérieur correspond à l'hippocampe ventral chez le Rongeur.



La région hippocampe comprend la formation hippocampique et la région parahippocampique. La formation hippocampique regroupe deux structures : l'hippocampe (les 3 sous régions de la Corne d'Amon et le gyrus denté) et le subiculum. La région parahippocampique est formée du cortex entorhinal, périrhinal, le présubiculum et le parasubiculum.

L'hippocampe est donc formé de deux sous structures (la corne d'Ammon et le gyrus denté) chacune étant organisée selon une structure laminaire en trois (DG) à six couches (CA3) comme montré dans la figure 29.



Dans la corne d'Ammon, la couche la plus externe, nommée *stratum oriens*, est polymorphe et comprend des fibres afférentes et efférentes mais également des interneurons. La couche principale, appelée *stratum pyramidale* est composée de larges neurones pyramidaux (glutamatergiques) et de nombreux interneurons (inhibiteurs).

Enfin, la couche interne se divise en 2 ou 3 couches :

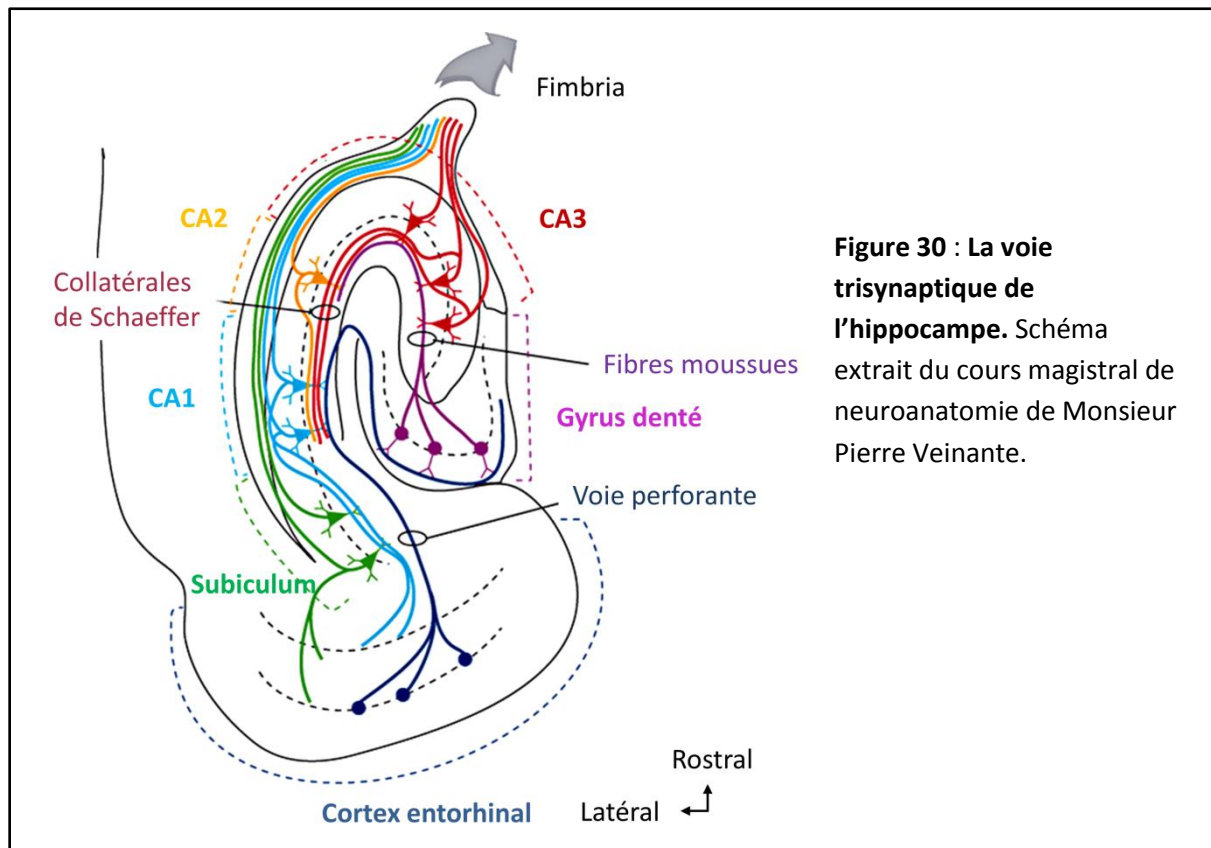
- La *stratum lucidum* est retrouvée uniquement dans CA3. Elle est composée de l'arbre dendritique proximal et reçoit les afférences des fibres moussues.
- La *stratum radiatum* est présente dans les trois cornes d'Ammon. Elle est composée de l'arborisation dendritique proximale et médiane. Elle représente la zone d'échange entre les trois cornes d'Ammon.
- La *stratum lacunosum* est retrouvée également dans les trois cornes d'Ammon, est composée des dendrites distales et reçoit les afférences du cortex entorhinal.

Dans le gyrus denté (GD), on retrouve 3 couches. La couche plus interne (couche polymorphe) est également appelée le hile. Elle regroupe les axones formant les fibres moussues qui projettent dans la couche *lucidum* de CA3 (voie de sortie du GD). La couche principale, ou *stratum granulosum* est formée des neurones granulaires glutamatergiques et d'interneurones. Enfin, la couche moléculaire, qui est la plus externe, est formée de l'arborisation dendritique et reçoit les afférences du cortex entorhinal par la voie perforante. Le Subiculum est composé de trois couches : d'une part la couche pyramidale, contenant les neurones pyramidaux glutamatergiques mais aucun interneurone ; d'autre part deux couches moléculaires, l'une profonde et l'autre superficielle.

2.1.2. Connexions de l'hippocampe

Connexions intrinsèques

Les connexions intrinsèques à l'hippocampe sont principalement unidirectionnelles et forment la voie trisynaptique (cf. Figure 30). La principale source d'afférences de l'hippocampe est le cortex entorhinal. Les neurones de la couche II du cortex entorhinal projettent sur le gyrus denté et sur CA3 *via* la voie perforante. Les informations sur l'environnement ainsi transmises proviennent principalement des aires corticales sensorielles et associatives. Les cellules granulaires du gyrus denté projettent ensuite vers CA3 par les fibres moussues. Les cellules pyramidales composants CA3 projettent à leur tour sur CA1 par les collatérales de Schaeffer. Finalement, les neurones de CA1 projettent sur le subiculum ainsi que dans la couche III du cortex entorhinal (Van Strien et coll., 2009 ; Henke 2010).



Connexions extrinsèques

La formation hippocampique est connectée à un grand nombre de structures tant corticales que sous-corticales. Les principales entrées de la formation hippocampe proviennent du néocortex (cortex périrhinal et parahippocampique) et passent par le cortex entorhinal. Des afférences du complexe amygdaloïde projettent également vers CA1 et le subiculum. La région CA3 reçoit principalement des afférences en provenance du septum et projette à son tour vers le noyau septal médian. Les afférences hypothalamiques, majoritairement de la région supramammillaire, projettent sur CA2. L'hippocampe (Corne d'Ammon) et le gyrus denté reçoivent des projections sérotoninergique et noradrénergiques des noyaux du tronc cérébral. Les projections thalamiques visant la formation hippocampique proviennent des noyaux antérieurs du thalamus (noyaux Reuniens et Rhomboïde).

Au cours de ma thèse, nous nous sommes tout particulièrement intéressés à la formation hippocampique pour 2 raisons : 1) elle présente des lésions et une atrophie importante dans la MA, 2) elle est très largement impliquée dans les processus de mémoire

déclarative (épisodique et spatiale) (Storey et coll., 2002 ; Pai et Jacobs, 2004). L'hippocampe est une des premières structures cérébrales atteintes dans le cadre de la MA et cette atteinte est associée aux troubles en mémoire épisodique et à la désorientation spatiale observée chez les patients Alzheimer (Scheff et coll., 2007 ; Sheng et coll., 2012 ; Spiers-Jones et Hyman 2014).

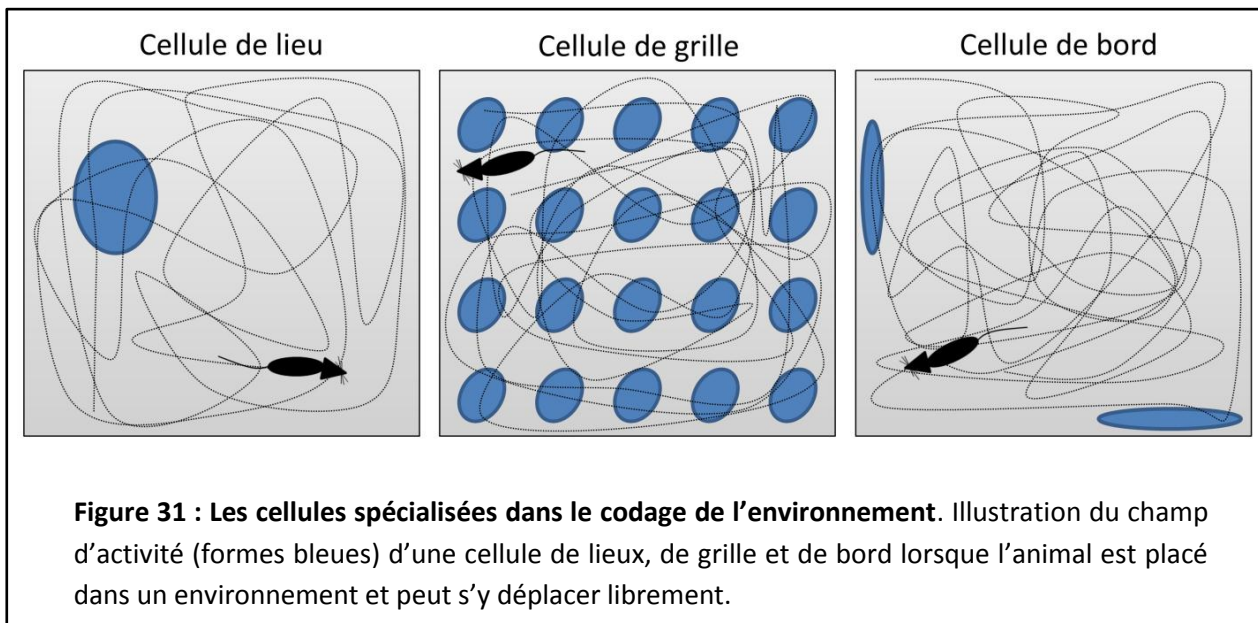
2.2. Hippocampe et mémoires déclaratives

2.2.1. Rôle de l'hippocampe dans le codage neuronal de l'environnement

L'hippocampe joue un rôle crucial dans la mémoire spatiale, chez l'Homme (Kahana et al. 1999 ; Ekstrom et al. 2005) comme chez l'animal (Moser et coll., 2008 ; Lech et Suchan 2013 ; Aggleton 2014).

Dans une tâche aquatique virtuelle basée sur le célèbre test aquatique de la piscine de Morris utilisé chez le Rongeur, Astur et collaborateurs ont mis en évidence (2002) que des patients souffrant de lésions du lobe temporal médian (quel que soit le côté altéré) présentent des problèmes lors de l'acquisition mais également lors du rappel de ce type de tâche. L'expérience la plus célèbre est sans nul doute celle de Maguire et collaborateurs (2000 et Maguire et coll., 2003). Ils ont étudié la taille de l'hippocampe de chauffeurs de taxis Londoniens, plus ou moins expérimentés, par IRM. Ils ont mis en évidence qu'un chauffeur très expérimenté possède un hippocampe d'une taille plus importante qu'un chauffeur novice. Ainsi, les auteurs ont trouvé une corrélation entre le nombre d'années d'expérience professionnelle et le volume de l'hippocampe droit, mettant en évidence le rôle prépondérant de cette structure dans la navigation et la mémoire spatiale. Aussi, les patients amnésiques atteints de lésions hippocampiques présentent également des troubles dans les tâches de mémoire spatiale (Kessels et coll., 2001).

Si l'hippocampe est crucial dans le fonctionnement la mémoire spatiale, c'est notamment en raison de la présence de cellules spécialisées dans le codage neuronal de l'environnement au sein des lobes temporaux médians (*cf.* Figure 31).



Les cellules de lieux

O'Keefe et Dostrovsky (1971) ont découvert des cellules hippocampiques présentant un schéma d'activité bien spécifique chez le Rat. Lors de l'exploration libre d'un environnement, certaines cellules (mais pas toutes) présentent une activité neuronale liée uniquement à l'emplacement de l'animal dans l'espace (quelle que soit la trajectoire empruntée par l'animal pour y accéder). Ces auteurs venaient de découvrir les « **cellules de lieux** », c'est-à-dire des neurones qui codent pour un endroit en particulier de l'espace (*cf.* Figure 31). Des cellules présentant les mêmes propriétés ont également été observées chez l'Homme (Ekstrom et coll., 2003). Le champ d'activité de ces cellules de lieux (c'est-à-dire la partie de l'environnement dans laquelle la cellule décharge le plus) présente des caractéristiques spécifiques. Il peut être de formes variables, diffère d'une cellule de lieu à l'autre, est formé rapidement (quelques minutes) mais peut rester stable pendant des semaines tout en présentant une flexibilité importante en cas de modifications environnementales (Moser et coll., 2008).

Les cellules d'orientation de la tête

La région hippocampe contient d'autres types de cellules permettant de coder l'environnement parmi lesquelles les **cellules d'orientation de la tête**. C'est ce que Ranck (1985) a découvert dans le présubiculum dorsal (publication en 1990 : Taube et coll.). Ces

neurones présentent une activité électrophysiologique qui dépend de l'orientation de la tête de l'animal et non de sa position dans l'espace. Ces cellules joueraient le rôle de boussole.

Les cellules de grille (grid cells)

En 2005, Hafting et collaborateurs font la découverte de cellules qui s'activent régulièrement, sur plusieurs points dans l'espace, formant une grille, un maillage de l'environnement (*cf.* Figure 31).

Les cellules de bordure

Solstad et collaborateurs (2008) ont caractérisé les cellules de bord dans le cortex entorhinal. Ces cellules présentent une activité spécifique lorsque l'animal est à proximité d'un mur, d'une limite de l'environnement (*cf.* Figure 31).

Toutes ces cellules, dont le schéma d'activité est directement dépendant de l'environnement ou de la position de la tête de l'animal dans celui-ci, sont considérées comme le substrat neuronal de l'encodage d'une représentation allocentrée de l'espace (Moser et coll., 2008).

2.2.2. Rôle de l'hippocampe dans les mémoires épisodique et sémantique

Bien que ces travaux aient été négligés jusqu'à ceux réalisés sur le patient Henry Molaison, Van Bectherew proposa dès 1900, suite à l'observation d'un patient devenu amnésique après une lésion bilatérale affectant la formation hippocampe, que l'intégrité fonctionnelle des lobes temporaux est essentielle à la mémoire.

Depuis l'étude du patient H.M., le rôle de l'hippocampe dans les processus mnésiques a fait l'objet de très nombreuses études. En 2001, Spiers et collaborateurs montrent que l'atteinte bilatérale de la formation hippocampique entraîne chez l'Homme une amnésie antérograde sévère, accompagnée d'une amnésie rétrograde temporellement graduée (oubli des souvenirs personnels encodés avant l'atteinte hippocampique) de la mémoire épisodique. A noter que la sévérité de ces atteintes est variable d'un individu à l'autre. Pour Henry Molaison, l'amnésie s'étendait sur une période de 11 ans environ (Sagar et coll., 1985). Ce que nous révèle ce gradient temporel est crucial : il indique que les lobes

temporaux médians ne sont impliqués que sur une certaine période de temps dans le stockage et le rappel de souvenirs sémantiques. Il apparaît que la région hippocampique est par contre primordiale au bon fonctionnement des processus de mémorisation et de rappel d'un souvenir épisodique chez l'Homme, quel que soit son âge, ou tout du moins dans le cas de souvenirs inscrits dans un contexte spatio-temporel détaillé (Spiers et coll., 2001 ; Squire et coll., 2004).

L'hippocampe, et plus généralement le lobe temporal, a pendant longtemps été associé à la mémoire déclarative, sans qu'aucune distinction ne soit faite entre la mémoire épisodique et celle sémantique (Tulving et Markowitsch, 1998). Une étude réalisée par Vargha-Khadem et collaborateurs (1997) sur trois jeunes patients souffrant d'une atteinte bilatérale restreinte à leurs hippocampes, est venue ébranler le socle fondamental du rôle de l'hippocampe dans les mémoires déclaratives. Ces trois patients souffrent d'amnésie antérograde des souvenirs épisodiques spécifiquement. C'est-à-dire qu'ils sont incapables de rappeler des événements personnellement vécus mais présentent pour autant une scolarité classique, des performances cognitives normales. Ces enfants sont donc capables d'acquérir et de consolider des connaissances abstraites et concrètes sur le monde qui les entoure mais aucun souvenir épisodique. Cette observation, associée à l'amnésie antérograde temporellement graduée observée lors de lésions hippocampiques, sont à l'origine des différentes théories de la consolidation systémique.

3. LA CONSOLIDATION MNESIQUE : DES SYNAPSES AUX SYSTEMES

3.1. Généralités

Le processus de mémorisation comporte donc plusieurs étapes, dont celle centrale qui est la consolidation. La mémorisation engendre la création de souvenirs qui définissent ce que nous sommes et modulent nos comportements futurs en fonction de nos expériences passées. Mais ces souvenirs ne se fixent pas de manière instantanée : ils sont soumis à un processus progressif visant à les stabiliser et à en assurer le stockage à long terme. Ce processus s'appelle la **consolidation mnésique** (Nadel et Hardt 2010 ; Nadel et coll., 2012). La trace mnésique initialement instable, labile, va passer à un état stable, durable. La consolidation mnésique comprend deux mécanismes distincts mais dont l'interdépendance est incontestable : la **consolidation synaptique**, qui prend place dans les premières minutes/heures et la **consolidation systémique**, qui est un processus dont le décours temporel est de l'ordre des jours, voire des mois ou des années chez l'Homme.

3.2. La consolidation synaptique

La consolidation synaptique a été décrite chez de nombreuses espèces comme permettant de moduler l'échange d'informations à l'échelle d'une synapse. Les synapses, qui représentent le point de jonction fonctionnel entre deux neurones, ne sont pas figées. Elles sont sujettes à une **plasticité** tant morphologique (changement de forme) que fonctionnelle : augmentation du nombre de récepteurs, libération plus importante de vésicules (contenant les neurotransmetteurs) (Milner et coll., 1998 ; Dudai 2004 ; Redondo et Morris, 2011). Il y a trois types de plasticité, on parle respectivement de plasticité à court terme, plasticité à long terme précoce et plasticité à long terme tardive en fonction du fait que l'activité soit modifiée pendant quelques minutes, quelques heures, plus de 10 heures (durée habituelle des expérimentations sur la plasticité chez l'animal). Dans une revue de 2012, Clopath précise néanmoins que la plasticité à long terme tardive peut très probablement perdurer des jours, voire des mois. La plasticité synaptique peut entraîner une facilitation des échanges entre les éléments pré- et post-synaptiques : on parle alors de **potentialisation à long terme** (PLT). Mais elle peut également entraîner une désensibilisation amenant à une diminution des échanges entre ces deux éléments, phénomène appelé **dépression à long terme** (DLT). La DLT est un processus permettant

d'affaiblir de manière sélective des synapses spécifiques afin de faire un usage constructif des renforcements synaptiques provoqués par la PLT. Autrement dit, la DLT est nécessaire au maintien de la capacité d'encodage : si les synapses ne pouvaient qu'augmenter leur force de connexion, elles finiraient par atteindre un niveau plafond en termes d'efficacité, ce qui pourrait faire obstacle à l'encodage de nouvelles informations. On peut ainsi considérer la dépression à long terme (DLT) comme un mécanisme complémentaire de la potentialisation à long terme (PLT).

La mise en place de la **plasticité synaptique à court terme** est dépendante des récepteurs AMPA et NMDA, mais également de la CaMKII (*Ca²⁺/calmoduline-dependent protein kinase II*). A l'état basal, le récepteur NMDA est bloqué par un ion magnésium, il ne laisse pas entrer d'ions calcium. L'entrée du calcium *via* les récepteurs AMPA favorise la libération de l'ion magnésium qui bloque les récepteur NMDA. Les récepteur NMDA ainsi « ouverts » laissent entrer une quantité importante de calcium, ce qui entraîne une augmentation de l'activité de l'élément post-synaptique. L'entrée de calcium permet également l'activation de kinases dont l'activité est dépendante de la quantité de calcium présente dans le milieu intracellulaire. C'est le cas de la calmoduline qui se lie au calcium pour former un complexe protéique exprimant une activité kinase (phosphorylation). La CaMKII est impliquée dans les processus de plasticité à court terme, puisqu'elle permet de moduler la quantité de récepteurs AMPA et NMDA présents sur l'élément post-synaptique en favorisant leur adressage membranaire (Wang et coll., 2006). Il n'est pas question ici de la synthèse de nouvelles protéines mais de modulations de l'activité synaptique à partir de composants intracellulaires et membranaires d'ores et déjà présents au niveau des terminaisons pré- et post-synaptiques (*cf.* Figure 32).

En ce qui concerne la DLT, une même stimulation de l'élément pré-synaptique entraîne de moins en moins de réponse de l'élément post-synaptique (Bear et Malenka, 1994 ; Malenka et Bear, 2004). La DLT dépend de l'activité de phosphatases responsables de la déphosphorylation des sous-unités GluR1 et GluR2 du récepteur AMPA (au niveau de différents résidus sérine, comme le Ser 831 et la Ser845 de GluR1 et la Ser 880 de GluR2), et dont le résultat est l'internalisation des récepteurs AMPA au niveau de l'élément post-synaptique (Hu et coll., 2007 ; Forrest et coll., 2011). La DLT est également dépendante des récepteurs NMDA dans la région CA1 de l'hippocampe, puisque leur blocage (par du MK-

801) inhibe l'activation de la MAPK p38 et la déphosphorylation des sous-unités du récepteur AMPA (Babiec et coll., 2014 ; Keenedy, 2013). La DLT est aussi importante que la PLT dans les processus de mémorisation, puisque son altération entraîne des troubles de consolidation dans un paradigme de conditionnement de peur (Liu et coll., 2014).

La consolidation synaptique permet donc de moduler l'échange d'informations à l'échelle d'une synapse, soit en facilitant cet échange soit en le diminuant.

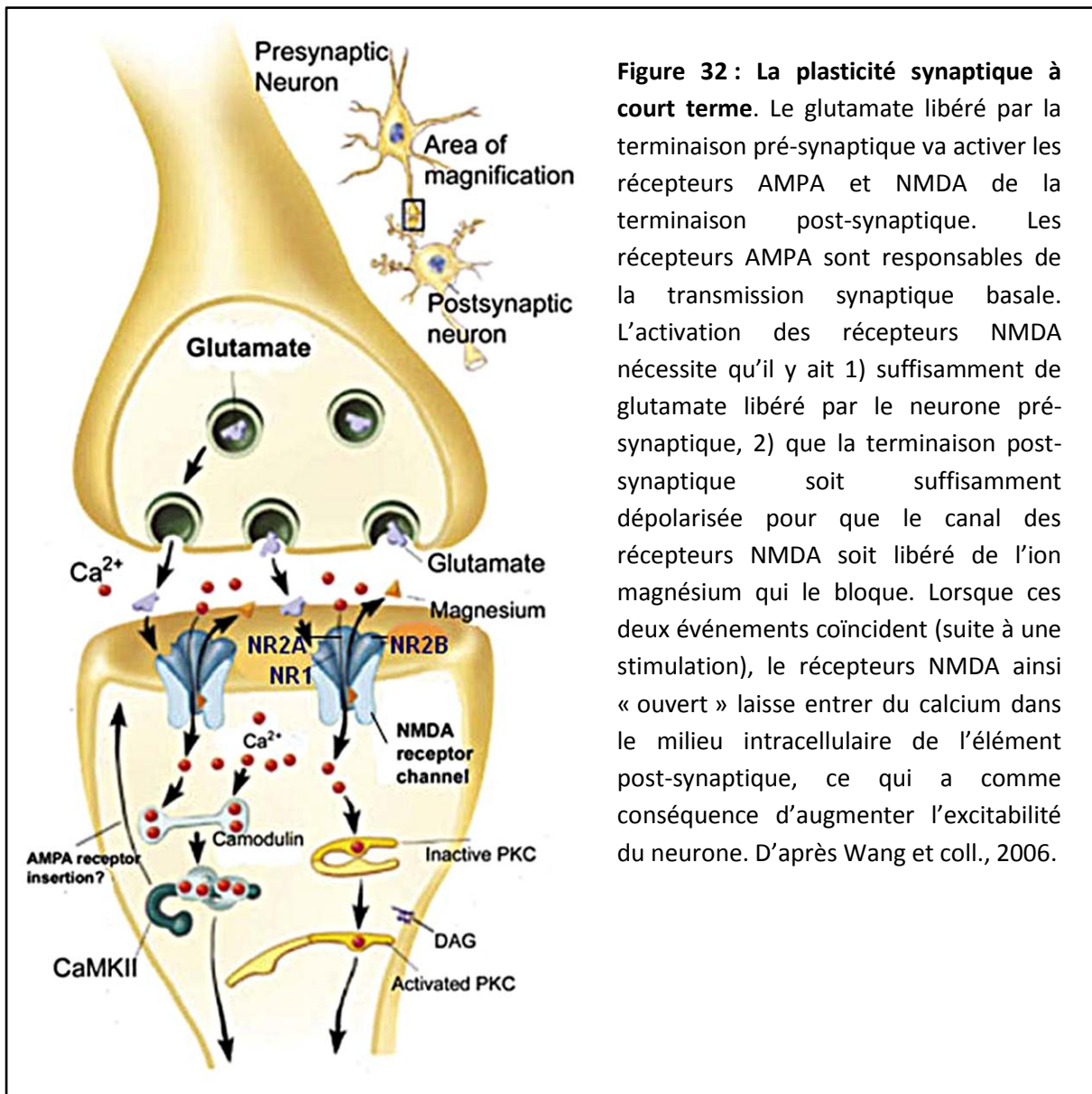


Figure 32 : La plasticité synaptique à court terme. Le glutamate libéré par la terminaison pré-synaptique va activer les récepteurs AMPA et NMDA de la terminaison post-synaptique. Les récepteurs AMPA sont responsables de la transmission synaptique basale. L'activation des récepteurs NMDA nécessite qu'il y ait 1) suffisamment de glutamate libéré par le neurone pré-synaptique, 2) que la terminaison post-synaptique soit suffisamment dépolarisée pour que le canal des récepteurs NMDA soit libéré de l'ion magnésium qui le bloque. Lorsque ces deux événements coïncident (suite à une stimulation), le récepteurs NMDA ainsi « ouvert » laisse entrer du calcium dans le milieu intracellulaire de l'élément post-synaptique, ce qui a comme conséquence d'augmenter l'excitabilité du neurone. D'après Wang et coll., 2006.

3.2.1. *Plasticité synaptique et mémoire*

La plasticité synaptique est le processus physiologique, à l'échelle de la synapse, responsable de l'acquisition et de la consolidation d'une mémoire. C'est ce que Nabavi et collaborateurs (2014) ont montré avec élégance. En utilisant une approche d'optogénétique (modulation de l'activité des neurones par l'intégration de canaux ioniques dont l'ouverture est dépendante de l'application d'une stimulation lumineuse), ces auteurs ont mimé la stimulation synaptique à l'origine de la PLT ou de la LTD qui s'opère lors d'un conditionnement de peur au son. Ce type de conditionnement est dépendant du noyau cochléaire (détection du signal auditif), du cortex auditif (intégration du signal auditif) et de l'amygdale latérale (association au choc). Après avoir soumis des rats jeunes adultes à un conditionnement de peur au son (un son est présenté et associé à un choc électrique délivré dans les pattes de l'animal), les auteurs ont mimé les mécanismes de PLT ou de LTD qui s'opèrent dans l'amygdale. Ils ont ainsi stimulé cette structure en appliquant deux types de stimulations capables de sensibiliser ou de désensibiliser les connexions des neurones de manière artificielle (5 applications de stimulation à 100 Hz pour la PLT, ou une stimulation continue à 1 Hz pendant 15 minutes pour la LTD). Lorsque les auteurs ont appliqué la stimulation mimant la LTD, les animaux ne présentent plus aucune peur au son, indiquant l'oubli du conditionnement. Lorsqu'ensuite, les auteurs réalisent 5 stimulations successives de 100 Hz (mime de la PLT), les animaux présentent à nouveau la peur au son. Ces travaux indiquent que la LTD et la PLT sont directement associées à la mémoire puisqu'en les modulant, il est possible d'altérer ou de rétablir les performances mnésiques.

Pour conclure, la plasticité synaptique est la base des processus de mémorisation et repose sur la transcription de gènes. Lors d'une stimulation importante de l'élément pré-synaptique sur l'élément post-synaptique, une relation privilégiée, sous-tendue par la mise en place de nouveaux récepteurs, se met en place pour améliorer les connexions entre ces deux éléments. La synapse est alors modifiée, remodelée. Cette plasticité, qui peut également avoir lieu à l'échelle de réseaux neuronaux entiers, est considérée comme le support de la mémoire à long-terme (récente) (Frankland et coll., 2001 ; Clopath 2012).

3.2.2. De la consolidation synaptique à l'expression des gènes

La **plasticité synaptique à long terme précoce** est dépendante de l'expression des gènes immédiats, comme *c-Fos*, *Jun* ou *Zif268* (Plátenik et coll., 2000 ; Jones et coll., 2001 ; Miyamoto, 2006) et de facteurs de transcription comme CREB (*cAMP Response Element-binding Protein*) (Barco et coll., 2008). La plasticité synaptique à court terme permet l'adressage de récepteurs à la membrane, ce qui favorise l'entrée de calcium et permet l'activation de cascades intracellulaires. L'entrée calcique entraîne l'activation de kinase dépendante du niveau de calcium dont CaMKII, PKA ou la famille des MAPK (*Mitogen-Activated Protein Kinase*) (Plátenik et coll., 2000 ; Wang et coll., 2006). Ces kinases vont phosphoryler CREB qui va pouvoir se lier aux promoteurs des gènes immédiats *via* le domaine CRE (*cAMP Response Element*, cf. Figure 33), entraînant la synthèse de gènes immédiats comme *c-Fos*. La protéine *c-Fos* ainsi synthétisée va se lier à la protéine *c-Jun* (dont la synthèse n'est pas liée à l'activité neuronale), formant ainsi le complexe AP1 (*Activator Protein 1*). Ce complexe va se fixer sur les promoteurs de gènes (*via* le domaine TRE présent sur les promoteurs des gènes tardifs) et entraîner l'expression de gènes tardifs responsable de la synthèse de protéines *de novo* (cf. Figure 34). La résultante est la synthèse de protéines permettant la création de nouveaux récepteurs membranaires, voire la création de nouvelles épines dendritiques et, *in fine*, permettant la modulation de l'excitabilité synaptique à long terme (Plátenik et coll., 2000). Parmi les protéines synthétisées lors de **plasticité synaptique à long terme tardive**, on retrouve le **BDNF** (*Brain-Derived Neurotrophic Factor*). Le BDNF est un facteur neurotrophique ayant un rôle important dans la différenciation et la survie neuronale (Li et Keffer, 2009 ; Bekinschtein et coll., 2014), ainsi que dans le développement et la complexification de l'arborisation dendritique : des souris dont le niveau de BDNF a été réduit dans l'hippocampe (souris KO conditionnel *Bdnf*) présentent des nouveaux neurones ayant une arborisation dendritique moins complexe (Danzer et coll., 2002). Le BDNF intervient également dans la plasticité synaptique à long terme (précoce comme tardive) et module de ce fait la persistance de la mémoire. C'est ce que Bekinschtein et collaborateurs (2007 et 2008) ont montré en utilisant une tâche mnésique ne nécessitant qu'un seul essai d'acquisition : le paradigme d'évitement passif. Les animaux sont placés dans une boîte comprenant deux compartiments, l'un clair et l'autre obscur. De manière intuitive, l'animal va se diriger vers le compartiment obscur. Il

lui sera alors administré un choc électrique dans les pattes. Si l'animal se souvient de cet apprentissage, lorsqu'il sera remis dans le compartiment clair de la boîte, il y restera et inhibera sa tendance naturelle à préférer les endroits sombres. 12 heures après l'apprentissage, les animaux reçoivent une instillation intra-hippocampique d'un inhibiteur de la synthèse protéique, l'anisomycine, empêchant ainsi l'augmentation de la synthèse de BDNF normalement observée. Suite à cette instillation, les animaux sont déficitaires lors d'un rappel réalisé 7 jours après l'acquisition (apprentissage dépendant de la mise en place d'une plasticité synaptique à long terme) alors qu'ils ne présentent aucun trouble lors du rappel à 2 jours. Afin d'étudier le rôle du BDNF dans la plasticité synaptique à long terme, les auteurs instillent du BDNF (BDNF recombinant humain) dans l'hippocampe 15 minutes après l'administration d'anisomycine, et testent les animaux 7 jours après l'acquisition de la tâche. L'instillation de BDNF a alors permis de rétablir le rappel à 7 jours. Ces résultats indiquent que l'augmentation de BDNF suite à l'apprentissage est nécessaire aux mécanismes de plasticité synaptique à long terme (notamment via la voie intracellulaire de ERK) qui sous-tendent la consolidation et la persistance d'une mémoire (Bekinschtein et coll., 2007,2008).

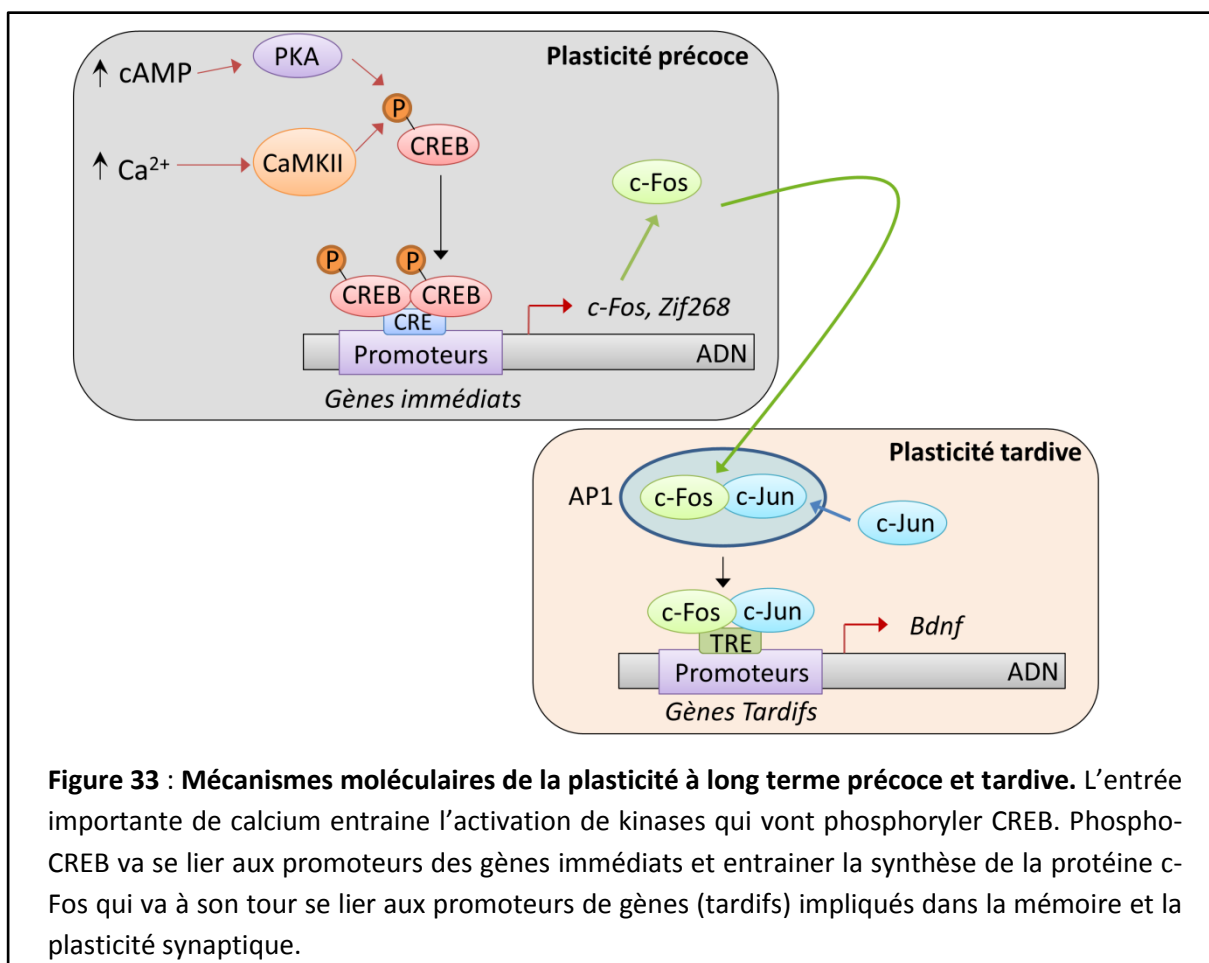


Figure 33 : Mécanismes moléculaires de la plasticité à long terme précoce et tardive. L'entrée importante de calcium entraîne l'activation de kinases qui vont phosphoryler CREB. Phospho-CREB va se lier aux promoteurs des gènes immédiats et entraîner la synthèse de la protéine *c-Fos* qui va à son tour se lier aux promoteurs de gènes (tardifs) impliqués dans la mémoire et la plasticité synaptique.

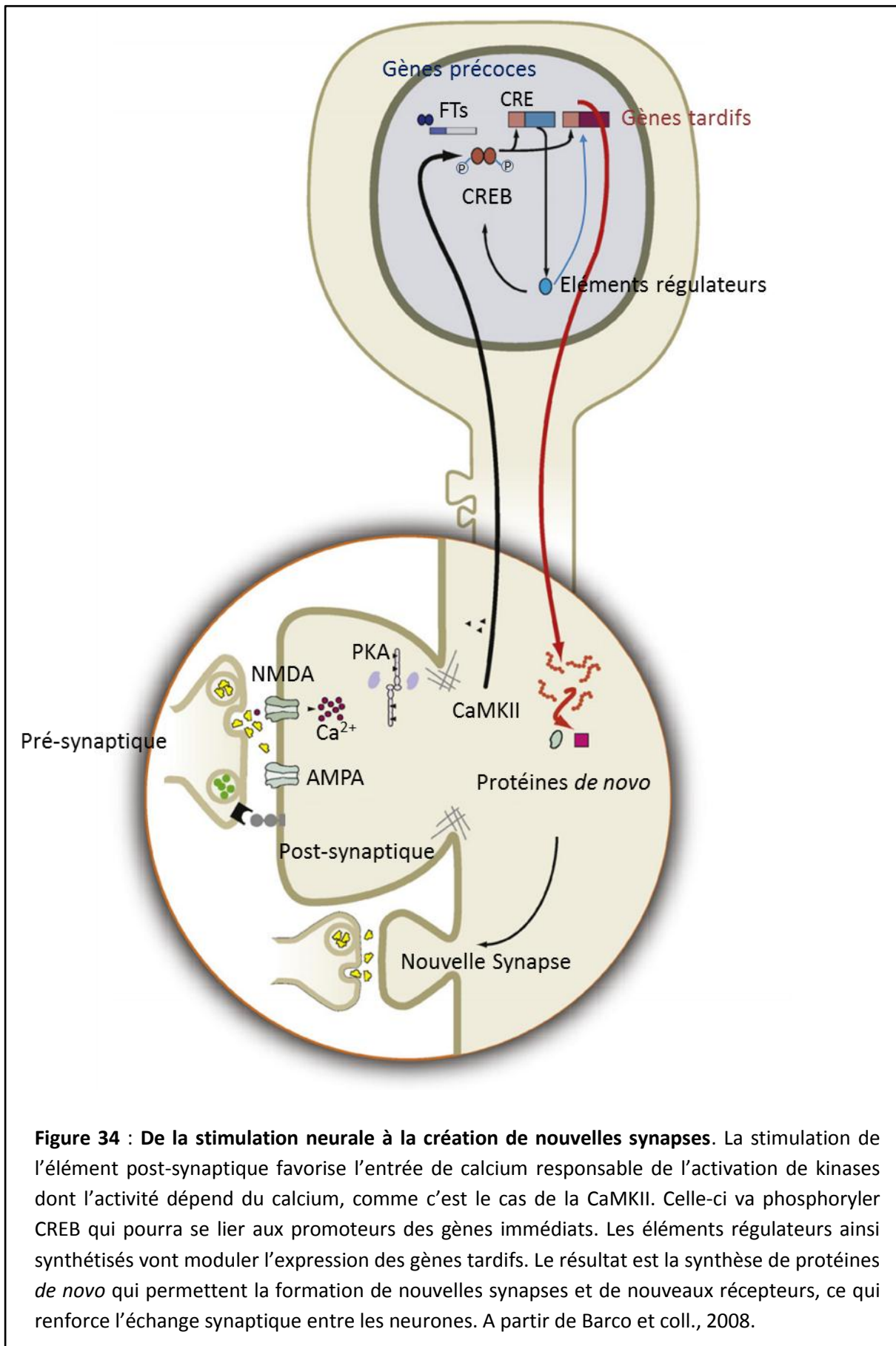


Figure 34 : De la stimulation neurale à la création de nouvelles synapses. La stimulation de l'élément post-synaptique favorise l'entrée de calcium responsable de l'activation de kinases dont l'activité dépend du calcium, comme c'est le cas de la CaMKII. Celle-ci va phosphoryler CREB qui pourra se lier aux promoteurs des gènes immédiats. Les éléments régulateurs ainsi synthétisés vont moduler l'expression des gènes tardifs. Le résultat est la synthèse de protéines *de novo* qui permettent la formation de nouvelles synapses et de nouveaux récepteurs, ce qui renforce l'échange synaptique entre les neurones. A partir de Barco et coll., 2008.

3.2.3. Les bases moléculaires de la mémoire

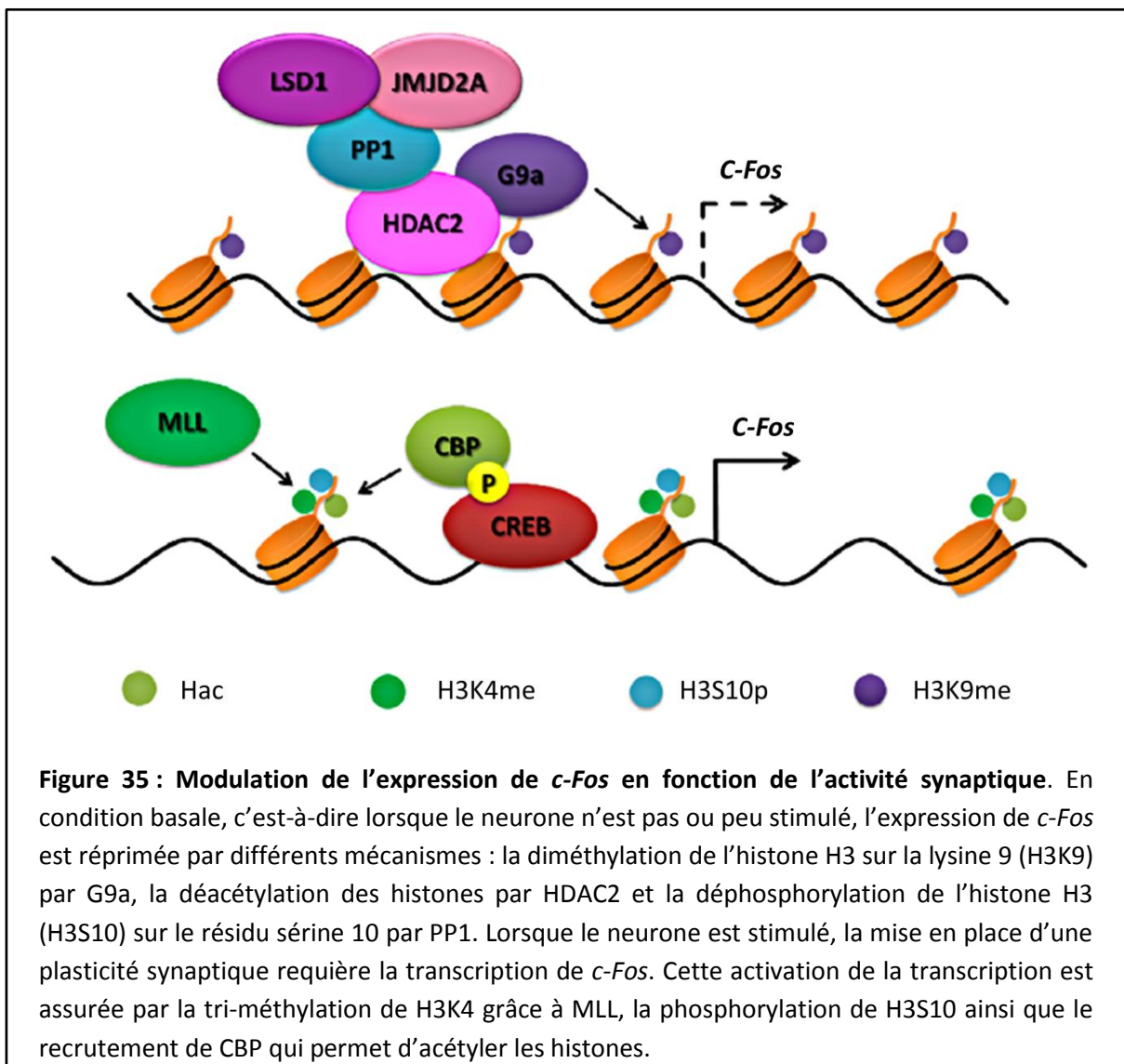
Le facteur de transcription **CREB**, caractérisé par sa localisation nucléaire, module la transcription des gènes dépendants de l'AMPc (Adénosine monophosphate cyclique) (Bito et coll., 1996) *via* sa fixation au site CRE. Si CREB est capable de moduler la plasticité synaptique, c'est notamment parce que son activation dépend de sa phosphorylation, phosphorylation assurée par les kinases, et ainsi dépendante du niveau d'activité du neurone et donc de la plasticité synaptique à court terme. La forme phosphorylée, donc active, de CREB est associée à la mise en place de la plasticité à long terme et de sa maintenance (Barco et coll., 2002). CREB est aussi largement impliqué dans la mise en place et le maintien à long terme d'une trace mnésique et dans la synthèse de protéines nécessaires à ces processus (Kim et coll., 2013 ; Kida et Serita, 2014).

Le facteur de transcription **NF- κ B** (*Nuclear Factor kappa B*), initialement connu pour son rôle dans le système immunitaire (transcription de gènes en réponse au processus d'inflammation, Li et Starck, 2002), est maintenant reconnu comme participant au processus de mémorisation. Il est capable de moduler la transcription de gènes en lien avec la plasticité synaptique (Salles et coll., 2014).

3.2.4. Plasticité synaptique et modifications épigénétiques

Les modifications épigénétiques sont capables de moduler l'expression des gènes mais sans en modifier la séquence. Elles sont régulées par des enzymes spécifiques. Ces mécanismes sont détaillés dans le chapitre 3 qui est consacré aux modifications épigénétiques et à leurs implications dans la mémoire. Schématiquement, une fois activé, CREB déclenche le recrutement de complexes protéiques tel que CBP (*CREB Binding Protein*). CBP est un cofacteur ayant une activité endogène d'histone acétyltransférase. Il est donc susceptible d'acétyler les histones, entraînant un relâchement entre le brin d'ADN et les histones, favorisant de ce fait la transcription des gènes tels que le *Bdnf* ou *c-Fos* (cf. Figure 35). CBP joue un rôle crucial dans le maintien de la plasticité. En effet, la délétion partielle ou totale (souris transgéniques) de CBP entraîne des troubles de mise en place mais surtout du maintien de la PLT (Alarcón et coll., 2004 ; Wood et coll., 2006). Les processus de consolidation synaptique, nécessaires à la stabilisation d'une connexion entre deux

neurones, sont impliqués dans le stockage à long terme d'une information. Ces processus de consolidation requièrent la levée de la répression (au niveau des gènes impliqués dans la mise en place d'une mémoire) et l'activation de la transcription de gènes impliqués dans la mémoire comme *Creb*, *c-Fos* ou encore *Zif268*. Le recrutement de CBP, à la fois comme coactivateur de CREB mais aussi comme histone acétyltransférase et donc responsable de l'acétylation des histones, est un mécanisme crucial pour la mise en place d'une plasticité synaptique à long terme (tardive) (Korzus et coll., 2004).



3.3. La consolidation systémique

Là où la consolidation synaptique permet d'améliorer les connexions entre deux neurones pendant quelques heures, la consolidation systémique met des jours, des mois voire des années à se mettre en place et module les connexions à l'échelle des structures.

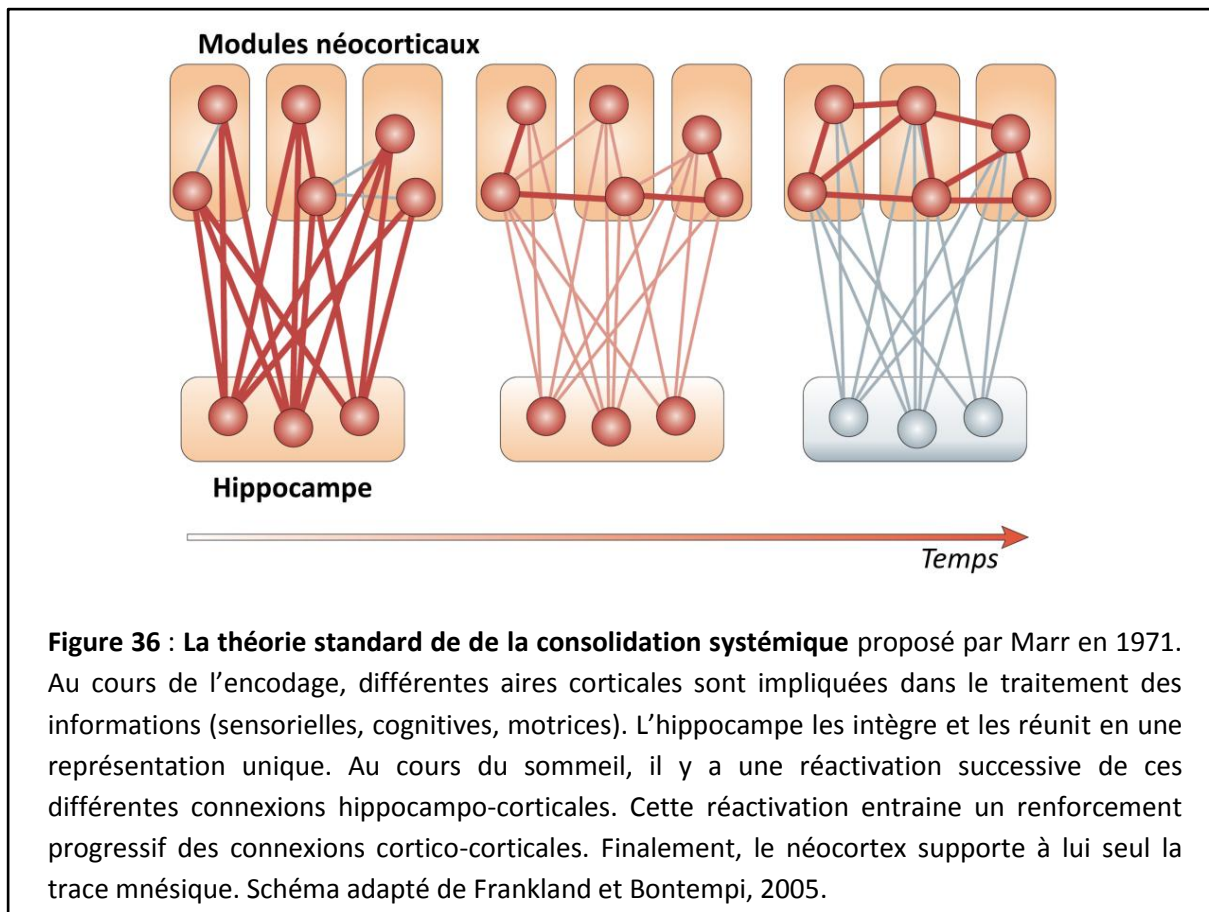
3.3.1. L'émergence du concept de consolidation systémique

En 1882, Ribot décrit que l'avènement d'un événement traumatique (comme un accident) peut entraîner une amnésie des heures précédentes. On parle d'amnésie rétrograde. Chez certains patients souffrant de lésions du lobe temporal médian, cette amnésie peut s'étendre sur plusieurs années, tout en laissant les souvenirs les plus anciens intacts. De ces observations découlent la **loi de Ribot**, qui définit l'existence d'un gradient temporel au sein de l'amnésie rétrograde. Le cas de H.M. (Scoville et Milner, 1957), ainsi que les examens neuropsychologiques menés sur d'autres patients amnésiques par la suite, ont confirmé l'existence de ce gradient temporel (Squire et al. 1975 ; Kapur et Brooks, 1999). Il y aurait donc une réorganisation de la trace mnésique au cours du temps, réorganisation au cours de laquelle l'hippocampe ne jouerait qu'un rôle transitoire. Différentes théories ont vu le jour et proposé des modèles de la consolidation systémique. Je ne développerai que trois d'entre elles dans cette thèse : la théorie standard, la théorie des traces multiples et la théorie de la transformation.

3.3.2. La théorie standard de la consolidation systémique (Marr, 1971)

Marr, en 1970, est le premier à suggérer que l'hippocampe joue un rôle temporaire dans le maintien et la récupération d'une information (Marr 1970, 1971). Les informations et événements personnellement vécus sont encodés et stockés temporairement dans l'hippocampe avant d'être catégorisés et stockés à long terme dans les aires néocorticales (*cf.* Figure 36). Il y aurait donc un transfert des informations de l'hippocampe vers le néocortex, transfert nécessaire au stockage à long terme de l'information.

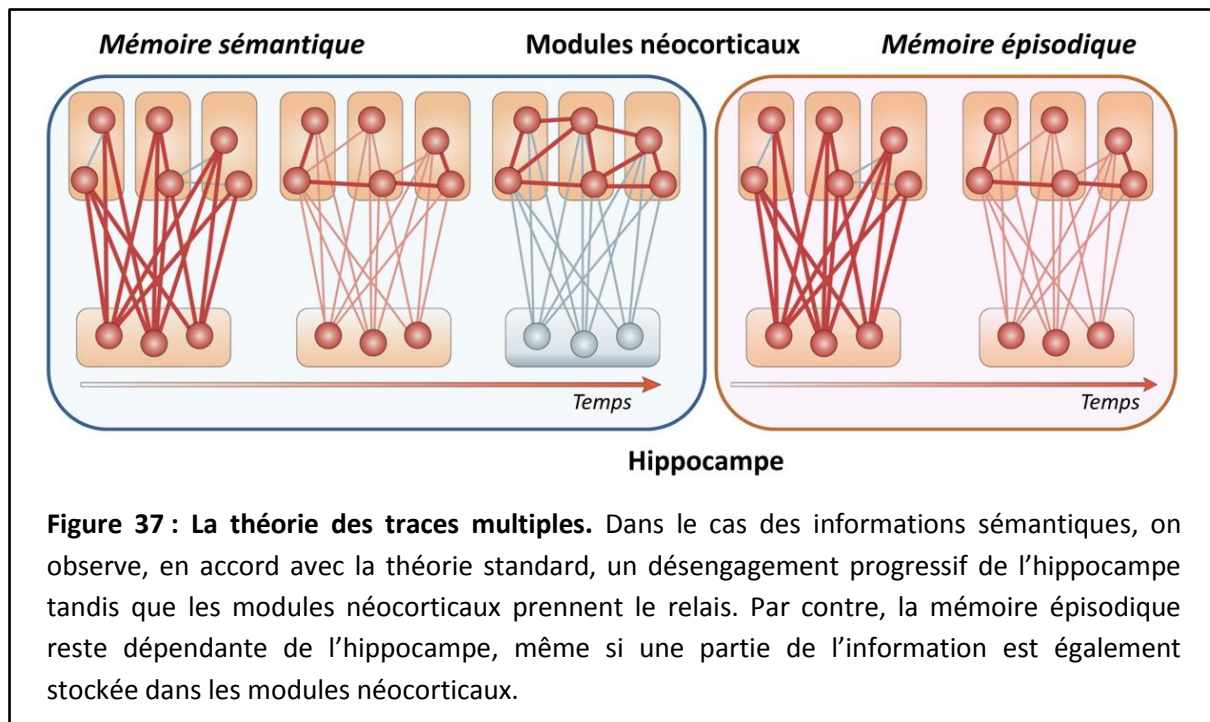
Il est intéressant de soulever ici que cette théorie est en accord avec ce qui est observé chez les patients Alzheimer au stade pré-déméntiel qui présentent des souvenirs anciens intacts mais une incapacité de se rappeler des souvenirs récents (Leyhe et coll., 2009 et 2010).



3.3.3. La théorie des traces multiples (Nadel et Moscovitch, 1997)

Il faudra attendre 1997 pour que Nadel et Moscovitch proposent une théorie alternative, la **théorie des traces multiples** (Nadel et Moscovitch, 1997). Cette théorie est née du constat que l'amnésie rétrograde n'est pas systématiquement temporellement gradué dans le cas des souvenirs épisodiques. Ainsi, les patients amnésiques semblent incapables de rappeler des souvenirs épisodiques quelques soit le temps écoulé entre l'événement en question et le traumatisme hippocampique. Selon ces auteurs, l'hippocampe est toujours nécessaire au maintien et à la récupération des souvenirs épisodiques qui sont donc éternellement dépendants de l'hippocampe. A l'inverse, les souvenirs sémantiques peuvent être stockés, à terme, de manière intégralement corticale et sous-corticale (cf. Figure 37). Le rappel de souvenirs épisodiques riches en détails contextuels est toujours dépendant de l'hippocampe (Maguire et Frith, 2003). Les données cliniques confortent cette seconde théorie. En effet, avec les avancées technologiques et la mise en place de méthodes d'analyse plus stricte, il s'avère que les patients amnésiques (tel que H.M.) présentent en réalité un déficit lors du rappel des souvenirs anciens. Les souvenirs concernant les informations générales restent

intacts, mais les souvenirs autobiographiques, riches en détails sont altérés quel que soit l'âge du souvenir.



3.3.4. La théorie de la transformation (Moscovitch et coll., 2005)

Moscovitch et ses collaborateurs (2005) ont proposé une alternative basée sur l'observation que les souvenirs deviennent généralement moins précis avec le temps. Selon cette théorie, les souvenirs se transforment au fil du temps, passant d'une représentation détaillée, contextuelle (épisodique) à une représentation plus schématique (sémantique). Cette dernière contient toujours l'essentiel du souvenir mais est dépourvue des informations contextuelles. Le processus de transformation permet donc de faire passer les éléments essentiels du souvenir en priorité sur les informations contextuelles. Tout souvenir serait initialement épisodique (lié au contexte d'acquisition) et donc dépendant de l'hippocampe, du moment que les détails contextuels lui sont rattachés. Avec le temps, ce souvenir se transforme en une représentation schématique, dépendante du néocortex et qui contient peu d'informations contextuelles. Cependant, cette transformation du souvenir est aussi dépendante de la saillance du contexte, des aspects émotionnels et de la profondeur de l'apprentissage (Moscovitch et al. 2005 ; Winocur et al. 2007, 2010). En accord avec la

théorie de la transformation, Conway (2009) a montré que les détails perceptuels qui caractérisent les souvenirs épisodiques sont perdus en quelques jours chez l'Homme.

3.3.5. Consolidation systémique et cortex frontal

Le rôle prépondérant du cortex frontal, et plus particulièrement du cortex préfrontal médian (CPFm) a été montré par Bontempi et collaborateurs (1999). En utilisant la méthode de l'autoradiographie au 2-désoxyglucose marqué au carbone 14, ces auteurs ont pu visualiser l'activité cérébrale chez la Souris, dans l'ensemble du parenchyme cérébral, lors de l'apprentissage d'une mémoire spatiale. Après que les souris aient été soumises à l'apprentissage d'une mémoire spatiale dans un labyrinthe radial à 8 bras, les auteurs ont testé leur capacité de rappel en mémoire récente (5 jours) ou ancienne (25 jours). Les auteurs ont constaté une baisse de l'activité métabolique dans l'hippocampe accompagnée d'une hausse dans le cortex frontal (CP) avec le temps (cf. Figure 38).

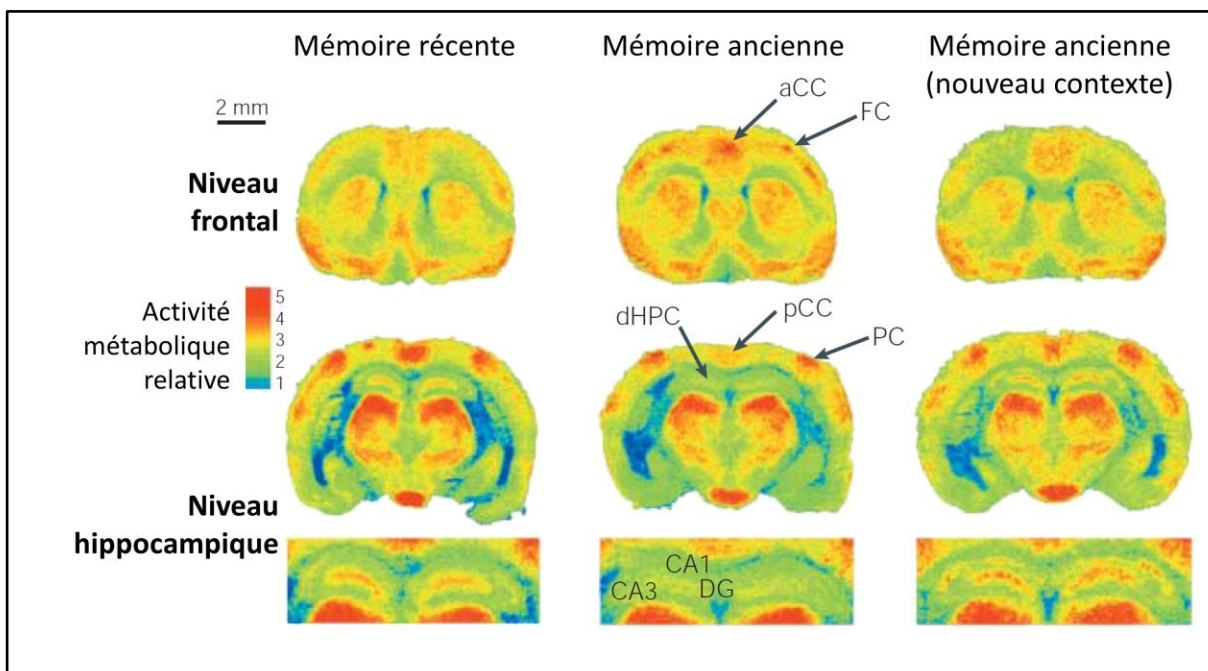
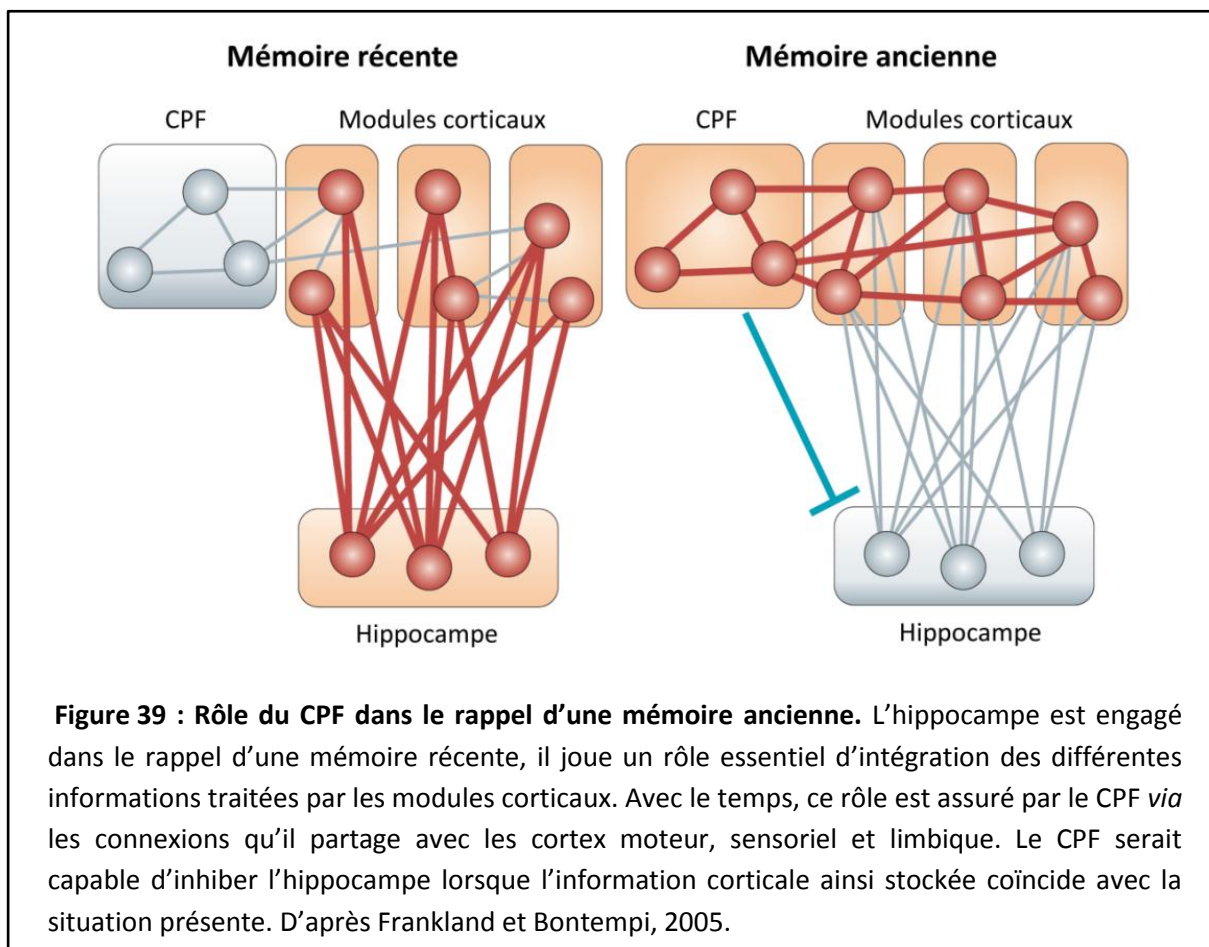


Figure 38 : L'activité corticale au cours du temps. Représentations des coupes coronales de cerveaux de souris, recolorées selon l'intensité de l'activité métabolique, lors du rappel d'une mémoire spatiale récente (gauche), ancienne (centre) ou ancienne mais dans un nouveau contexte (droite). Plus le temps passe, plus le rappel de la mémoire spatiale recrute le cortex frontal (FC) et le cortex cingulaire antérieur (aCC). Si la souris est placée dans un nouvel environnement, l'hippocampe dorsal est à nouveau recruté. D'après Frankland et Bontempi, 2005 et Frankland et coll., 2001.

Maviel et collaborateurs (2004) ont retrouvé des résultats similaires en observant l'expression de gènes précoces (*c-Fos* et *Zif268*). Ils ont par ailleurs réalisé une inactivation du CPF ou du cortex cingulaire antérieur par instillation de lidocaïne. Dans les deux cas, les souris sont incapables de rappeler le souvenir lorsqu'il est évalué à 30 jours mais ne présentent aucun trouble lors de l'évaluation à 1 jour. Ils ont également montré que l'hippocampe n'est pas seulement désengagé mais qu'il est même moins activé lors du rappel d'une mémoire ancienne que lors du rappel d'une mémoire récente. Il faudra attendre 2005 et la publication de Frankland et Bontempi dans *Nature*, pour que le rôle du CPF soit plus largement considéré et testé dans d'autres paradigmes expérimentaux (Lepage et coll., 2000 chez l'Homme). Frankland et Bontempi postulent que le CPF médian inhibe l'hippocampe lorsque l'information stockée au niveau cortical coïncide avec la situation en cours, et ce dans le but d'éviter l'encodage d'informations redondantes (cf. Figure 39).



4. MEMOIRE ET NEUROGENESE

La neurogenèse (NGS) adulte consiste en la genèse de nouveaux neurones dans le cerveau adulte. Bien que des cellules souches neuronales se retrouvent dans différentes zones corticales, la NGS adulte a principalement lieu dans deux niches, dites neurogéniques, la zone sub-ventriculaire (ZSV), qui est responsable de la genèse de nouveaux neurones destinés aux bulbes olfactifs et la zone sous granulaire (ZSG) du gyrus denté, qui assure la création de nouveaux neurones destinés à intégrer l'hippocampe (Zhao et coll., 2008).

4.1. La neurogenèse adulte

La neurogenèse adulte est modulée par **des facteurs internes et externes** qui contrôlent à la fois la prolifération mais également la maturation et l'intégration des neurones nouvellement formés dans les réseaux neuronaux existants (Varela-Nallar et coll., 2010). Bien qu'un jeune rat produise 9000 nouveaux neurones par jour, seuls 5% d'entre eux sont viables et seront intégrés dans les réseaux neuronaux existants (Mu et Gage 2011). Dans le cadre de cette thèse, nous nous sommes plus particulièrement intéressés à la NGS au sein de la ZSG. Les mécanismes de régulations et d'intégration des nouveaux neurones n'étant pas strictement les mêmes au sein des deux niches neurogéniques, les informations suivantes ne concernent que la NGS dans la ZSG.

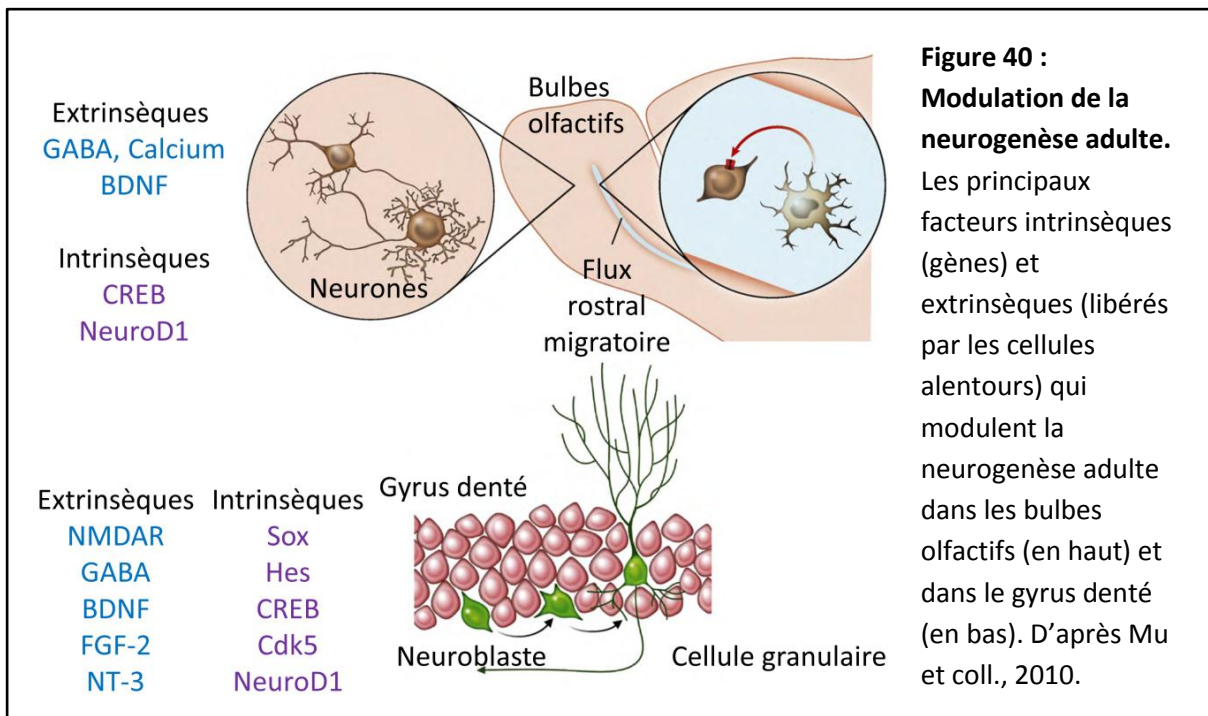
4.1.1. *Régulation de la neurogenèse*

La NGS adulte est un processus physiologique complexe dont la régulation fine implique plusieurs facteurs endogènes et exogènes (*cf.* Figure 40).

Régulation endogène

Différents facteurs de transcription interviennent dans la régulation endogène de la NGS. C'est le cas de Sox qui participe au maintien des caractéristiques indifférenciées des cellules souches et de leur capacité à s'autorenouveler (Ferri et coll., 2004). D'autres gènes contribuent à ce maintien à l'état pluripotent des cellules souches (comme *Hes*). Les CCR (*Cell Cycle Regulator*) dont les cyclines D et E sont les principaux intervenants dans le cadre de la NGS adulte. Ces cyclines sont présentes en grande quantité dans la ZSV (Heine et coll., 2004). De la survie à l'intégration neuronale, en passant par la maturation, CREB est

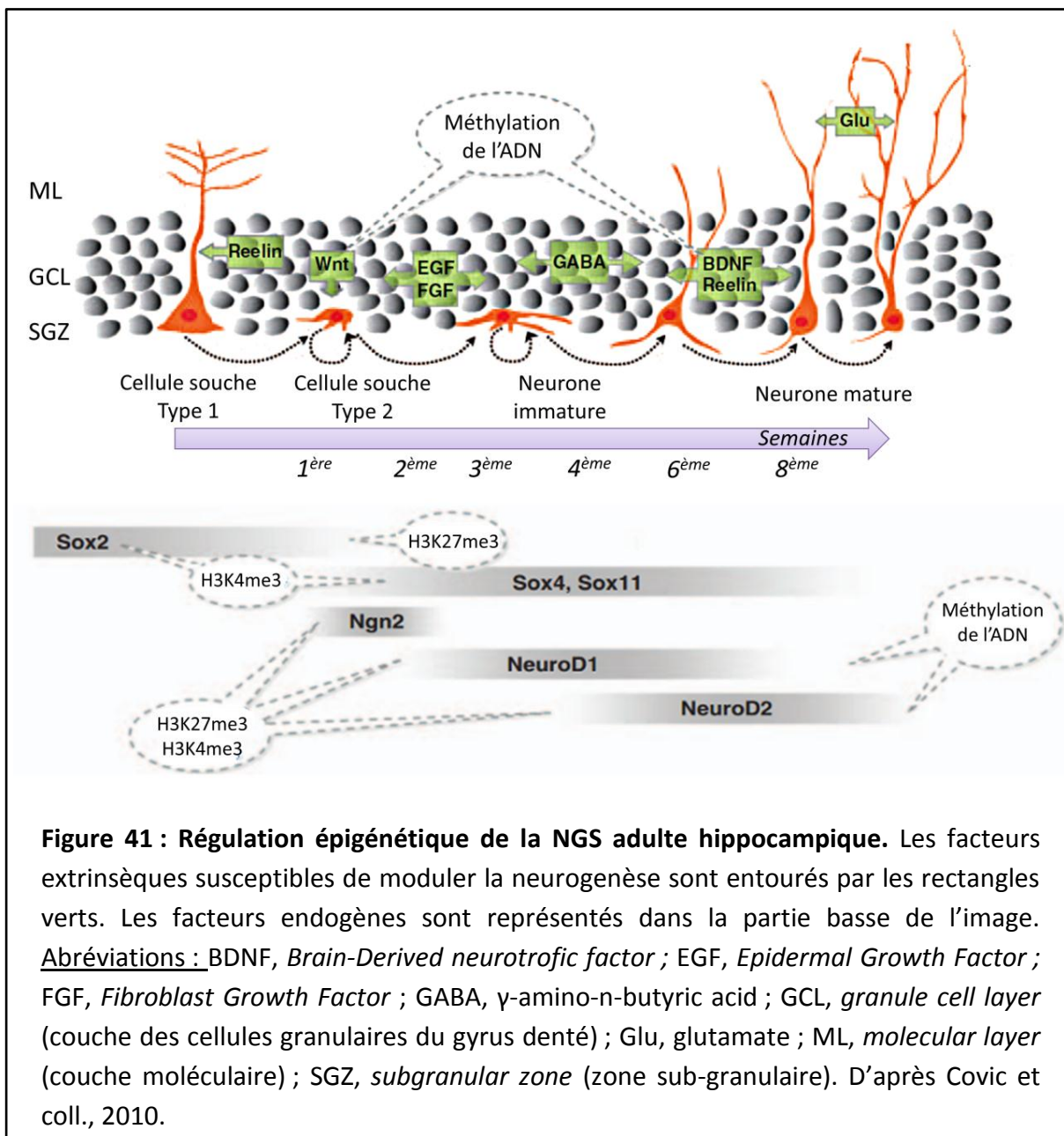
également impliqué dans le contrôle de ces étapes essentielles de la NGS adulte. Sa délétion entraîne des troubles marqués de la NGS (Merz et coll., 2011). *NeuroD1* et *NeuroD2* (*neuronal differentiation*) sont exprimés dans les neurones matures et si leur expression n'a pas lieu correctement, les neurones présentent une arborisation dendritique anormalement atrophiée (Schwab et coll., 2000).



Les modifications épigénétiques

La NGS adulte est modulée par une variété de stimuli environnementaux, physiologiques et pharmacologiques (Ma et coll., 2010). A l'interface des gènes et de l'environnement se trouve les modifications épigénétiques. Covic et collaborateurs (2010) montrent que la diminution de la NGS est associée à une hyperméthylation de l'ADN (cf. Figure 41). C'est le cas du BDNF, un facteur neurotrophique synthétisé par les neurones matures de la couche des cellules granulaires (GCL) du gyrus, permet de favoriser la croissance et l'intégration des nouveaux neurones denté (Binder et Scharfman, 2004 ; Scharfman, 2004 ; Li et Keffer, 2009). Une diminution de la NGS est associée à une hyperméthylation au niveau des promoteurs du *Bdnf*, ce qui expliquerait la diminution de son expression et donc une altération de la NGS (Covic et coll., 2010). Hsieh et Eisch (2010) ont montré que la neurogenèse est dépendante de l'acétylation et de la déacétylation de certains facteurs de transcription : lorsque la cellule nouvellement formée est au stade de

cellule souche neuronale, elle peut se différencier en neurone ou en cellule gliale. Ainsi, lors d'une stimulation environnementale, ces auteurs ont constaté que s'opère une levée de la répression de gènes impliqués dans la différenciation neuronale (dont *Notch* et *DLL1*), consécutive à l'augmentation de l'acétylation du résidu H3K14 sur leurs promoteurs, favorisant de ce fait la différenciation de la nouvelle cellule en neurone (Hsieh et Eisch, 2010).



Régulation exogène

Parmi les **facteurs exogènes**, on retrouve les **neurotransmetteurs**, principalement le glutamate et le GABA, ainsi que les systèmes de neurotransmission dopamine, sérotonine, acétylcholine. Pour que le nouveau neurone devienne fonctionnel et développe son arbre dendritique, il doit recevoir les stimulations glutamatergiques provenant du cortex entorhinal (Mu et coll., 2010).

Les **facteurs de croissance**, des molécules extracellulaires généralement sécrétées par les neurones alentours, modulent la prolifération et la survie des nouveaux neurones. C'est le cas de l'EGF (*Epidermal Growth Factor*), de l'IGF-1 (*Insulin Growth Factor*), du FGF (*Fibroblast Growth Factor*) ou encore de VEGF (*Vascular Endothelial Growth Factor*) qui sont capables d'augmenter la prolifération cellulaire. En leur absence, les nouveaux neurones sont atrophiés (Aberg et coll., 2000 ; Jin et coll., 2002 ; Schänzer et coll., 2004 ; Zhao et coll., 2007 ; Balu et Lucki, 2009).

Les **facteurs neurotrophiques** font également partie des facteurs exogènes jouant un rôle dans le développement et dans la maturation du système nerveux central chez l'adulte (Pencea et coll., 2001). Il existe plusieurs familles de facteurs neurotrophiques. La première regroupe les neurotrophines, qui activent les voies de signalisation intracellulaires *via* les récepteurs trk (*Tyrosine Kinase Receptor*) et p75. Cette famille comprend le BDNF (*Brain-Derived neurotrophic factor*), le NGF (*Nerve Growth Factor*) et les neurotrophines NT-3, NT-4 et NT-5. La deuxième famille, celle des cytokines neurotrophiques, regroupe les CNTF (*Ciliary NeuroTrophic Factor*) et les interleukines 6. En l'absence de ces facteurs neurotrophiques les nouveaux neurones ne survivent pas (Lee et coll., 2002 ; Scharfman et coll., 2005 ; Bekinstein et coll., 2014).

Enfin, la neurogenèse est influencée par d'autres facteurs, comme l'état de la matrice extracellulaire par exemple. Les éphrines (protéines de surface transmembranaires) sont impliquées dans la régulation de la migration, de la guidance axonale et la synaptogenèse. En leur absence, les prolongements axonaux n'atteindront pas leur cible et une désorganisation corticale est observée (Chumley et coll., 2007). Les hormones sont également susceptibles de moduler la NGS. L'exposition à un stress prénatal (contention de

souris C57bl6/J pendant la période de gestation, jours de gestation 12 à 20) entraîne une diminution très importante de la NGS adulte hippocampique (Belnoue et coll., 2013).

4.1.2. Comment un nouveau neurone devient-il fonctionnel ?

Avant d'être intégré fonctionnellement, le nouveau neurone passe par différentes étapes (cf. Figure 42). La NGS est peut être divisée en deux phases principales : **la prolifération et la maturation**.

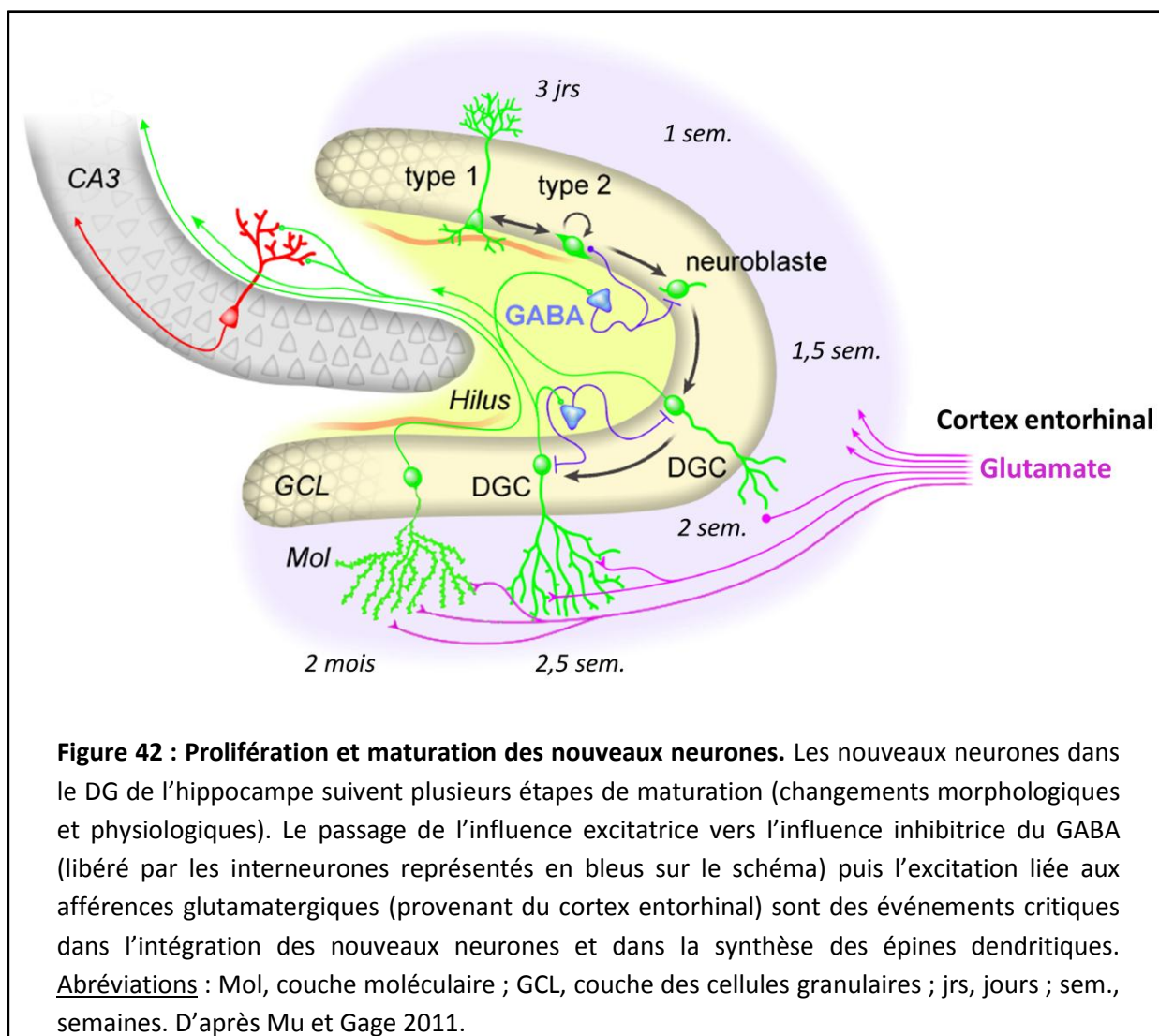
La prolifération (genèse d'un nouveau neurone)

Avant de devenir des neurones différenciés, les neurones en devenir sont des **cellules souches neuronales** (cellule de type I ou de type II selon qu'elle soit respectivement radiaire ou non radiaire). Afin d'assurer le maintien d'un pool de cellules souches, ces cellules suivent une division asymétrique (division cellulaire qui engendre au moins une cellule fille qui conserve les caractéristiques de cellule souche). Suite à cette division, il y aura donc une nouvelle cellule souche et un précurseur (aussi appelée **cellule progénitrice**). A ce moment du développement, les précurseurs neuronaux sont dépolarisés de manière tonique par le GABA ambiant libéré par les interneurones. Le GABA a une action dépolarisante en raison de l'immatunité du précurseur : ne possédant pas le cotransporteur NKCC1, le calcium s'accumule dans la cellule. En se fixant à ses récepteurs, le GABA entraîne ainsi une sortie du calcium et donc une dépolarisation. Les précurseurs se différencient ensuite en **neuroblastes** dans la semaine suivant leur genèse. Au stade de neuroblaste, la cellule est encore loin d'être fonctionnelle. Elle devra suivre de longues étapes de maturation puis d'intégration.

La maturation (différenciation et intégration dans les réseaux neuronaux existants)

Les premières extensions dendritiques (vers la couche moléculaire) et axonales (vers CA3) apparaissent au cours de la deuxième semaine. A ce stade du développement, les nouveaux neurones présentent une résistance membranaire et un potentiel de repos élevés, ce qui leurs confèrent une excitabilité importante. Certains auteurs pensent que c'est à ce moment précis que les nouveaux neurones sont intégrés dans les réseaux neuronaux existants, et que c'est pour cette raison qu'ils sont impliqués dans les processus mnésiques (Ming et Song, 2011). Au cours de la deuxième semaine, le GABA devient hyperpolarisant.

L'arrivée des premières afférences glutamatergiques en provenance du cortex entorhinal (par la voie perforante) est une étape critique pour le développement des premières épines dendritiques. Ces deux événements donnent lieu à une activité synaptique locale. L'intégration et la survie des nouveaux neurones dépendent du développement des récepteurs NMDA au cours de la troisième semaine. Les connexions sont maintenant établies tant au niveau dendritique (stimulation par la voie perforante) que axonal (formation des fibres moussues). Au cours du premier mois, les nouveaux neurones préservent une capacité d'excitabilité importante et possèdent des propriétés de plasticité dendritiques élevées. Ils commencent à former des connexions synaptiques fonctionnelles avec les cellules pyramidales de CA3 vers 7 semaines (Toni et coll., 2008). Il faudra attendre 2 mois pour que les nouveaux neurones ne soient plus différenciables des anciens tant physiologiquement que fonctionnellement (Mu et Gage 2011).



Pour conclure, la NGS est un processus long, comprenant plusieurs étapes de développement physiologique et fonctionnel. Les nouveaux neurones ne seront intégrés dans les réseaux fonctionnels qu'à condition qu'ils traversent chacune de ces étapes. L'hypersensibilité des nouveaux neurones au cours de leur développement leur permettent de s'intégrer dans les réseaux préexistants mais leur confèrent également une sensibilité accrue à l'excitotoxicité.

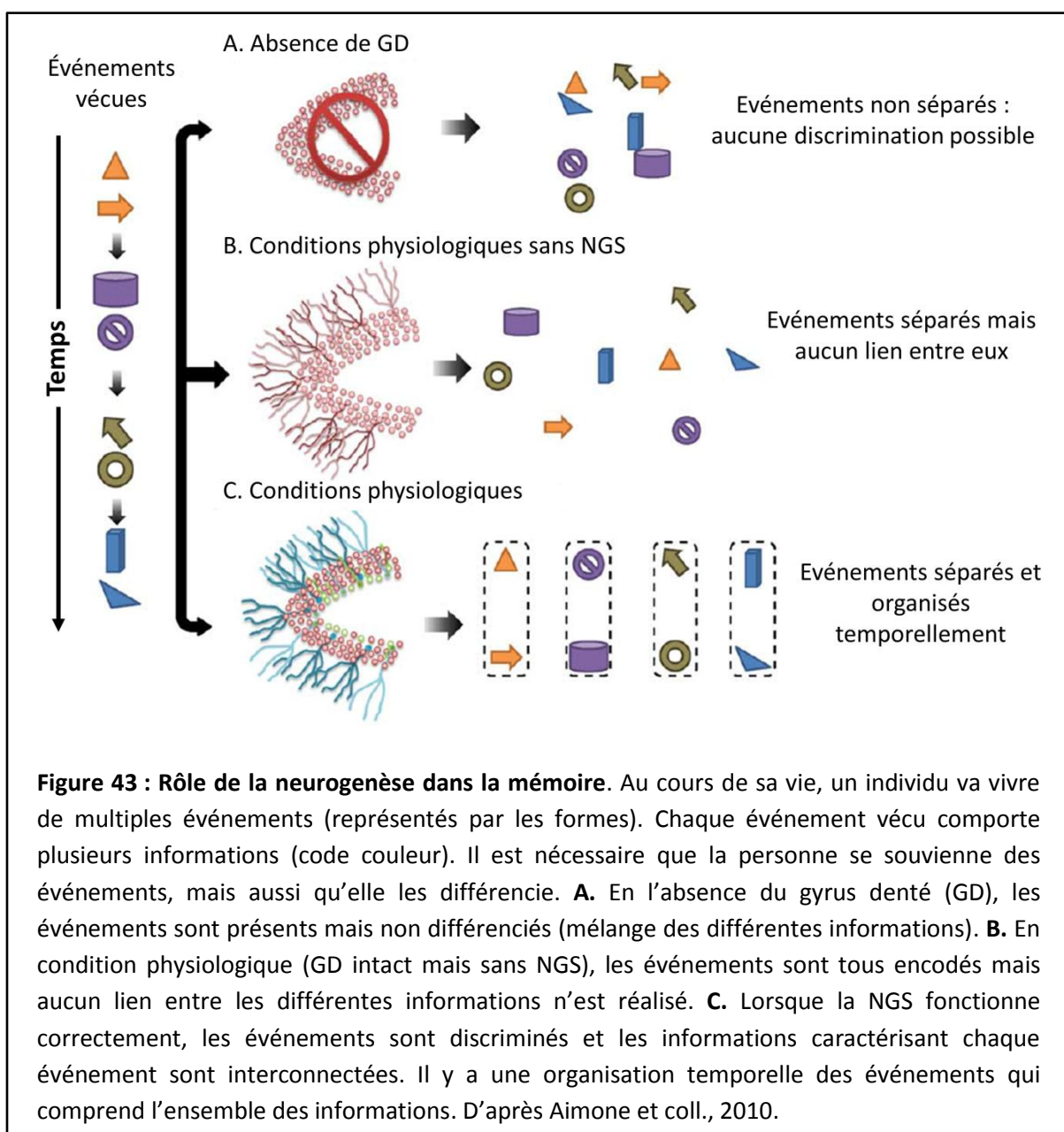
4.2. Rôles de la neurogenèse dans la mémoire

Le blocage pharmacologique de la NGS altère l'acquisition d'une mémoire spatiale s'il a lieu avant la phase d'acquisition, et altère le rappel de la trace mnésique lorsqu'il a lieu après l'acquisition (Fariolo-Vecchioli et coll., 2008). Arruda-Carvalho et collaborateurs (2011) ont mis en évidence que l'ablation des neurones nouvellement formés après l'acquisition des tâches dépendantes de l'hippocampe altère la consolidation et/ou le rappel de ces tâches (peur conditionnée au contexte et apprentissage spatial). La délétion de la NGS entraîne des troubles en mémoire spatiale à court et à long terme (Goodman et coll., 2010). L'ensemble de ces études montrent que les neurones nouvellement formés participent à l'acquisition et au rappel de mémoires dépendantes de l'hippocampe.

En 2009, Trouche et collaborateurs ont montré que lors d'un apprentissage spatial, les nouveaux neurones sont intégrés dans les réseaux neuronaux préexistants et qu'ils participent même au rappel de cet apprentissage. Plus le nouveau neurone est stimulé, plus il aura une chance de survivre (Trouche et coll., 2009). L'intégration de ces nouveaux neurones dépend aussi de la difficulté de la tâche mnésique : plus la tâche est complexe, plus le nombre de nouveaux neurones recruté est important (Epp et coll., 2010). Cependant, lors de l'apprentissage de tâches dépendantes de l'hippocampe, il n'est pas uniquement question d'ajout des nouveaux neurones : certains doivent également être éliminés. Ainsi, l'apprentissage favorise la survie des neurones relativement matures (plus de 1 mois) et la prolifération des cellules souches neuronales mais induit l'apoptose des cellules non matures (neuroblastes) (Dupret et coll., 2007). Le blocage de l'apoptose au cours de l'apprentissage d'une tâche de mémoire spatiale altère son acquisition et s'accompagne d'une diminution de la prolifération (Dupret et coll., 2007). Au cours d'un apprentissage, les

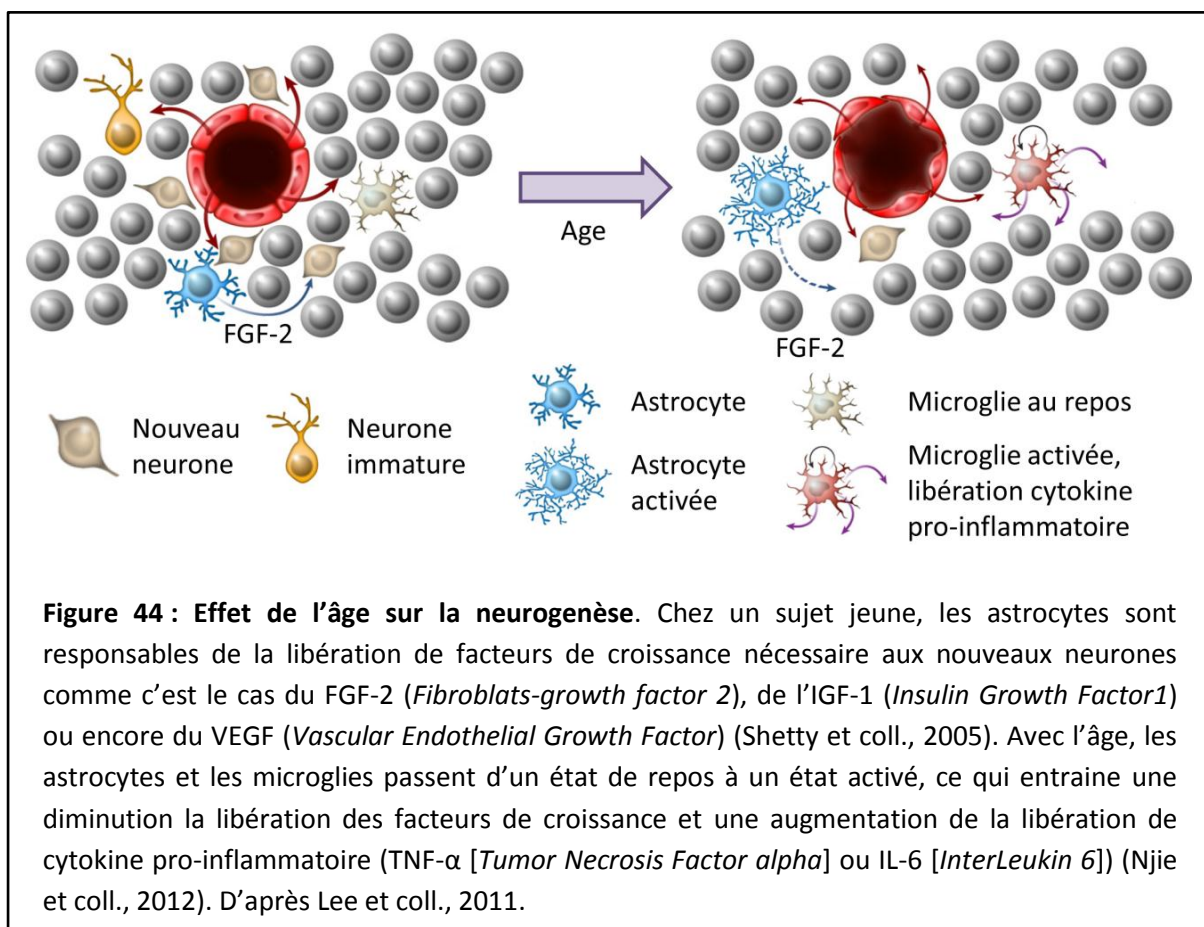
réseaux neuronaux sont modifiés grâce à une régulation fine comprenant l'addition et la suppression de différentes populations de neurones nouvellement formés.

L'implication des nouveaux neurones dans la NGS a fait l'objet d'un modèle proposé par Aimone et collaborateurs (2010). Selon ce modèle, les nouveaux neurones interviennent dans l'organisation temporelle des souvenirs (cf. Figure 43). Ces auteurs postulent que les nouveaux neurones permettent d'intégrer les nouveaux événements de manières indépendantes quand nécessaire (deux événements proches dans le temps seront encodés comme distincts) ou de compléter un schéma préexistant (*pattern completion*, il n'y a pas formation d'une nouvelle trace mnésique mais bien mise à jour de celle existante).



4.3. Neurogenèse et vieillissement

Le vieillissement s'accompagne d'une diminution de la NGS (Luo et coll., 2006 ; Olaruo et coll., 2007). En effet, le pool de neurones précurseurs diminue de 3 à 4 fois chez des rats de 12 mois par rapport à des rats de 2 mois. Cependant, il n'y a pas d'influence de l'âge sur la maturation et l'intégration des neurones (Luo et coll., 2006). Une des explications pourrait venir de changements intervenants au niveau des cellules gliales (astrocytes et microglies). Très brièvement, l'activation des astrocytes et des microglies, survenant avec l'âge, entraîne une diminution de la quantité de neurones nouvellement formés en raison de la diminution de la libération des facteurs de croissance (cf. Figure 44). Il y a également des changements au niveau vasculaire qui contribue à la diminution de la NGS. Une augmentation de la perméabilité des vaisseaux sanguins dans le parenchyme cérébral est observé avec l'âge, entraînant une diminution de la libération des facteurs de croissance (comme l'IGF-1, *insulin-like growth factor 1*, Sonntag et coll., 1997 ; Popescu et coll., 2009).



4.4. Neurogenèse et maladies neurodégénératives

Les maladies neurodégénératives et les maladies psychiatriques (comme la schizophrénie) (Reif et coll., 2006), sont souvent accompagnées d'une diminution de la NGS (Hsieh et Eisch, 2010). D'ailleurs, les traitements donnés dans le cadre de ces maladies (dont les antidépresseurs) ont souvent également un effet bénéfique sur la NGS. Varela-Nallar et collaborateurs ont publié une revue de questions (2010) résumant les différentes recherches effectuées dans le domaine de la neurogenèse et de la MA. Les résultats sont difficiles à interpréter, car certaines études montrent une diminution, d'autres une augmentation des marqueurs de la NGS, que ce soit chez les patients atteints de la MA (Jin et coll., 2004b ; He et Shen, 2009) et dans les modèles murins de la MA (Jin et coll., 2004a ; Donovan et coll., 2006 ; Verret et coll., 2007 ; Zhang et coll., 2007 ; Yu et coll., 2009 ; Mu et Gage en 2011).

La mémoire peut être définie comme l'ensemble des processus mentaux qui permettent d'acquérir, de stocker et de restituer une information, processus nécessaires à la survie de l'individu. La consolidation d'un événement nécessite la mise en place d'une plasticité synaptique et/ou systémique. Cette plasticité dépend de la transcription de gènes et de l'expression de nouvelles protéines. L'hippocampe et le cortex préfrontal sont fortement impliqués dans les processus de consolidation systémique. La neurogenèse, particulièrement celle au niveau de la zone sous granulaire du gyrus denté, est un mécanisme physiologique nécessaire à la mémorisation, sujet à des régulations endogènes et exogènes, et qui comporte plusieurs étapes critiques permettant à un neurone nouvellement formé de devenir fonctionnel au sein d'un réseau neuronal.

Les modifications épigénétiques, au centre d'un grand nombre de projets de recherche depuis une dizaine d'années, régulent notamment la plasticité synaptique et systémique nécessaires à la persistance à long terme des souvenirs, ainsi que la prolifération, la maturation et l'intégration des nouveaux neurones sein des circuits neuronaux existants.

*CHAPITRE 3 : LES MODIFICATIONS
EPIGENETIQUES*

CHAPITRE 3 : LES MODIFICATIONS EPIGENETIQUES

1. LES MODIFICATIONS EPIGENETIQUES

1.1. Définition générale

Le biologiste Conrad H. Waddington utilisa en premier le terme épigénétique en 1942, le définissant de la manière suivante : « *The branch of biology which studies the causal interactions between genes and their products which bring the phenotype into being* ».

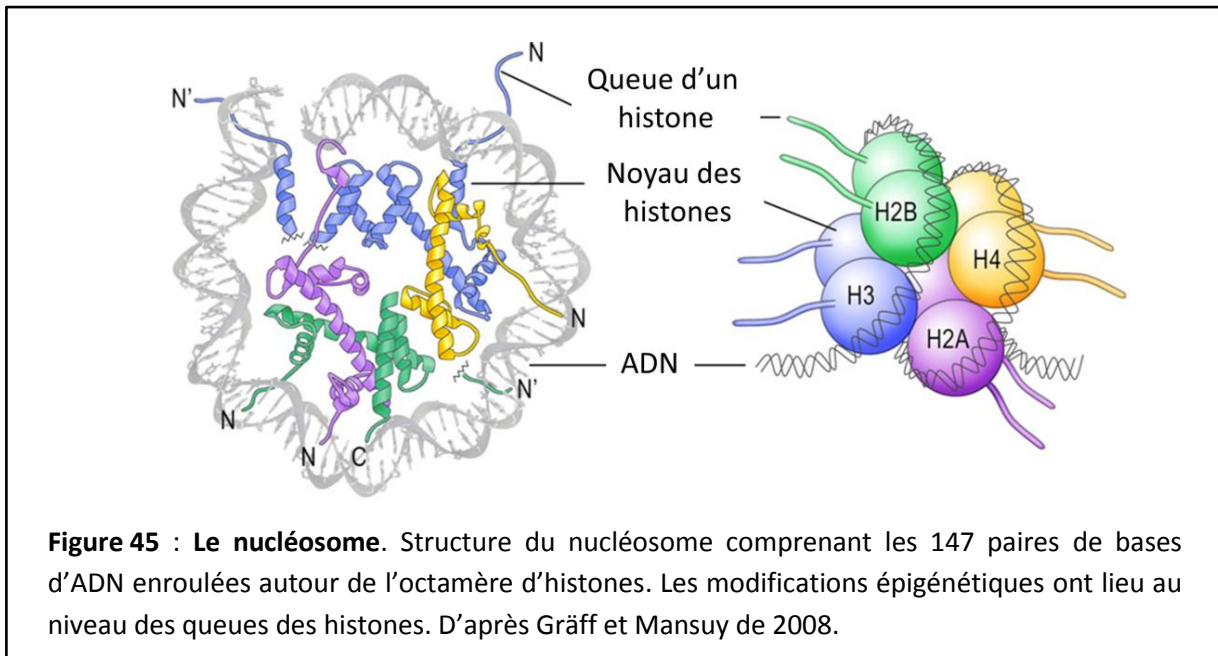
De nos jours, les modifications épigénétiques définissent l'ensemble des modifications biochimiques héritables qui se produisent au niveau du génome et qui interviennent dans la régulation de la transcription génique, mais sans modifier la séquence nucléotidique. Ces modifications sont capables de déterminer quand et où un gène sera exprimé.

Les modifications épigénétique et la régulation qu'elles permettent, expliquent la spécialisation tissulaire alors que toutes les cellules de notre organisme possèdent le même patrimoine génétique. Cette spécialisation passe par la répression de l'expression de certains gènes et l'activation d'autres en fonction du tissu (Karlic et coll., 2010). Par exemple, si notre cerveau est principalement composé de neurones et de cellules gliales, et non de cellules hépatiques, c'est parce que l'expression des gènes impliqués dans le développement neuronal sont activés dans notre cerveau tandis que ceux impliqués dans la différenciation et la synthèse des cellules hépatiques sont réprimés. Les modifications épigénétiques ont un caractère réversible qui leur confère une dynamique indispensable à la régulation fine de la transcription des gènes, permettant ainsi d'adapter la transcription des gènes en fonction des besoins de l'organisme et des stimulations environnementales.

1.2. Les nucléosomes

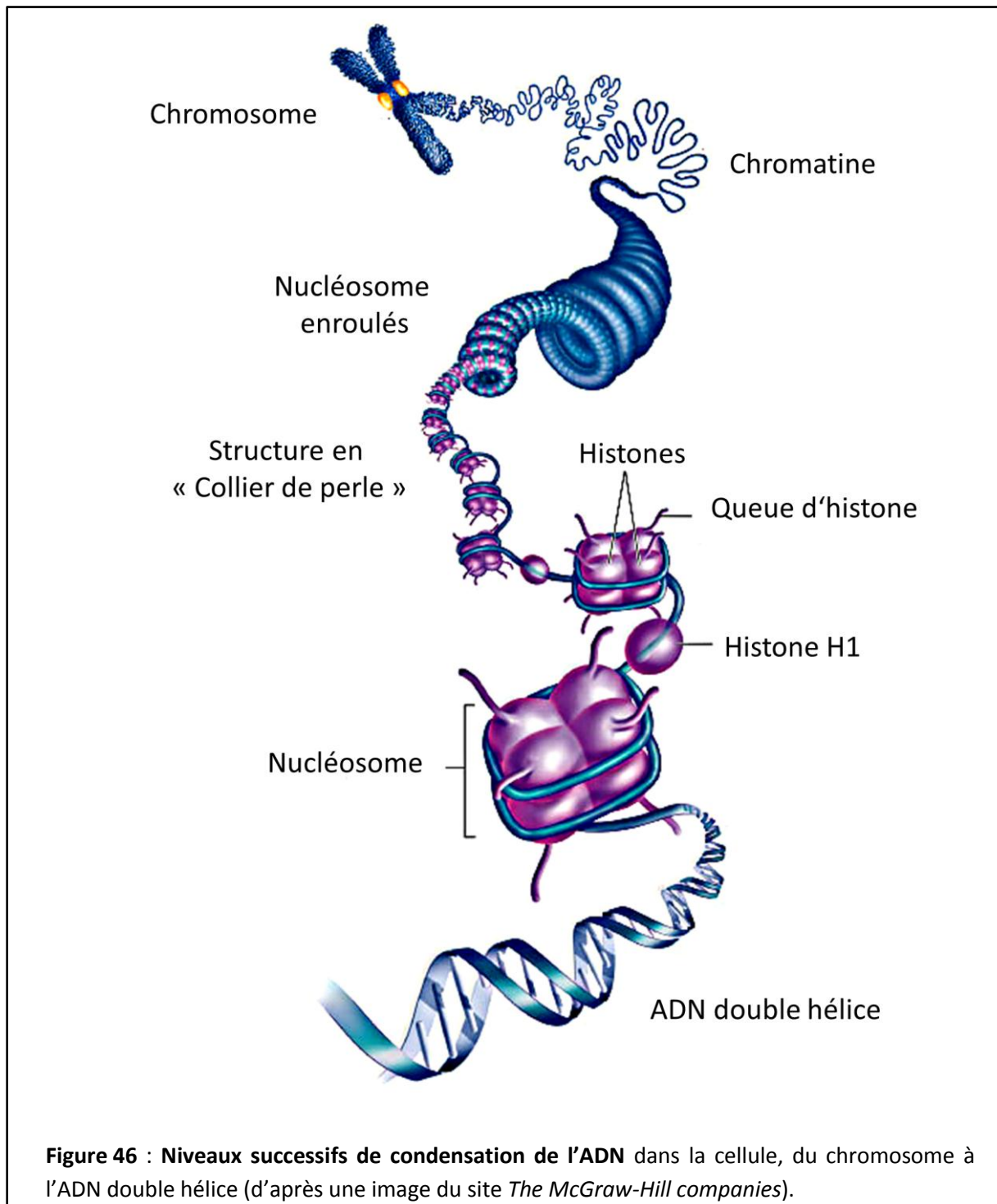
Dans les cellules de notre organisme, l'ADN est dans un état compacté. Il est enroulé autour des nucléosomes, qui sont constitués de 147 paires de bases d'ADN enroulées autour d'un octamère d'histones (Davie, 1998). Cet octamère est formé de deux copies de chacune des protéines histones H2A, H2B, H3 et H4 (cf. Figure 45). Les histones et l'ADN forment donc des nucléosomes, et l'enroulement dit « en collier de perle » de plusieurs nucléosomes

forme la chromatine (*cf.* Figure 46). Afin de relier les différents nucléosomes entre eux, l'histone H1 intervient dans la région internucléosomique (Larkin et coll., 2012). Il permet de stabiliser le nucléosome et participe ainsi à la compaction progressive de la chromatine.



Cette architecture spécifique permet de compacter le matériel génétique (sous forme d'hétérochromatine), la contrepartie est que les séquences d'ADN, et donc les séquences des gènes, ne sont pas accessibles à la machinerie transcriptionnelle en continu. Ainsi, pour permettre la transcription d'un gène, il faut d'abord décondenser la chromatine, séparer l'ADN des histones (état euchromatine) afin que les facteurs de transcription et le matériel enzymatique nécessaire à la transcription de l'ADN puissent se lier au brin d'ADN et le transcrire en ARN messager. Ces deux états de la chromatine, l'hétérochromatine et l'euchromatine, sont régis par les modifications post-traductionnelles dont certaines n'ont lieu que sur l'ADN et d'autres uniquement sur les protéines histones.

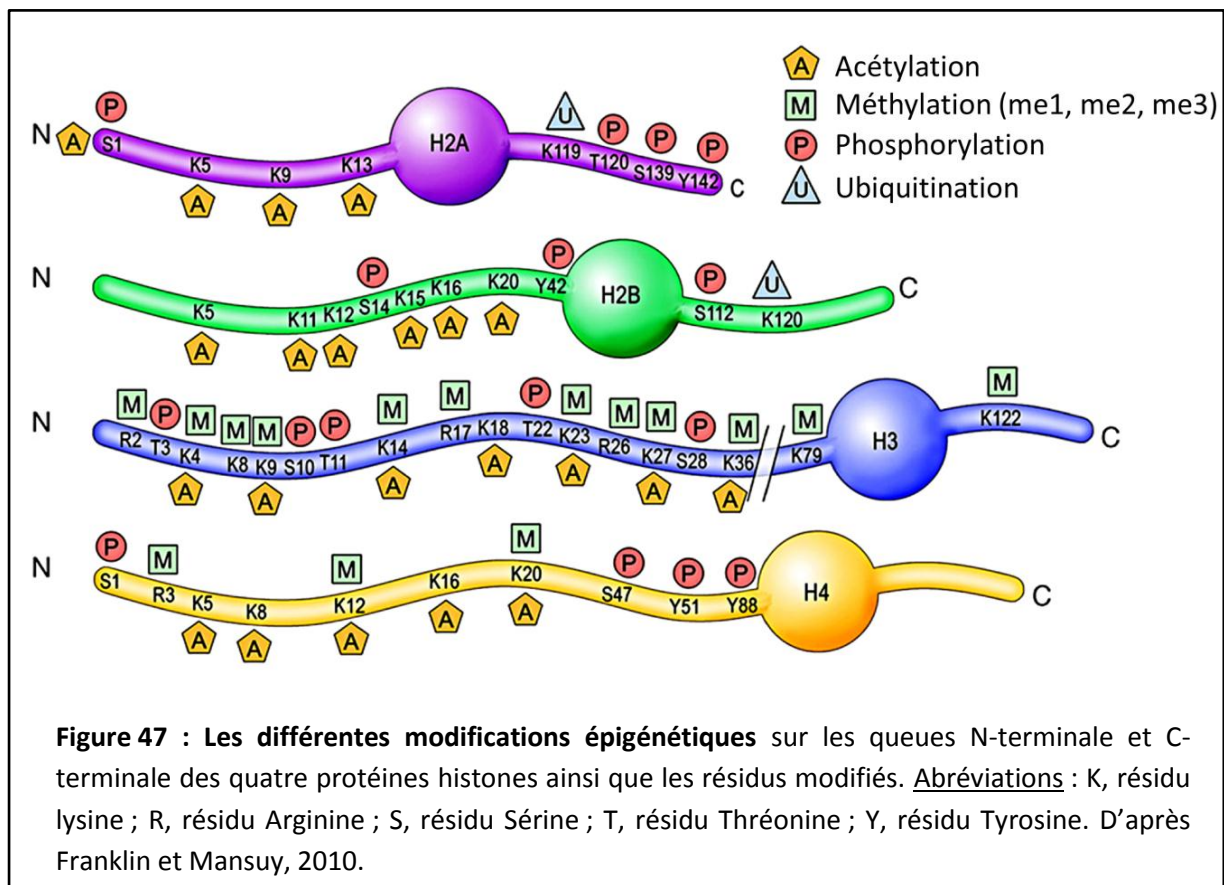
Les modifications épigénétiques permettent de moduler cet état de compaction soit par une action direct (principe de charges positives et négatives et de mécanismes de répulsion), soit par un mécanisme indirect *via* le recrutement de cofacteurs transcriptionnels responsables de la séparation entre l'ADN et les histones.



Dans un état hétérochromatine, la compaction est trop importante pour que les protéines de la machinerie transcriptionnelle puissent accéder à l'ADN. L'acétylation des histones fait partie des modifications post-traductionnelles qui permettent d'influencer l'état de condensation de la chromatine. Lorsque le niveau d'acétylation des histones est élevé, l'ADN se détache des nucléosomes et devient alors accessible à la machinerie transcriptionnelle.

1.3. Les différentes modifications épigénétiques

Il existe un grand nombre de modifications épigénétiques qui modulent la transcription des gènes. Ces modifications peuvent avoir lieu directement sur l'ADN ou sur les queues N-terminale et C-terminale des histones. Sur les histones, ces modifications peuvent être de différentes natures, de la **méthylation** à l'**acétylation** en passant par la **phosphorylation**, l'ubiquitination, l'hydroxylation, la ribosylation ou encore la SUMOylation (cf. Figure 47). Dans les pages qui suivent, je vais développer rapidement la méthylation et la phosphorylation et je passerai plus de temps sur l'acétylation des histones, car cette modification est au centre de mon projet de thèse.

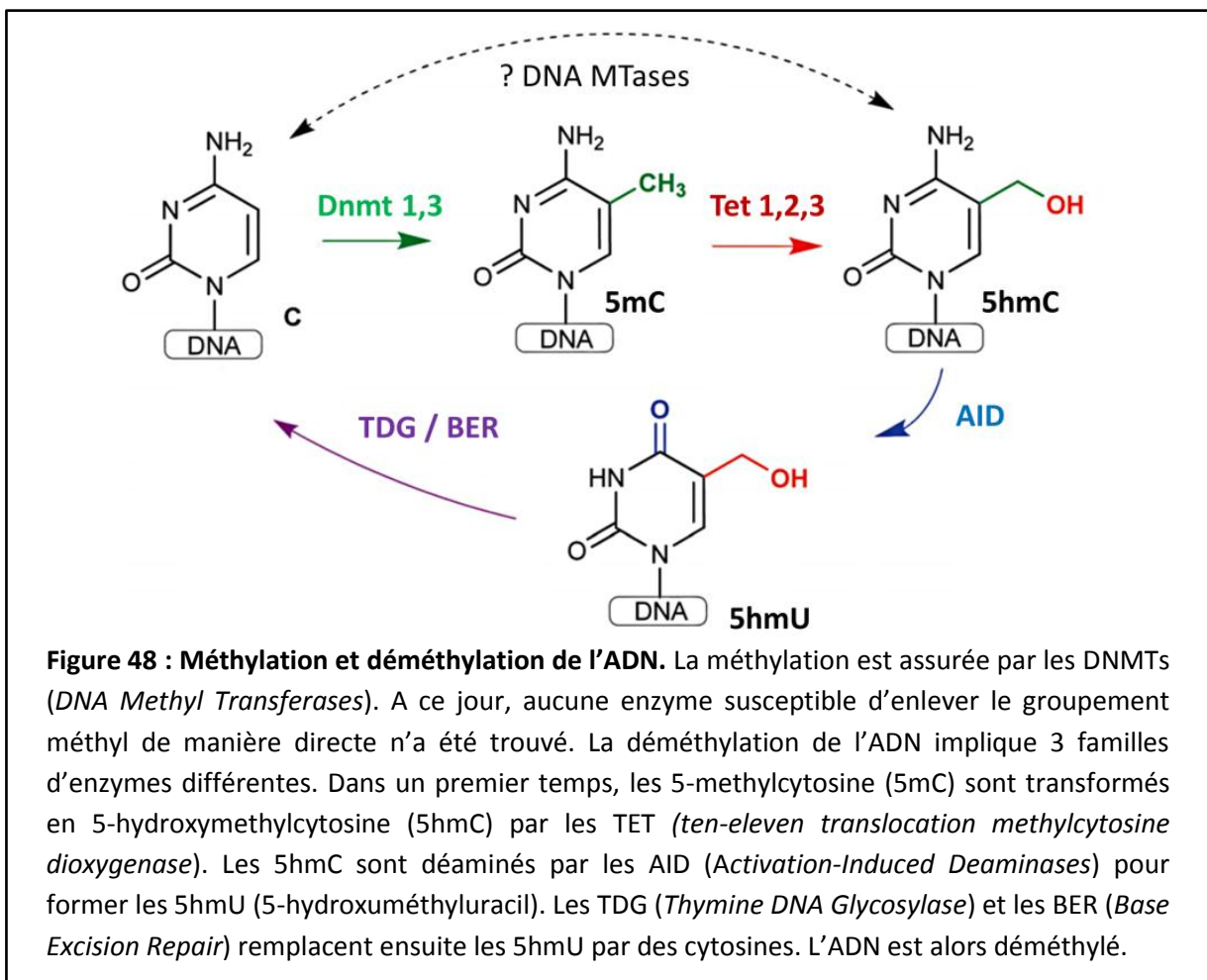


1.3.1. La méthylation

La **méthylation** consiste en l'ajout d'un résidu méthyl et peut avoir lieu à la fois sur l'ADN ou sur les histones.

La méthylation de l'ADN

La méthylation de l'ADN a principalement lieu dans les îlots CpG, c'est-à-dire dans les zones d'ADN comprenant une concentration importante de dimères nucléotidiques Cytosine-Guanine(C-G). Chez l'Homme, ces îlots CpG se retrouvent dans les régions proximales des promoteurs de 70 % des gènes (Huidobro et coll., 2013). La méthylation de l'ADN est régulée par deux mécanismes : la transformation des cytosines en 5-méthylcytosine par l'ajout du groupement méthyl grâce à l'action des DNMTs (*DNA Methyl Transferase*) et la déméthylation qui comporte plusieurs étapes et nécessite plusieurs intervenants (*cf.* Figure 48).

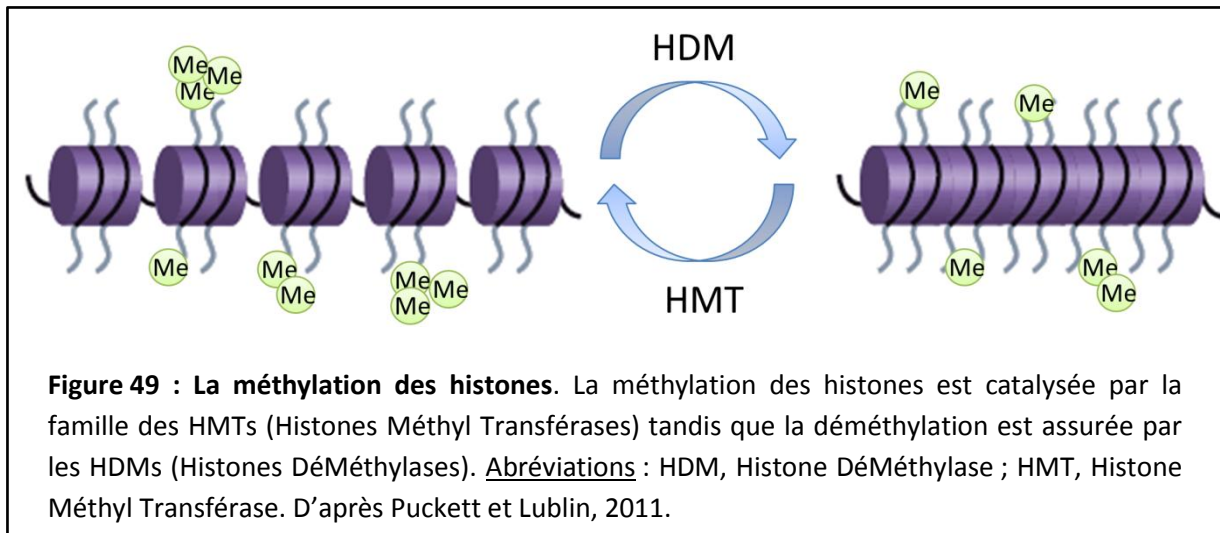


Il y a deux méthylation principales : la **méthylation de maintenance**, qui permet de remettre un groupement méthyl lorsque l'un des deux brins de l'ADN l'a perdu ou sur les brins d'ADN néoformé (reconnaissent les hémi-méthylations) et la **méthylation de novo**, qui consiste en la méthylation de résidus n'étant pas méthylés au préalable. La méthylation a pendant longtemps été considérée comme un « garde-fou », responsable de la répression des gènes qui ne doivent pas être exprimés dans certains types de cellules (comme les gènes des cellules hépatiques dans les neurones). C'est majoritairement le cas lorsque la méthylation a lieu sur l'ADN et plus particulièrement en ce qui concerne les méthylations de maintenance. Par contre, les méthylations *de novo* sont régulées par des signaux intracellulaires tels que l'activation neuronale et font par conséquent preuve d'une certaine plasticité (Day et Sweatt, 2011). Miller et collaborateurs (2008) ont montré que la méthylation *de novo* de l'ADN est impliquée dans la régulation des processus mnésiques. Ainsi, l'instillation intra-hippocampique d'inhibiteurs des DNMTs (5-aza et zebularine), qui induit donc la diminution de la méthylation de l'ADN, entraîne des troubles de la consolidation mnésique. Les auteurs ont observé qu'en diminuant la méthylation, ceci entraîne une levée de la répression des gènes, dont certains liés à la mémoire (comme le gène de la *Reelin*). Feng et collaborateurs (2010) ont mis en évidence l'implication des DNMT1 et DNMT3a dans la régulation de la plasticité synaptique : des souris KO pour ces deux DNMTs présentent une altération de la plasticité synaptique accompagnée d'un déficit d'acquisition d'une mémoire spatiale (évaluée dans le test de la piscine de Morris).

La méthylation des histones

La **méthylation** peut également avoir lieu au niveau des résidus lysine (K) et arginine (R) sur les queues N- et C-terminales des histones (*cf.* Figure 49). La méthylation est alors aussi bien associée à l'activation qu'à la répression de la transcription des gènes (Peters et Schübeler, 2005 ; Klose et Zhang, 2007). Les résidus R peuvent être mono- ou di-méthylés, tandis que les résidus K peuvent être mono-, di- ou tri-méthylés. Ces différents degrés de méthylation permettent de réguler l'expression des gènes. Ainsi, la tri-méthylation de l'histone H3 sur le résidu K4 (lysine 4) (H3K4me3) est associée à une activation de la transcription de gènes (*Zif268* et *Bdnf*; Gupta et coll., 2010), tandis que sa mono-méthylation (H3K4me) est aussi bien corrélée à une activation qu'à une répression de la transcription des gènes (Kerimoglu et coll., 2013). D'un point de vue enzymatique, la

méthylation des histones est catalysée par la famille des HMTs (Histones Méthyl Transférases) tandis que la déméthylation est assurée par les HDMs (Histones DéMéthylases).



La régulation de la transcription par la méthylation des histones a également été associée à la mémoire. Gupta et ses collaborateurs (2010) ont étudié l'impact de la méthylation des histones dans la régulation des processus mnésiques chez la Souris. Ils ont montré que la tri-méthylation de H3K4 est associée à l'activation de la transcription de gènes et qu'elle est particulièrement présente sur les promoteurs de gènes impliqués dans la mémoire (tels *Zif268* et *Bdnf*). Si elle n'a pas lieu, des troubles d'apprentissage d'une peur conditionnée au contexte apparaissent. Par contre, la di-méthylation de H3K9 est associée à la répression de la transcription de ces gènes. Kerimoglu et collaborateurs (2013) ont mis en évidence que la *Kmt2b*, une des HMTs responsable de la méthylation de H3K4, est impliquée dans la mémoire. Ces auteurs ont observé une altération de l'acquisition dans une tâche de piscine de Morris chez des souris *Kmt2b* cKO. La méthylation des histones, et notamment du résidu H3K4 par la *Kmt2b* est nécessaire à l'expression de gènes impliqués dans les processus de plasticité synaptique.

1.3.2. La phosphorylation

La **phosphorylation** des histones a lieu sur les résidus sérine (S), thréonine (T), et dans une moindre mesure sur les résidus tyrosine (Y). La phosphorylation est catalysée par les protéines kinases qui sont responsables de l'ajout d'un groupement phosphate, tandis que le

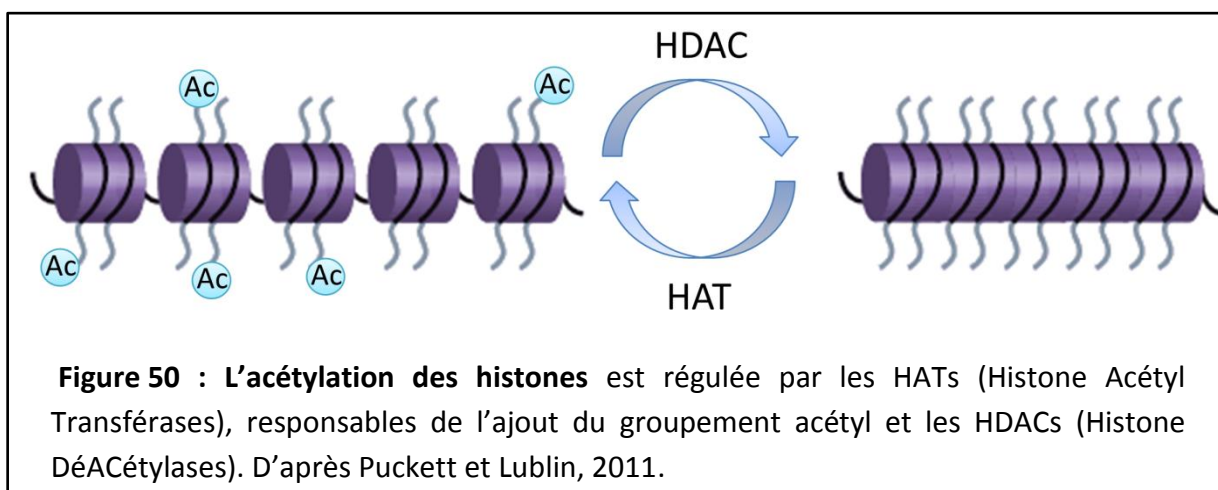
retrait de ce groupement phosphate est assuré par des protéines phosphatases. Dans la majorité des cas, la phosphorylation des histones est associée à l'activation de la transcription en raison de la charge négative apportée par le groupement phosphate qui crée une force répulsive entre l'histone et l'ADN (également chargé négativement) (Loury et Sassone-Corsi, 2003).

Dans une publication de 2006, Chwang et collaborateurs ont étudié la régulation de la phosphorylation des histones dans l'hippocampe au cours de l'apprentissage d'une peur conditionnée au contexte. Ils ont montré que l'activation de la voie ERK/MAPK (*Extracellular signal-Regulated Kinase /Mitogen-Activated Protein Kinase*) entraîne une augmentation de la phosphorylation de l'histone H3 sur son résidu S10. Ce mécanisme est dépendant de l'activation des récepteurs NMDA puisque l'administration de MK-801, un antagoniste spécifique de ces récepteurs, empêche cette phosphorylation. Lors de l'administration de MK-801, les souris WT présentent une perturbation de l'acquisition et/ou du rappel de la mémoire de peur conditionnée au contexte.

1.3.3. L'acétylation

L'acétylation des histones

L'acétylation des histones est régulée par deux familles d'enzymes, les **Histones AcétylTransférases** (HATs), qui catalysent l'ajout d'un groupement acétyl sur la queue N-terminale ou C-terminale des histones, et les **Histones DéACétylases** (HDACs) qui hydrolysent ce groupement acétyl (*cf.* Figure 50) (Verdone et coll., 2005).



L'acétylation des histones module la transcription des gènes par deux mécanismes principaux : l'un basé sur le changement des forces attractives établies entre l'ADN et les histones et l'autre sur le recrutement de cofacteurs.

Le premier mécanisme est basé sur le changement de la charge isoélectrique de l'histone par l'ajout d'un groupement acétyl. Les HATs vont transférer un groupement acétyl, provenant de l'acétyl Coenzyme A, sur le groupement ammonium de la lysine. Ce groupement ammonium, chargé positivement, est responsable de l'attraction qui existe entre l'ADN (chargé négativement) et l'histone. Une fois acétylé, le groupement ammonium devient un groupement amide neutre. Il n'est donc plus chargé positivement. Ceci a comme conséquence une diminution de la force attractive établie entre l'histone et l'ADN, qui devient ainsi accessible à la machinerie transcriptionnelle (Hasan et Hottiger, 2002).

Le second mécanisme est basé sur la fonction « chaperonne » que peuvent exercer certaines protéines. Ainsi, certaines protéines contiennent un domaine de liaison spécifique, appelé bromodomaine qui reconnaît les lysines acétylées (Yang, 2004). Ces protéines vont ainsi pouvoir se fixer au niveau des lysines acétylées et recruter d'autres protéines impliquées dans la machinerie transcriptionnelle entraînant finalement la transcription des gènes. Parmi certaines de ces protéines à bromodomaine, on peut citer des HATs, comme CBP et p300, qui vont alors être capables d'augmenter le niveau d'acétylation des histones déjà acétylées et favoriser la transcription des gènes en recrutement, par exemple, des facteurs de transcription.

L'acétylation des protéines non histones

L'acétylation peut également avoir lieu sur des protéines non-histones (comme c'est le cas de la phosphorylation). Chez le Rat naïfs, 2000 à 4000 protéines non-histones sont acétylées, sur environ 15 000 sites de fixation identifiés (Lundby et coll., 2012).

La **protéine TAU** est acétylée par un mécanisme dépendant de l'acétyltransférase p300, et déacétylée par Sirt1 sur un certain nombre des résidus lysines qui la composent (Min et coll. 2010). L'impact de l'acétylation de la protéine TAU, dans le cadre des maladies neurodégénératives, et notamment de la MA, est controversé. Certains auteurs associent l'acétylation de la protéine TAU à un effet bénéfique, tandis que d'autres la considèrent

comme un amplificateur de la phosphorylation, et donc comme étant pro-agrégative. Pour Cook et ses collaborateurs (2014), l'acétylation de la protéine TAU inhibe sa phosphorylation dans les domaines KIGS de liaison aux microtubules, et pourrait ainsi empêcher son hyperphosphorylation dans la MA. A l'inverse, le travail de Min et ses collaborateurs (2010) a mis en évidence que l'acétylation de la protéine TAU dans son domaine de projection facilite sa phosphorylation. Irwin et ses collaborateurs (2012) ont montré que l'acétylation de la protéine TAU, sur son résidu K280, altère le fonctionnement des microtubules en raison de la perte de fonction de Tau qui ne s'y lie plus correctement. Grâce à des analyses immunohistochimiques, ces auteurs ont étudié l'évolution des niveaux de phosphorylation et d'acétylation de la protéine TAU dans 10 cerveaux de patients ayant souffert de la MA. Les auteurs ont mis en évidence que la protéine TAU est hyperacétylée dans les DNFs, la définissant ainsi comme une nouvelle marque pathologique de la maladie d'Alzheimer et des Tauopathies (Irwin et coll., 2012 ; 2013). Le même groupe a montré par la suite que Tau possède une activité acétyltransférase intrinsèque (de type MYST) pouvant mener la protéine TAU à s'auto-acétyler et à acétyler d'autres protéines TAU (Cohen et coll., 2013).

L' **α -tubuline** (une des isoformes de la tubuline) peut également être acétylée. Au moins deux enzymes sont responsables de son acétylation : l'ELP3 (Elongator acetyltransferase complex subunit 3, Creppe et coll., 2009) et l' α TAT1 (α -tubulin acetyltransferase1, Kalebic et coll., 2013). La déacétylation est assurée par HDAC6 et SIRT2 (Hammond et coll., 2008). Le rôle de cette acétylation est encore mal établi. Kalebic et coll., (2013) ont montré que l' α TAT1 est impliquée dans la régulation dynamique des MTs mais que ce mécanisme n'est pas dépendant de sa fonction HAT. Creppe et coll. (2009) ont également mis en évidence que l'acétylation de l' α -tubuline *via* ELP3 est nécessaire au contrôle de la migration et de la différenciation des projections corticales.

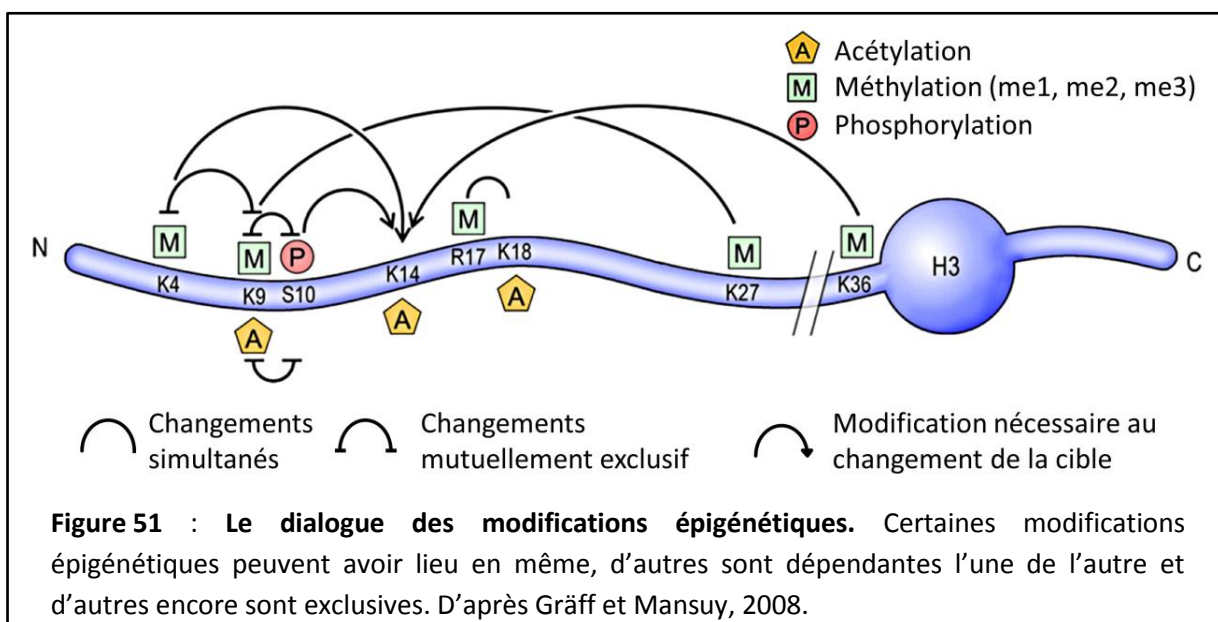
La **protéine p53**, impliquée dans des fonctions cellulaires telle que la mitose ou l'apoptose, peut aussi être acétylée, et c'est son niveau d'acétylation qui régule son activité apoptotique : l'acétylation du résidu lysine 320 est nécessaire au blocage de l'activité apoptotique de p53 tandis que l'acétylation des résidus K373 et K120 favorise l'activation de gènes pro-apoptotiques (Gu et Zhu, 2012).

L'acétylation a également lieu directement sur certaines HATs : on parle d'auto-acétylation. C'est le cas de CBP/p300 et de PCAF, qui voient leur activité augmenter à la suite de cette auto-acétylation (Thompson et coll., 2004).

Bien d'autres protéines non histones peuvent être acétylées, notamment certains facteurs de transcription comme **NF-κB** (Perkins, 2006), ou **l'ARN polymérase II** (Schröder et coll., 2013).

1.3.4. Interaction entre les différentes modifications épigénétiques

Les modifications post-traductionnelles interviennent souvent dans une même fenêtre temporelle (suite à une stimulation par exemple). Elles sont donc susceptibles de s'influencer les unes les autres (cf. Figure 51). C'est pour cette raison que certains auteurs parlent de « **code épigénétique** » ou de « **langage des histones** », faisant référence au sens d'une phrase qui peut être complètement différent selon le contexte dans lequel elle est énoncée. Un même résidu peut être acétylé ou méthylé, c'est le cas des résidus Lysine 4 (K4) et 9 (K9) de la queue N-terminale de l'histone H3 (Oliver et Denu, 2011). Si le résidu K9 est tri-méthylé, cela entraîne le recrutement de protéines possédant un chromodomaine (reconnaissance de la méthylation) qui engendrent à leur tour le recrutement de l'ensemble d'un complexe protéique (dont HDAC1) responsable de la répression de la transcription des gènes (Oliver et Denu, 2011). Par contre, la tri-méthylation de H3K4 est associée à l'activation de la transcription (Gupta et coll., 2010).



Qui dit interactions dit compétition, les modifications épigénétiques n'échappent pas à la règle : la méthylation H3R17 empêche par exemple l'acétylation H3K18ac, et la méthylation H3K9me empêche la phosphorylation H3S10p. Il y a également des interdépendances : si le résidu H3S10 n'est pas phosphorylé, l'acétylation de H3K14ac ne peut avoir lieu. Enfin, certaines modifications se font de manière indépendante : par exemple, la phosphorylation H3S10p et l'acétylation H3K9ac ne s'influencent pas l'une l'autre. Il est parfois nécessaire de passer par un état répressif lié à la méthylation (H3K36me) pour permettre l'acétylation (H3K14ac) de certains résidus, acétylation associée à l'expression des gènes (Jenuweil et Allis, 2001).

Koshibu et collaborateurs (2009) ont étudié l'influence de la phosphorylation de H3S10 sur l'acétylation des différentes histones. En plus de modifier l'acétylation de l'histone H3 (K9 et K14), le niveau de phosphorylation de ce résidu (H3S10), qui est régulé par PP1 (*Protein Phosphatase 1*), influence également l'acétylation des histones H4 (K5) ainsi que l'acétylation globale de H2B en interagissant avec HDAC1. Ainsi, une modification épigénétique peut en influencer beaucoup d'autres, notamment en raison du recrutement d'un complexe protéique. En effet, l'acétylation des histones permet de recruter des protéines possédant un bromodomaine, tandis que les protéines possédant un chromodomaine voient leur activité dépendre de la méthylation des histones. Certaines HATs (CBP et p300) possèdent un bromodomaine, l'activité de ces deux enzymes est régulée par l'état d'acétylation préalable des histones. Finalement, l'état des histones, en termes de modifications post-traductionnelles, au moment de la stimulation environnementale (situation d'apprentissage par exemple) va très clairement influencer les autres modifications transcriptionnelles qui succéderont à cette stimulation (Oliver et Denu, 2011).

Enfin, la méthylation de l'ADN est aussi capable d'influencer les modifications qui auront lieu sur les histones. Miller et collaborateurs (2008) ont montré que la méthylation de l'ADN influence l'acétylation des histones et que ces deux modifications travaillent conjointement à la formation et à la consolidation d'une mémoire de peur conditionnée au contexte et à la plasticité synaptique. L'instillation intra-hippocampique de 5-aza, un inhibiteur des DNMTs, affecte l'acétylation des histones induite par un conditionnement de peur au contexte et est accompagnée de troubles mnésiques. L'administration de NaBu, un inhibiteur des HDACs, associé au 5-aza, permet de restaurer les capacités mnésiques (Miller et coll., 2008).

2. REGULATION DE L'ACÉTYLATION DES HISTONES : DIALOGUE ENTRE LES HATS ET LES HDACS

2.1. Les Histones AcétylTransférases (HATs)

2.1.1. Classification

Il existe de nombreuses **HATs** et bien que certaines soient plus particulièrement impliquées dans l'acétylation de certains résidus lysines (Berdsen et Denu, 2008 ; Selvi et coll., 2010) (*cf.* Figure 52), il y a globalement plusieurs HATs capables d'acétyler un même résidu, ce qui autorise la mise en place de systèmes de compensation en cas de dysfonctionnement. Les HATs sont conservées tout au long des espèces (des vers *caenorhabditis elegans* à l'Homme). Elles se regroupent en deux classes principales :

- **la classe A**, composée des HATs responsables de l'acétylation des histones comprises dans les nucléosomes (retrouvées donc dans le compartiment nucléaire)
- **la classe B**, retrouvée dans le cytoplasmique, qui acétyle les histones nouvellement synthétisées avant qu'elle ne s'assemble à la chromatine (Grant et Berger, 1999).

Brièvement, la classe B est représentée par une seule enzyme, HAT1 tandis que la classe A regroupent cinq familles de HATs (Publication 4, en Annexes, Schneider et coll., 2013).

1. La famille des GNATs (*Gen5-related N-acetyltransferases*), dont les plus connues sont la GCN5 (general control of amino acid synthesis 5), ELP3 (*elongation protein 3*), PCAF (*p300/CBP-associated factor*) ;
2. La famille p300/CBP (*cyclic adenosine monophosphate response element-binding protein*) est composée des deux activateurs transcriptionnels, CBP (*cyclic adenosine monophosphate response element-binding protein*) et p300 ;
3. La famille MYSTs (*MOZn YBF2, SAS2 and TIP60*) qui comprend TIP60 (*TAT interacting proteins 60*), et les MYST1 à MYST4 : MOZ (*monocytic leukaemia zinc-finger protein*), MORF (*monocytic leukaemia zinc-finger protein related factor*), MOF (*monocytic leukaemia zinc-finger protein related factor*) et HBO1 (*human acetylase binding to ORC1*). Les HATs appartenant à cette famille sont impliquées dans la régulation des interactions protéine-protéine ;

4. les HATs des facteurs de transcription, représentées par TFIIID (*transcription factor transcription initiation factor II D*), de TFIIC (*transcription factor transcription initiation factor II C*) et TAFII250 (*TATA box binding protein (TBP)-associated factor*). Ces différents facteurs sont impliqués dans le recrutement de protéines nécessaires à la transcription après leur liaison à l'ADN ;
5. Les HATs associées aux récepteurs nucléaires, comme SRC1 (*Steroid Receptor Coactivator-1*), NCOA3 (*nuclear receptor coactivator 3*) ou encore TRAM1 (*Thyroid hormone Receptor Activator Molecule*). Ces HATs sont dépendantes des signaux hormonaux et associées à l'activation de la transcription.

HAT/KAT family	Representative members	Histone modification
Type A HAT (nuclear HAT)		
1) GNAT family	GCN5/KAT2A, PCAF/KAT2B ELP3/KAT9	H3K9, K14, K18, H2B H3, H4 acetylation
2) p300/CBP family	CBP/KAT3A, p300/KAT3B	H3K9, K14, K18, H2B H2AK5, H2BK12, K15
3) MYST family	TIP60/KAT5, MOZ/KAT6A, MORF/KAT6B, HBO1/KAT7, HMOF/KAT8	H4K5, K8, K12, K16 H3K14 H4K5, K8, K12 H4K16
4) Transcription factor related	TFIIIC90/KAT12, TAF1/KAT4	H3K9, K14, K18 H3, H4 acetylation
5) Nuclear receptor associated	SCR1/KAT13A, ACTR/KAT13B	H3/H4 acetylation
Type B HAT (cytoplasmic HAT)	HAT1/KAT1	H4K5, K12

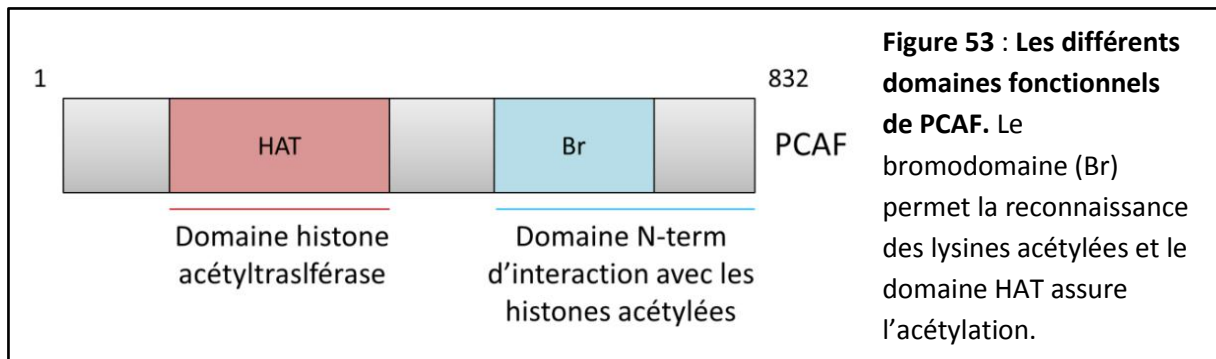
Figure 52 :
Classification des différentes HATs :
membres de chaque famille et principaux sites d'acétylation. Selvi et coll., 2010

Nous allons nous intéresser plus particulièrement à **PCAF**, **CBP** et **p300** qui sont plus particulièrement impliqués dans les processus mnésiques.

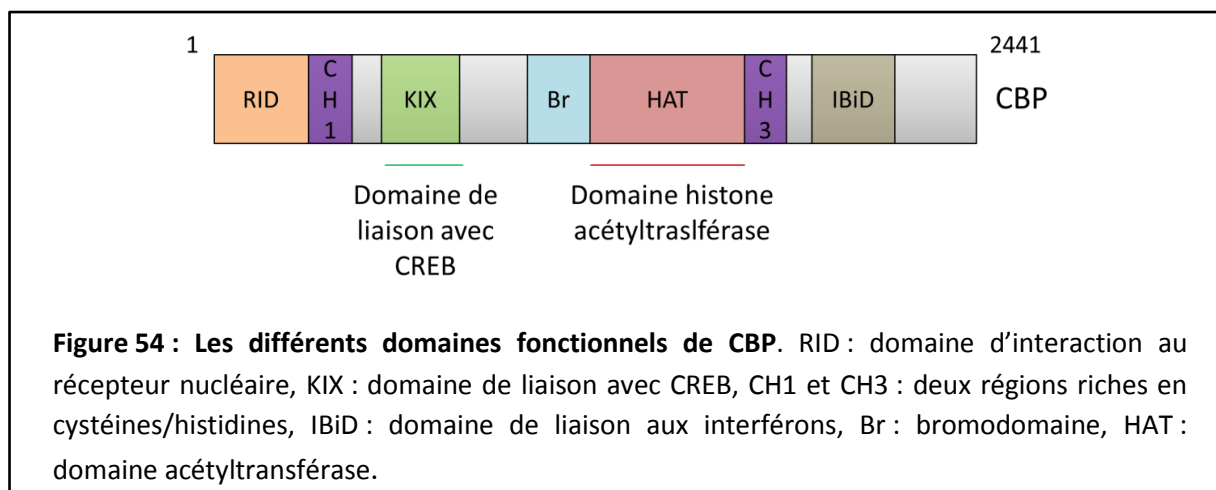
2.1.2. PCAF, CBP et p300

PCAF (*p300/CBP-associated factor*) appartient à la famille des GNATs. Cette protéine est capable de s'associer à p300 et CBP par son extrémité N-terminale (Yang et coll., 1996 ; Xu et coll., 1998). Les membres de la famille des GNATs partagent deux domaines fonctionnels : celui histone acétyltransférase (HAT) en position centrale et le bromodomaine au niveau de l'extrémité N-Terminale, qui permet d'interagir avec d'autres protéines (dont p300 et CBP, cf. Figure 53). PCAF joue un rôle de coactivateur transcriptionnel, c'est-à-dire qu'il facilite le recrutement d'autres protéines. Il intervient également dans l'arrêt des cycles cellulaires et

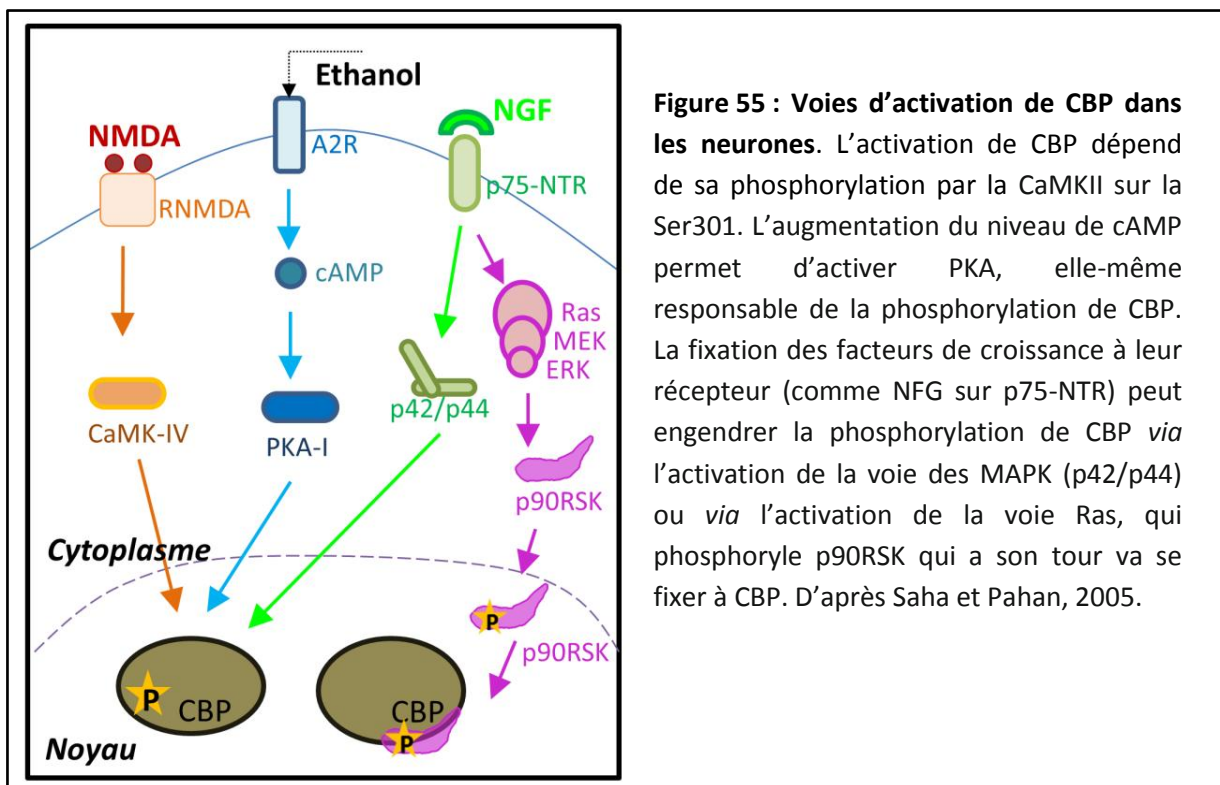
est très impliqué dans les processus mnésiques (cf. Rôle des HATs dans la mémoire, paragraphe 4.1 de ce chapitre).



CBP (*cyclic adenosine monophosphate response element-binding protein*) et **p300** forment à elles seules la famille p300/CBP. Ces deux HATs interviennent de manière prépondérante dans la régulation de l'expression des gènes, notamment *via* leur interaction avec le facteur de transcription CREB (au travers du domaine KIX). Ces deux protéines sont exprimées de manière ubiquitaire et sont impliquées dans de nombreuses fonctions cellulaires comme le contrôle du cycle cellulaire, la différenciation cellulaire ou encore l'apoptose (Giordano et Avantaggiati, 1999 ; Goodman et Smolik, 2000). La majorité des domaines fonctionnels de CBP et p300 sont similaires. Elles possèdent notamment un domaine d'interaction au récepteur nucléaire (RID), un domaine KIX (*kinase inductible binding domain*) qui permet l'interaction avec de nombreux facteurs de transcription comme CREB et MYB (Chrivia et coll., 1993), des régions riches en cystéines/histidines (CH1-CH3), et enfin un domaine de liaison aux interférons (IBiD, *Interferon response-Binding Domain*). Elles possèdent également un domaine acétyltransférase et un bromodomaine (Bordoli et coll., 2001 ; Kalkhoven et coll., 2002) (cf. Figure 54).

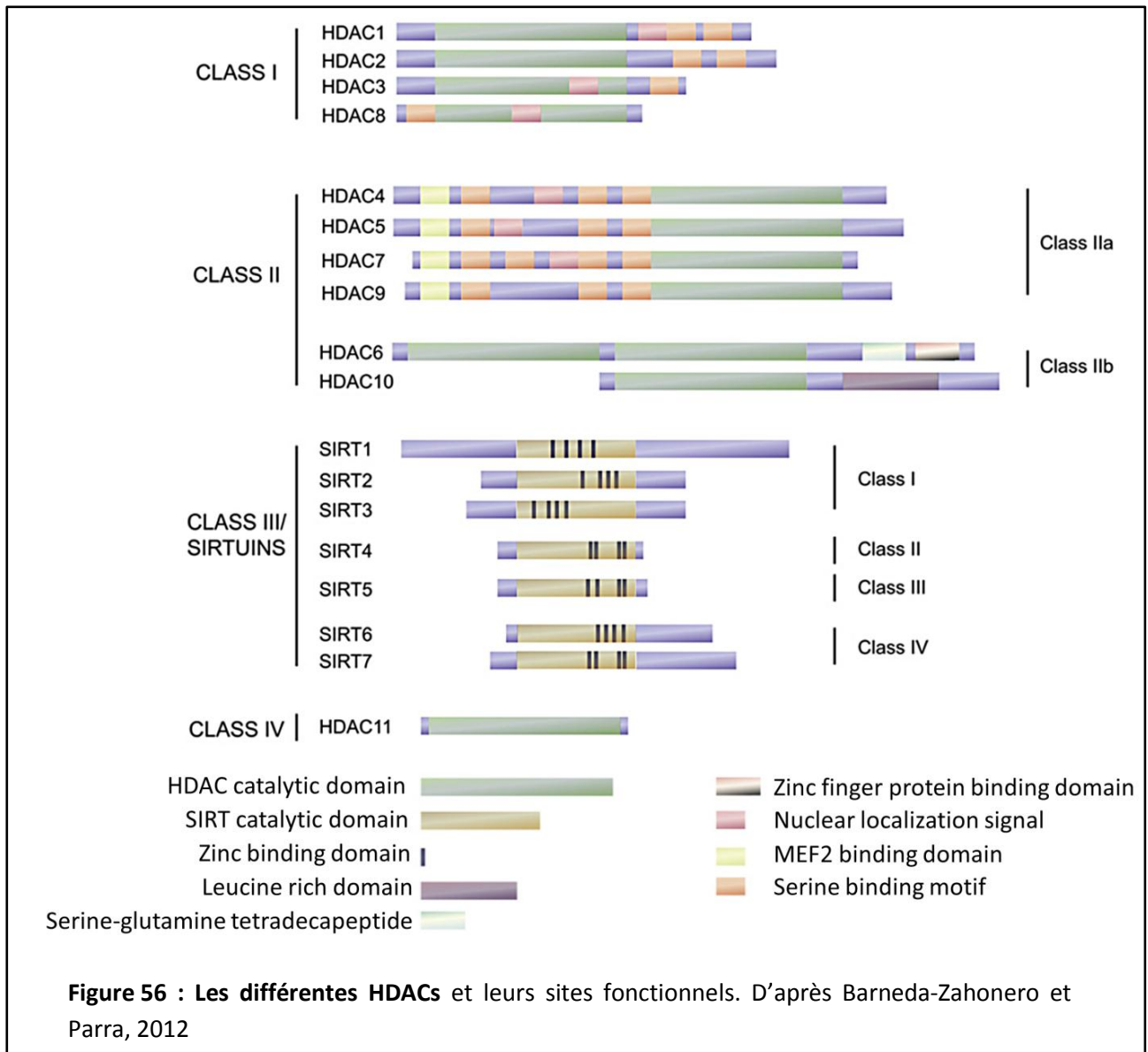


Différents mécanismes sont susceptibles de moduler l'activité de ces HATs : **l'auto-acétylation** (comme c'est le cas pour p300 et CBP), l'acétylation par d'autres HATs, ou la déacétylation par des HDACs (Thompson et coll., 2004 ; Berdsen et Denu, 2008). Ainsi, PCAF est déacétylée par HDAC3 tandis que p300 est la cible de SIRT2 (Gregoire et coll., 2007 ; Black et coll., 2008). La **phosphorylation**, par les CaMKII, PKA ou cdk2 dans le cas de CBP, permet également de moduler l'activité des HATs (Chawla et coll., 1998 ; Hardingham et coll., 1999 ; Saha et Pahan, 2005). Dans une revue de questions publiée en 2013, Gräff et Tsai développent les différents événements cellulaires susceptibles de changer l'état d'activation de CBP, de la quantité de Na^{2+} dans le milieu extracellulaire (culture de neurones hippocampiques de Rat), à la stimulation dopaminergique, acétylcholinergique ou glutamatergique de l'hippocampe chez la Souris (*cf.* Figure 55).



2.2. Les Histones DéACétylases (HDACs)

Chez les mammifères, il existe 18 HDACs (identifiées à ce jour) regroupées en 4 classes (*cf.* Figure 56). Certaines de ces HDACs sont responsables de la répression de gènes impliqués dans la mémoire (HDAC2, SIRT), et d'autres de leur activation (HDAC4). Tout comme les HATs, les HDACs présentent une affinité différente pour les différents résidus lysines. Les enzymes HDACs sont conservées à travers les espèces (Schneider et coll., 2013).



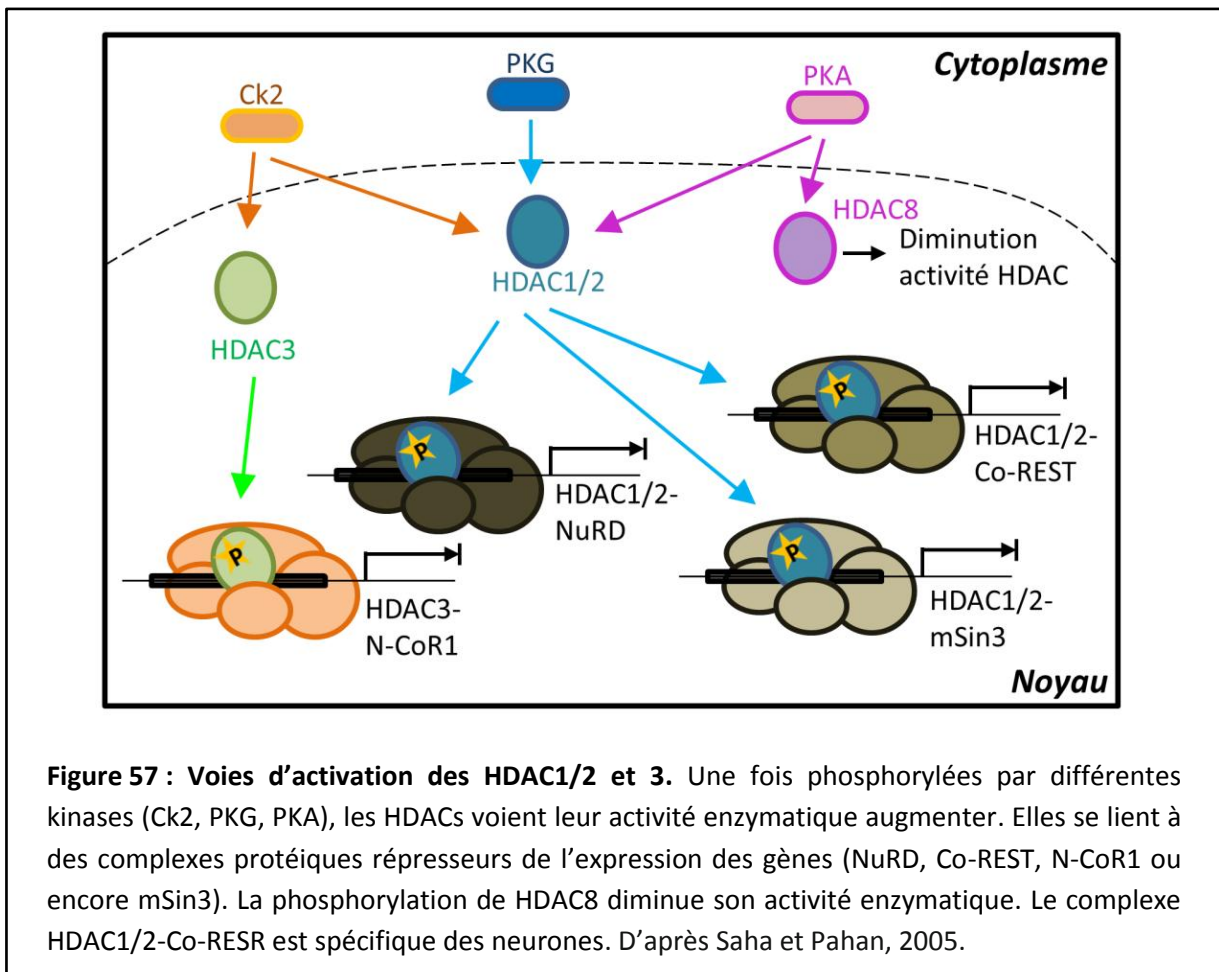
Les HDACs sont réparties en quatre classes en fonction de leur localisation subcellulaire (Gregorette et coll., 2004) :

1. La **classe I**, représentée par les HDAC1, 2, 3 et 8, regroupe les HDACs principalement nucléaire.
2. La classe II est subdivisée en deux sous-classes, les HDACs de la **classe IIa** : HDAC4, 5, 7 et 9, et celles de la **classe IIb** : HDAC6 et HDAC10. Ces protéines transitent entre les compartiments cytoplasmique et nucléaire.
3. La **classe III** regroupe les sirtuines (SIRT1 à SIRT7) qui se caractérisent par leur dépendance au NAD⁺ (*Nicotinamide Adenine Dinucleotide*). Elles peuvent être cytoplasmiques (Sirt1 et 2), nucléaires (Sirt1, 6 et 7) ou encore mitochondriales (Sirt3, 4 et 5).

4. La **classe IV** est représentée par un seul membre, HDAC 11 qui a été découvert plus récemment.

Les HDACs des classes I, II et IV ont une activité dépendante de l'ion zinc (+).

L'activité des HDACs est également soumise à des modulations (*cf.* Figure 57). C'est le cas par exemple des HDACs de la classe I et II, qui voient leur activité modulée par leur phosphorylation notamment *via* la CaMKII (Backs et coll., 2006 ; Gregorette et coll., 2004 ; Ellis et coll., 2003).



Les HDACs interviennent dans de nombreux processus physiologiques comme l'apoptose (Boutillier et coll., 2003), la régulation du développement des neurones glutamatergiques (Akhtar et coll., 2009), le développement des cancers chez l'Homme (Gregorette et coll., 2004 ; Barneda-Zahonero et Parra, 2012), ou encore la différenciation, la prolifération et la maturation cellulaire (Gregoire et coll., 2007 ; Reichert et coll., 2012).

3. REGULATIONS PHARMACOLOGIQUES DE L'ACÉTYLATION DES HISTONES

Afin d'évaluer et de comprendre le rôle des HATs et des HDACs dans différents processus physiologiques fondamentaux, comme la mémoire, des agents pharmacologiques susceptibles de moduler leur activité ont vu le jour. Il est possible d'utiliser deux stratégies pharmacologiques différentes pour moduler l'acétylation des histones : cibler l'activité des HATs ou cibler celle des HDACs. Il est également possible de générer des souris transgéniques afin d'étudier l'implication de l'une ou l'autre de ces enzymes dans un processus donné.

3.1. Modulation des HATs

La modulation pharmacologique de l'activité des HATs est très peu utilisée, principalement en raison de leur incapacité à traverser les membranes cellulaires et la BHE. Les souris transgéniques sont ainsi le modèle le plus utilisé. Des lignées de souris génétiquement modifiées au niveau des gènes de différentes HATs, notamment CBP, PCAF et p300 existent ainsi aujourd'hui. J'en parlerai plus amplement dans la partie qui s'intéresse aux rôles des HATs dans la mémoire (*cf.* Rôle des HATs dans la mémoire paragraphe 4.1 de ce chapitre), car c'est quasiment exclusivement dans ce domaine d'étude que les souris transgéniques portant des mutations des HATs ont été utilisées.

3.1.1. Inhibiteurs des HATs

Il est possible **d'inhiber l'activité des HATs** pour en observer les conséquences et ainsi en étudier leur fonction. C'est cette approche que Gräff et collaborateurs (2012) ont utilisé pour démontrer le rôle de CBP et p300 dans la mise en place d'une mémoire dépendante de l'hippocampe, la reconnaissance de la localisation spatiale d'objets. L'inhibition de CBP et p300, par injection intrapéritonéale de C646, bloque les acétylations des résidus H3K14 et H4K5 (normalement augmentées suite à un tel apprentissage) dans l'hippocampe et entraîne des troubles mnésiques.

Il existe également des inhibiteurs spécifiques de p300 (Lys-CoA) et de PCAF (H3-CoA-20-Tat). L'inhibition des HATs est souvent utilisée dans le domaine de recherche en oncologie. Coffey et collaborateurs (2012) ont ainsi utilisé un inhibiteur spécifique de Tip60

dans une modèle de lignée cellulaire du cancer de la prostate (ce cancer est accompagné d'une augmentation de l'activité de Tip60), le NU9056 [1,2-bis(isothiazol-5-yl)disulfane]. Celui-ci s'avère capable de diminuer l'acétylation des histones et la prolifération des cellules cancéreuses (Coffey et coll., 2012).

3.1.2. *Activateurs des HATs*

Peu de molécules capables **d'activer les HATs** ont été utilisées dans le cadre de l'étude des mécanismes épigénétiques impliqués dans les processus mnésiques. La CTPB [*N*-(4-chloro-3-trifluorométhylphényl)-2-éthoxybenzamide] a été la première molécule (découverte en 2003) capable d'activer p300 sans moduler pour autant l'activité de PCAF *in vitro* (Balasubramanyam et coll., 2003). Malheureusement, cette molécule n'est pas capable de passer la BHE. Grâce à sa liaison covalente avec une nanosphère de carbone, appelée CSP (*carbon nanospheres*), Selvi et collaborateurs (2008) ont montré que CTPB était capable de passer le BHE, et ainsi d'activer p300 *in vivo*. Par ailleurs, CSP possède un fluorophore permettant ainsi de suivre sa répartition dans l'organisme après une injection systémique. Grâce à une collaboration avec le laboratoire du professeur Tapas Kundu (Transcription and Disease Laboratory, Jawaharlal Nehru Centre for Advanced Scientific Research (JNCASR), Bangalore, India), nous avons utilisé et caractérisé une nouvelle molécule, la CSP-TTK21. La molécule active, TTK21, était à l'origine dérivée d'acide anacardique, trouvé dans le liquide extrait de coquilles de noix de cajou. A l'heure actuelle, TTK21 est dérivé d'acide salicylique. TTK21 n'est pas capable de passer la BHE d'elle-même. Grâce à sa liaison covalente à une nanosphère de carbone, CSP, CSP-TTK21 est capable de passer la BHE, d'atteindre les cellules, de traverser les membranes nucléaires et ainsi d'activer CBP et p300 *in vitro*. CSP-TTK21 est capable d'augmenter l'acétylation des histones *in vivo*. La caractérisation de cette molécule a fait l'objet d'une publication en 2013 (Chatterjee et coll., 2013) qui est présentée dans la partie contribution expérimentale, Publication 1 de cette thèse.

D'autres études ont été réalisées sur des activateurs de HATs, notamment celle de Dal Piaz et collaborateurs (2010), qui ont caractérisé une nouvelle molécule, le nemorosone, capable d'activer p300 et d'augmenter l'acétylation des histones H3 et H4 dans des lignées cellulaires HeLa. Cependant, cette étude a été réalisée *in vitro*, ce qui ne permet pas de juger de l'efficacité de ces molécules lors de l'administration *in vivo*. En 2012, Wei et collaborateurs

ont utilisé un autre activateur des HATs, le SPV106 (pentadecylidenemalonate 1b) capable d’augmenter l’activité de PCAF et l’acétylation des histones. Son administration influence les capacités mnésiques : des souris WT injectées avec le SPV106 présentent de meilleures performances que les souris du groupe control lors d’un conditionnement de peur.

3.2. Modulation des HDACs

Pour augmenter le niveau d’acétylation, il est également possible d’empêcher les mécanismes de déacétylation **en inhibant les HDACs**. L’utilisation de modèles transgéniques permet d’étudier l’impact de la surexpression, d’une expression partielle ou de la délétion des HDACs (Guan et coll., 2009 ; McQuown et coll., 2011 ; Kim et coll., 2012). Cependant, l’utilisation de modèles présentant une délétion ou une surexpression laisse place à la mise en œuvre de mécanismes compensatoires au cours du développement. C’est pourquoi, le choix peut également se porter vers l’utilisation de modèles inductibles, qui permettent de choisir le moment et la zone cérébrale dans la/lesquelles la modification transgénique aura lieu. L’autre possibilité, souvent plus simple à mettre en œuvre est l’utilisation d’agents pharmacologiques. Les chercheurs utilisent des inhibiteurs des HDACs (iHDACs). Il en existe de différentes natures (dérivés naturels ou synthétiques), ciblant différentes classes de HDACs de manière plus ou moins spécifique. La figure 58 présente une liste non exhaustive des principaux iHDACs utilisés.

TABLE 1: HDAC isoforms and main used of pan-HDAC inhibitors.

Histone subtype	Protein	Localization	Main HDAC inhibitors
Class I (Zn ⁺⁺ -dependent)	HDAC1, 2, 3, and 8	Mainly nucleus	Valproic acid, butyrate, vorinostat, trichostatin A, RGFP136 (HDAC3)
Class IIa (Zn ⁺⁺ -dependent)	HDAC4, 5, 7, and 9	Nucleus/cytoplasm	Trichostatin A, phenylbutyrate
Class IIb (Zn ⁺⁺ -dependent)	HDAC6 and 10	Mainly cytoplasm	Tubacin (HDAC6), trichostatin A
ClassIII (NAD ⁺ -dependent)	Sirt1, 2, 3, 4, 5, 6, and 7	Nucleus/cytoplasm/Mitochondria	Nicotinamide, suramin (Sirt1 and Sirt2),
Class IV (Zn ⁺⁺ -dependent)	HDAC11	Mainly nucleus	

Figure 58 : Description des différentes histones déacétylases, leur localisation cellulaire ainsi que les molécules susceptibles de les inhiber. Figure extraite de la publication de Xu et coll., 2011.

La plupart des iHDACs sont capables de passer la BHE (Cremer et coll., 1977 ; Collins et coll., 1995 ; Chuang et al. 2009) ce qui explique qu’ils sont plus souvent utilisés que les activateurs des HATs. Cependant, certains iHDACs ont des difficultés à passer la BHE (mais aucune problème pour passer les membranes cellulaires). C’est le cas de la TSA

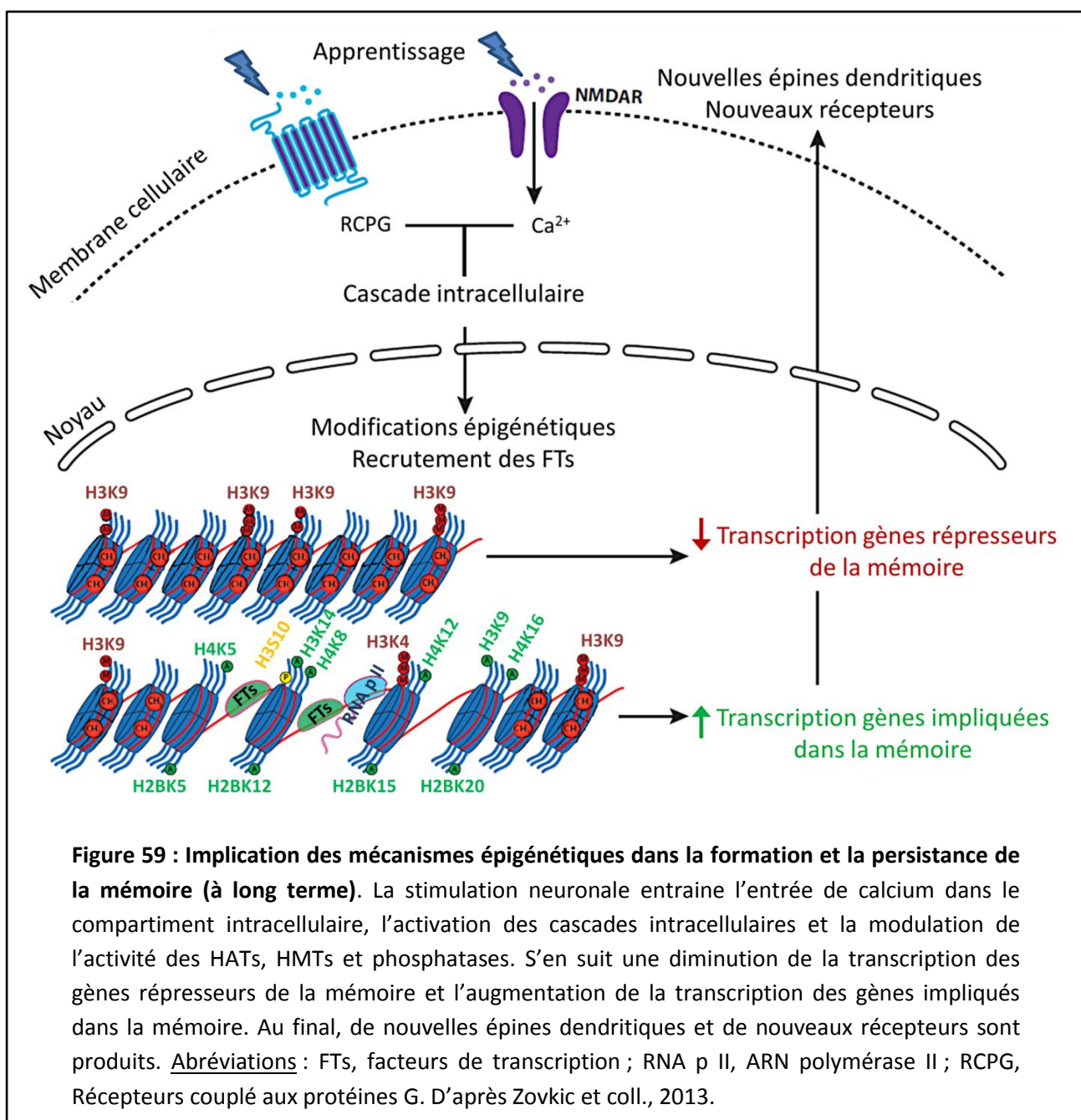
(trichostatine A) et du SAHA (Suberoylanilide hydroxamic acid) qui inhibent les HDACs dépendants du zinc soit la quasi-totalité des HDACs excepté les sirtuines. Ils sont généralement instillés directement dans les structures d'intérêt. L'acide valproïque (ou valproate, VPA) a d'abord été utilisé comme anticonvulsivant et stabilisateur d'humeur, avant que ses capacités d'inhibiteur des HDACs ne soient découvertes. Il inhibe les classes I et IIa des HDACs (Jeong et coll., 2003). Le sodium butyrate (NaBu) et le phénylbutyrate de sodium (PheBu) sont des dérivés d'acides gras qui inhibent les classes I et II des HDACs et passent facilement la BHE. Ils sont le plus souvent administrés de manière systémique. Le phénylbutyrate de sodium (PheBu) possède une autorisation de mise sur le marché pour le traitement des troubles du cycle de l'urée (Brusilow and Maestri, 1996). Plus récemment, ses capacités d'inhibition des HDACs (classe I et II) ont été étudiées. L'administration systémique de ce composant permet d'augmenter le niveau d'acétylation, et par ce fait d'activer la transcription de gènes impliqués dans le développement cellulaire, la prolifération et la plasticité synaptique (Wright et coll., 2004). Le PheBu est la deuxième molécule que j'ai utilisé (avec CSP-TTK21) au cours de ma thèse afin d'étudier les effets d'une modulation de l'acétylation (des histones) sur la mémoire spatiale chez les souris THY-Tau22 et WT (*cf.* Publication 2 dans la partie contributions expérimentales).

Les iHDACs sont souvent présentés comme non spécifiques en raison de leur capacité à inhiber des classes entières d'HDACs. Récemment, les avancées dans le domaine de la synthèse de composés pharmacologiques ont permis de mettre au point des iHDACs plus spécifiques : le MS-275 qui inhibe plus spécifiquement HDAC1 (Khan et coll., 2008) ou l'apicidine qui est capable d'inhiber les HDAC2, HDAC3 et HDAC8 sans moduler l'activité des HDACs de la classe II (Khan et coll., 2008). La romidepsine, aussi connue sous le nom de FK-228, inhibe spécifiquement les HDAC1 et HDAC2 tandis que la tubacine et la tubastatine A et l'ACY-738 sont capables d'inhiber HDAC6 exclusivement (Khan et coll., 2008 ; Selenica et coll., 2014 ; Cook et coll., 2014). La suramine inhibe les HDACs dépendantes de NAD, donc les HDACs de la classe III et plus spécifiquement les SIRT1 et 2.

Un traitement de longue durée ou à trop forte dose avec un iHDACs peut entraîner une neurotoxicité importante (Jeong et coll., 2003). Cette neurotoxicité pourrait être due à la levée de la répression transcriptionnelle de gènes impliqués dans l'apoptose (Biswas et coll., 2005).

4. MODIFICATIONS EPIGENETIQUE ET MEMOIRE

Les modifications épigénétiques des protéines histones sont des mécanismes fondamentaux impliqués dans la régulation de l'expression des gènes. La mise en place d'une mémoire dépend de la synthèse *de novo* de protéines et donc de la modification de l'expression des gènes impliqués dans la mémoire (Abel and Kandel, 1998). Les modifications épigénétiques régulent la formation mais également la persistance d'un souvenir (Zovkic et coll., 2013) en modulant l'expression de récepteurs membranaires, la formation de synapses ou la densité des épines dendritiques (Bailey et coll., 2004) (cf. Figure 59).



4.1. Rôles des HATs dans la mémoire

En 1979, Schmitt et Matthies furent les premiers à étudier le niveau d'acétylation des histones dans des cerveaux de rats soumis à un conditionnement de peur. Ils ont observé une augmentation de l'acétylation dans un grand nombre de structure cérébrale, augmentation encore plus marquée dans l'hippocampe dorsal. Plus de 30 ans plus tard, Swank et Sweatt (2001) ont observé une augmentation de l'acétylation des histones dans le cortex insulaire des souris WT soumis à un test de préférence alimentaire (la présentation d'une nouvelle nourriture est associée à un malaise gastrique induit par injection intrapéritonéale de chlorure de lithium). Le rôle des HATs dans les processus mnésiques a alors commencé à être très étudié et a fait l'objet d'un grand nombre de publications.

Les travaux de Levenson et collaborateurs (2004) font partis de ceux les plus cités, et pour cause : ces auteurs ont été les premiers à montrer que la mise place d'un conditionnement de peur au contexte entraîne une augmentation de l'acétylation de l'histone H3 sur son résidu K14 et que si cette augmentation n'a pas lieu (blocage des RNMDA et/ou inhibition de la voie intracellulaire d'ERK), la consolidation de ce conditionnement n'est pas possible. Ils ont également mis en évidence que l'augmentation de l'acétylation de H3K14, induite par l'administration systémique d'iHDACs (TSA), permet d'améliorer les performances mnésiques des rats traités par rapport aux rats non traités. Ainsi, les processus de mémorisation sont associés à une augmentation de l'acétylation des histones. En augmentant cette acétylation, les performances de mémoire sont améliorées mais en bloquant ces acétylations, les processus de mémorisation sont altérés.

En 2011, Lesburguères et collaborateurs ont étudié le rôle de l'acétylation des histones H3 dans l'hippocampe dorsal chez le Rat. Les auteurs ont utilisé une tâche de transmission sociale de préférence alimentaire, dont le rappel est dépendant de l'hippocampe à un délai court (1 jour) mais dépendant du cortex orbitofrontal à un délai long (30 jours). Le blocage de l'acétylation de H3, réalisé 1 heure après la fin de l'acquisition empêche le rappel d'une mémoire récente (1 jour). Ils ont ensuite évalué l'impact du blocage de l'acétylation de l'histone H3 dans l'hippocampe dorsal sur le rappel d'une mémoire ancienne. Ils ont ainsi administré un inhibiteur de l'activation des voies MAPK/ERK nécessaires à l'acétylation de l'histone H3. Ce traitement est administré spécifiquement dans l'hippocampe à deux délais

différents : soit dans les jours suivant l'acquisition (jours 1 à 7 post acquisition) soit à un délai plus long, entre les jours 15 et 21. Les auteurs ont observé que le blocage de l'acétylation de H3 au cours des jours suivant l'acquisition empêche le rappel d'une mémoire ancienne. Par contre, lorsque le blocage de l'acétylation de H3 dans l'hippocampe dorsal est réalisé plus tardivement (entre les jours 15 à 21 post acquisition), le rappel de la mémoire ancienne n'est pas déficitaire. Par ailleurs, en augmentant artificiellement le niveau d'acétylation des histones par l'administration d'iHDACs (NaBu) spécifiquement dans le cortex orbitofrontal, ils ont observé que les performances de rappel (à un délai long) des animaux traités étaient meilleures que celles des animaux contrôles, et ce uniquement lorsque l'administration du NaBu avait eu lieu dans les quatre jours suivant l'acquisition. Ces résultats indiquent que : 1) l'acétylation de H3 au sein de l'hippocampe est nécessaire au rappel d'une mémoire récente ; 2) l'hippocampe est responsable de l'augmentation de l'acétylation de H3 dans le cortex orbitofrontal, et cette augmentation de l'acétylation dans le cortex orbitofrontal est nécessaire au rappel d'une mémoire ancienne ; 3) l'augmentation de l'acétylation de H3 dans le cortex orbitofrontal doit avoir lieu dans les jours suivant l'acquisition, à un délai où cette structure n'est pas encore impliquée dans les performances de rappel. A partir de ces différentes observations, les auteurs ont développé la théorie de « tagging ». Dans les jours suivant l'apprentissage d'une tâche, l'hippocampe va marquer les neurones du cortex orbitofrontal (tagging), et entraîner une augmentation de l'acétylation de H3 dans ces neurones, qui seront alors impliqués dans le rappel de la tâche à un délai long. Ces résultats indiquent clairement que les modifications épigénétiques sont au centre des processus de consolidation systémique.

4.1.1. Rôles de CBP

Alarcón et collaborateurs (2004) furent les premiers à utiliser des souris CBP^{+/-} afin d'évaluer l'influence de **CBP** sur l'acétylation des histones et son implication dans les processus mnésiques. Ils ont montré que la mutation de CBP entraîne une baisse de l'acétylation de l'histone H2B, associée à une diminution de la PLT, à des troubles de la mémoire de reconnaissance d'objet et de conditionnement de peur au contexte. L'ensemble de ces déficits sont restaurés suite à l'administration de SAHA, indiquant que ces troubles sont liés, de manière directe ou indirecte, à une altération des mécanismes permettant l'acétylation des histones. CBP et les acétylations qu'elle permet joue donc un rôle important

dans l'acquisition et/ou la consolidation d'une mémoire. La même année, Korzus et collaborateurs ont montré que l'expression de CBP sans son domaine HAT (une mutation du gène codant pour CBP, dont l'expression est restreinte à l'hippocampe) n'altère pas les performances à court terme (30 minutes) mais entraîne des troubles du rappel à long terme (24 heures) d'une mémoire hippocampo-dépendante (reconnaissance de la localisation spatiale d'objets). Ces résultats indiquent que c'est principalement la fonction HAT de CBP, et pas uniquement sa fonction de cofacteur, qui est impliquée dans la consolidation à long terme d'une mémoire. Lorsque l'augmentation de l'acétylation que CBP assume n'a pu lieu, la consolidation d'une mémoire à long terme est impossible.

D'autres auteurs ont étudié le rôle de **CBP** dans la mémoire par l'utilisation de souris transgéniques. Wood et collaborateurs (2006) ont montré que la mutation de CBP (CBP tronquée de manière hétérozygote et inductible, les souris CBP Δ 1), entraîne des troubles en mémoire spatiale de référence. Barrett et collaborateurs (2011) ont utilisé des souris présentant une triple mutation sur le gène de CBP (T650A, A654G et T658A dans le domaine KIX entraînant un déficit de liaison de CBP à CREB). Ces souris présentent des troubles en mémoire spatiale, une altération de la PLT, une hypoacétylation des histones H2A, H2B, H3 et H4. Valor et collaborateurs (2011) ont montré que cette hypoacétylation est particulièrement marquée sur les histones H2A et H2B, indiquant le rôle de CBP dans l'acétylation de ces deux histones. Chen et collaborateurs (2010) ont montré que des souris CBP KO inductible dans le cerveau antérieur présentent des troubles de la MCT dans une tâche de reconnaissance de la localisation spatiale d'objets et dans une tâche de conditionnement de peur. Des données obtenues au laboratoire ont montré que la consolidation d'une mémoire spatiale chez le Rat est associée à l'augmentation de l'expression de CBP (dans la région CA1 de l'hippocampe) et une augmentation de l'acétylation de H2B sur les promoteurs de gènes impliqués dans la mémoire (*Bdnf-eIV*, *c-Fos*, *Zif268*). L'acétylation des histones H3 et H4 est également augmentée. La lésion des entrées principales de l'hippocampe (cortex entorhinal et septum médian) abolit cette augmentation de l'expression de CBP et de H2B acétylé (Bousiges et coll., 2010), indiquant l'importance de l'hippocampe et des modifications épigénétiques qui s'y déroulent dans les processus de consolidation. Des données supplémentaires publiées en 2013 (Bousiges et coll., 2013) ont permis d'affiner ces résultats. Ces auteurs ont mis en évidence que

l'acétylation des résidus H3K9 et H3K14 est élevée chez les rats du groupe contrôle, c'est-à-dire ceux qui doivent seulement nager vers une plate-forme visible (piscine de Morris), ou à qui seul le son est présenté sans qu'aucun choc n'y soit associé lors d'un conditionnement de peur au contexte. Ces résultats indiquent que ces deux marques épigénétiques (H3K9ac et H3K14ac) sont plus dépendantes du traitement de l'information contextuelle que du processus de consolidation. Les auteurs ont également observé une augmentation de certaines marques épigénétiques telles que H2Bac (K5, K12, K15 et K20) et H4K12ac, mais cette fois-ci uniquement chez les Rats qui doivent apprendre la localisation de la plate-forme dans la piscine de Morris ou l'association choc-contexte dès le premier jour d'acquisition. Ils ont constaté que ces marques épigénétiques sont présentes dès le premier jour d'acquisition, et proposent ainsi que cette acétylation rapide permet d'induire la transcription de gènes impliqués dans la consolidation d'une mémoire, tandis que les acétylations intervenant par la suite, dans les jours suivant d'acquisition, influencent la persistance de la mémoire.

L'ensemble de ces études s'accorde à dire que CBP est impliquée dans les processus de mémorisation et plus particulièrement dans les processus de mémorisation à long terme.

4.1.2. Rôles de p300

En utilisant un modèle de souris transgéniques exprimant la protéine **p300** sous une forme tronquée, Oliveira et collaborateurs (2007) ont été les premiers à mettre en évidence le rôle de p300 dans la mémoire à long terme. Aucune altération en mémoire spatiale à court terme n'a été trouvée chez ces souris transgéniques : elles présentent des performances similaires à celles des souris WT dans un test de reconnaissance d'objet à un délai de 30 minutes. Par contre, les souris transgéniques ne reconnaissent pas le nouvel objet lorsque le rappel est effectué à 24 heures. Les auteurs ont aussi évalué les performances mnésiques de ces souris dans un test de conditionnement de peur au son ou au contexte afin d'évaluer l'implication de p300 dans une tâche dépendante de l'hippocampe. Tandis que les souris transgéniques présentent une peur conditionnée au son comparable aux souris WT à un délai de 1 heure, la peur conditionnée au contexte est altérée à 24 heures (ce qui n'est pas le cas à 1 heure). Les auteurs concluent de l'importance de p300 dans la consolidation à long terme d'une mémoire dépendante du contexte

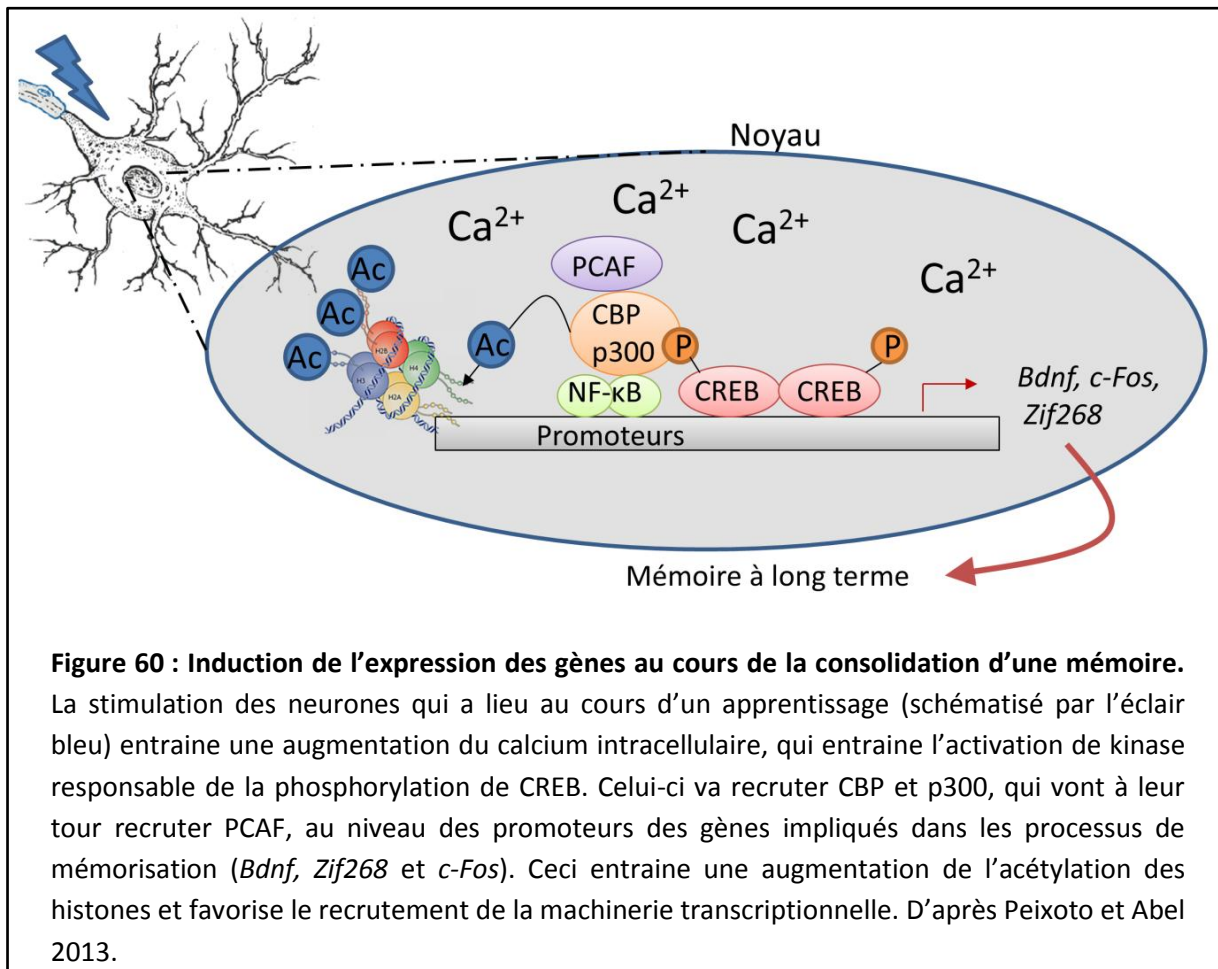
(conditionnement de peur au contexte), tandis que cette HAT ne semble pas impliquée dans la MCT. Ces résultats indiquent que p300 est impliquée dans les processus de mémorisation à long terme, et ce de manière plus spécifique que CBP, puisqu'elle n'influence que les mémoires dépendantes du contexte (et donc dépendante de l'hippocampe).

4.1.3. Rôles de PCAF

Maurice et collaborateurs (2008) se sont intéressés à l'implication de **PCAF** dans les processus mnésiques en utilisant un modèle de souris transgéniques PCAF KO. Ces souris présentent une diminution importante du nombre de neurones dans la région CA1, des déficits en mémoire de travail et des troubles en mémoire spatiale, bien qu'aucune altération de l'acétylation de H3 et H4 n'ait été trouvée. Ces résultats indiquent que PCAF est impliquée dans les processus de mémorisation, mais contrairement à CBP, son implication ne semble pas directement liée à sa capacité à acétyler les histones H3 et H4. Cependant, comme l'altération du fonctionnement de PCAF entraîne des déficits de mémorisation, il est possible que PCAF agisse comme un facteur de transcription, favorisant le recrutement de complexes protéiques nécessaires à l'encodage et à la consolidation d'une trace mnésique dans l'hippocampe.

En 2012, Wei et collaborateurs ont montré que PCAF est impliquée dans la régulation de l'extinction d'un conditionnement de peur au contexte. Ils ont observé que la consolidation d'une peur conditionnée au contexte est associée à une augmentation de l'activité de PCAF dans le cortex infralimbique (une sous-région du cortex préfrontal). Lorsque les auteurs ont potentialisé l'activation PCAF (administration systémique de SPV106) ; ils ont observé une facilitation de la consolidation de ce type de mémoire et l'inhibition de son extinction. Les auteurs indiquent que le rôle de PCAF dans l'extinction d'un conditionnement de peur est notamment lié à son rôle de cofacteur. Ainsi, PCAF recrute de manière transitoire le facteur de transcription ATF4 (*Activating Transcription Factor 4*) au niveau du promoteur du gène immédiat *Zif268*, entraînant une diminution de sa transcription. En conditions physiologiques, les auteurs proposent que PCAF inhibe l'extinction de la peur conditionnée au contexte en interférant avec les facteurs responsables de la reconsolidation de la trace mnésique originale (et donc de l'extinction).

Pour conclure, ces différentes études suggèrent l'importance des HATs et notamment de p300, PCAF et CBP dans la consolidation de la mémoire. Les HATs sont capables d'augmenter le niveau d'acétylation des histones ce que favorisent la décompaction de l'ADN qui est alors rendu accessible aux facteurs de transcription mais elles sont également capable de favoriser le recrutement des facteurs de transcription.



Les HATs sont impliquées dans d'autres processus physiologiques et notamment dans l'embryogenèse (mutation de *p300* et de *Gnc5* entraîne une mort fœtale, Tanaka et coll., 1997 ; Oike et coll., 1999), le développement de cancers (Isharwal et coll., 2008), la différenciation (Giordano et Avantaggiati, 1999) et la prolifération cellulaire (l'altération du fonctionnement de *p300* engendre des troubles du développement du cœur (Marmorstein et Roth, 2001). Hasan et Hottiger (2002) ont publié une revue décrivant le rôle des HATs dans la réparation de l'ADN et dans sa répllication *via* l'interaction de certaines HATs, comme *p300*, avec des composants cellulaires (comme les PCNA, *Proliferating Cell Nuclear Antigen*), nécessaires à ces deux fonctions.

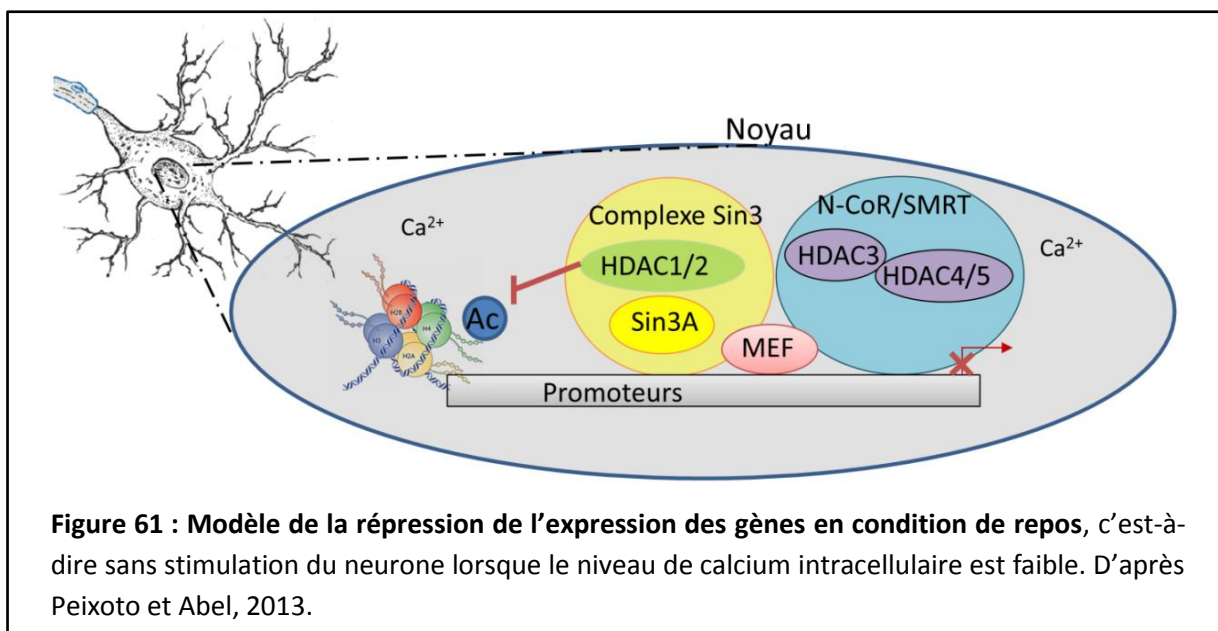
4.2. Rôles des HDACs dans la mémoire

Le rôle des **HDACs dans la mémoire** a fait et fait encore l'objet d'un nombre important d'études. Dans la plupart d'entre-elles, les auteurs ont utilisé des iHDACs et ont mis en évidence que ce genre de traitement favorise la formation et régule la consolidation à long terme d'une mémoire (Levenson et coll., 2004 ; Levenson et Sweatt, 2005 ; Stefanko et coll., 2009).

L'instillation intra-hippocampique de TSA, un iHDACs, permet par exemple d'augmenter les performances mnésiques chez des jeunes souris WT testées dans un paradigme de conditionnement de peur au contexte, indiquant le rôle de l'acétylation dans les processus mnésiques (Vecsey et collaborateurs, 2007). Ces auteurs ont également montré que cet effet pro-mnésique est dépendant de la transcription de CREB et de CBP, puisque l'administration de VPA n'a pas d'impact sur les performances mnésiques de souris présentant une mutation génétique du domaine de liaison de CBP vers phospho-CREB (souris CBP^{KIX/KIX}). Haettig et collaborateurs (2011) ont retrouvé le même type de résultats avec le NaBu, dont l'administration améliore les performances à long terme dans un test de reconnaissance spatiale des objets. Cet effet est lié à un mécanisme dépendant de CBP puisque l'effet bénéfique du NaBu n'est pas retrouvé chez des CBP^{KIX/KIX}. Stefanko et collaborateurs (2009) ont démontré que l'administration de NaBu permet d'améliorer l'apprentissage d'une tâche hippocampo-dépendante (le test de reconnaissance de la localisation spatiale d'objets). Ainsi, suite à l'injection systémique de NaBu, les souris traitées sont capables de restituer une information apprise dans des conditions qui n'entraînent pas de consolidation en MLT chez des souris contrôles.

Certains auteurs ont étudié le rôle des HDACs dans les processus mnésiques en utilisant des souris transgéniques présentant des mutations au niveau des HDACs. En 2009, Guan et ses collaborateurs ont mis en évidence que **HDAC2** agit comme un répresseur de mécanismes impliqués dans les processus mnésiques : la surexpression de HDAC2 altère la formation des épines dendritiques dans l'hippocampe et entraîne l'apparition de troubles de consolidation en mémoire spatiale (test de la piscine de Morris). Inversement, sa délétion (KO HDAC2) induit une nette amélioration des performances de rappel et les cellules pyramidales de l'hippocampe présentent une arborisation dendritique plus complexe que

chez les souris WT. Ces auteurs ont également montré que HDAC2 agit principalement sur la déacétylation des histones H2B et H4 (H4K12 et H4K5). HDAC2 serait responsable de la répression (par la déacétylation ou le recrutement de cofacteurs répressifs) de gènes impliqués dans la mise en place d'une mémoire (*Fos*, *Erg1*, *Bdnf-el*), dans la formation synaptique (*Nrxn1*, *Psd95*) et dans la plasticité synaptique (*NR2b* et *NR2a*, *GLUR1*, *Creb*, *Cbp*) (cf. Figure 61). McQuown et collaborateurs (2011) ont évalué les conséquences de la délétion de **HDAC3**, spécifiquement dans l'hippocampe, dans une tâche de reconnaissance de la localisation spatiale d'objets. Ils ont observé que les souris HDAC3 KO présentent de meilleures performances en mémoire à long terme en comparaison de souris WT. Ces résultats suggèrent que HDAC3 puisse être à l'origine de la répression de mécanismes impliqués dans les processus mnésiques puisque sa délétion améliore les performances mnésiques (cf. Figure 61).



Kim et collaborateurs (2012) ont prouvé que **HDAC4** est nécessaire à la mémoire. En utilisant des souris **HDAC4** KO inductibles et de manière région-spécifique, ils ont observé que les souris KO présentent des troubles de la plasticité synaptique et de la formation de mémoires dépendantes de l'hippocampe (conditionnement de peur au contexte et mémoire spatiale dans le test de la piscine de Morris).

L'acétylation des histones est impliquée dans la régulation de l'expression de gènes, expression nécessaire au développement, à la mise en place et au maintien d'une trace mnésique.

5. LE VIEILLISSEMENT ET LES MODIFICATIONS EPIGENETIQUES

Le **vieillessement** est généralement associé à une diminution des fonctions physiologiques des cellules (diminution de la plasticité et de la neurogenèse) et des fonctions cognitives. Penner et collaborateurs (2011) postulent que les troubles mnésiques observés chez les personnes âgées soient consécutifs à des changements de l'expression de gènes impliqués dans les processus de consolidation et de plasticité synaptique (*Zif268, Arc, Bdnf*).

Lu et collaborateurs (2004) ont montré que le vieillissement est accompagné d'une augmentation globale de la méthylation des gènes chez l'Homme avec l'âge. Il y aurait donc une diminution de la transcription des gènes en raison de l'hyperméthylation de l'ADN. Le vieillissement est également associé à des dérégulations de la méthylation des histones. En étudiant des souris de 3 mois et de 18 mois, Oliveira et collaborateurs (2012) ont observé une diminution de l'expression de la *Dnmt3a2* dans l'hippocampe des souris âgées. Chez les souris de 3 mois, l'apprentissage d'une tâche dépendante de l'hippocampe entraîne une augmentation de l'expression de la *Dnmt3a2* dans cette structure. Cette augmentation n'a plus lieu chez les souris âgées, qui présentent également des déficits dans des tâches de conditionnement de peur au contexte et de reconnaissance de la localisation spatiale d'objets. La restauration du niveau d'expression *Dnmt3a2* (instillation intra-hippocampique d'un adénovirus contenant la séquence de *Dnmt3a2*) entraîne une augmentation du niveau de méthylation et une restauration des capacités mnésiques dans ces deux tâches. Le vieillissement est donc associé à une altération de la méthylation des histones qui pourrait être à l'origine des troubles cognitifs observés.

Peleg et ses collaborateurs (2010) ont mené une étude associant des analyses comportementales (en conditionnement de peur au contexte), des analyses de l'expression de gènes et du niveau d'acétylation chez des souris WT jeunes (3 mois) ou âgées (16 mois). La mise en place d'une mémoire à long terme de peur conditionnée au contexte entraîne l'apparition de plusieurs marques épigénétiques spécifiques : l'acétylation des résidus H3K9, H3K14, H4K5, H4K8 et H4K12 dans l'hippocampe. L'ensemble de ces modifications sont conservées chez les souris de 16 mois à l'exception de l'une d'entre elle, l'acétylation de H4K12. Les auteurs se sont plus particulièrement intéressés au degré d'acétylation de H4K12 au niveau des promoteurs des gènes associés au processus mnésiques. Ils ont observé que le

degré d'acétylation de H4K12 était amoindri chez les souris de 16 mois par rapport à celui retrouvé chez les souris 3 mois. Puis ils ont mis en évidence que l'instillation intra-hippocampique de SAHA, un iHDACs, permet de rétablir les performances mnésiques chez les souris âgées et le niveau d'acétylation de H4K12 sur les promoteurs des gènes impliqués dans la mémoire. Les troubles mnésiques qui apparaissent avec l'âge seraient la conséquence d'une diminution de l'expression des gènes nécessaires à la mémorisation.

Walker et collaborateurs (2013) ont montré que le vieillissement, chez les souris WT (2 à 21 mois) s'accompagne d'une diminution drastique de l'acétylation de H4 (tandis que l'acétylation de l'histone H3 n'est pas changée), accompagnée d'une augmentation de la di-méthylation de H3K9. La di-méthylation de H3K9 est associée à la répression de l'expression du *Bdnf*. Ils ont mesuré une diminution de 20% à 11 mois et de 50 % à 21 mois du *Bdnf*. L'âge est associé à une diminution de l'expression de gènes impliqués dans les processus de plasticité synaptique.

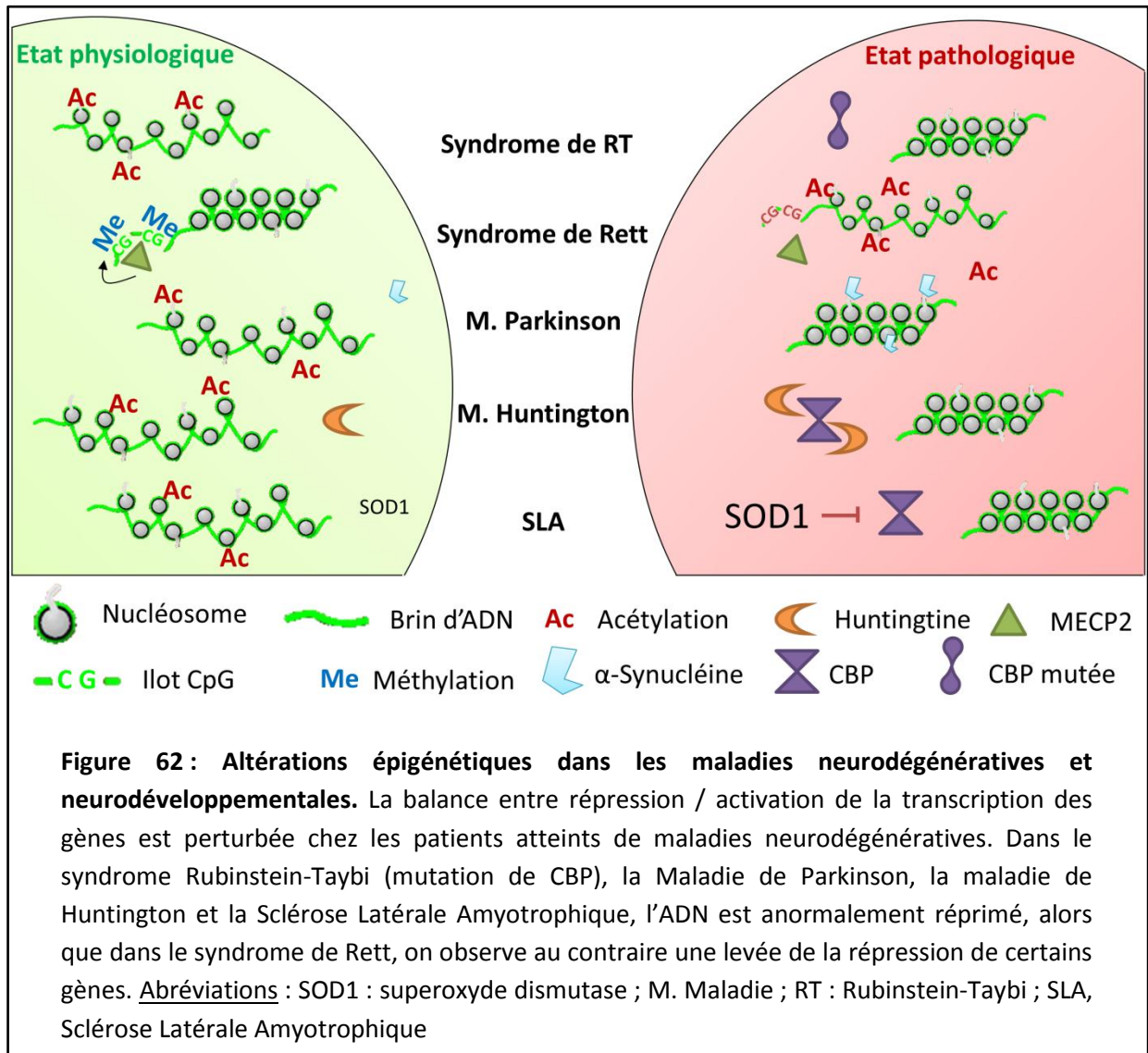
Le vieillissement serait donc associé à des changements transcriptionnels, en lien avec des modulations de l'activité des enzymes impliquées dans les modifications épigénétiques. Ces changements altèreraient la transcription de l'expression de gènes impliqués dans les processus de consolidation et de plasticité synaptique (*Zif268, Arc, Bdnf*) et entraînerait les troubles mnésiques observés (Huidobro et coll., 2013).

6. MODIFICATIONS EPIGENETIQUES DANS LES MALADIES NEURODEGENERATIVES

De plus en plus d'études suggèrent que des dérégulations épigénétiques jouent un rôle dans les troubles mnésiques et dans le développement des maladies neurodégénératives. Des dérégulations épigénétiques ont été trouvées dans différentes maladies neurodégénératives et neurodéveloppementales (cf. Figure 62). Parmi les mécanismes proposés, on retrouve :

- une levée de la répression des gènes impliqués dans le développement cérébral en raison de la mutation de **MECP2** comme dans le syndrome de Rett. MECP2 se lie normalement aux îlots CpG et réprime ainsi l'expression de gènes *via* le recrutement des HDACs. En raison de sa mutation, il n'est plus capable de recruter les HDACs, ce qui entraîne une augmentation de l'acétylation des histones et la surexpression de gènes, altérant le développement du SNC (Amir et coll., 1999).
- la séquestration des HATs : la protéine **Huntingtine** dans la maladie de Huntington présente une queue polyglutamine anormalement longue en raison d'une mutation au sein du gène la codant (répétition anormale d'un triplé CAG). Plus la protéine Huntingtine a une queue polyglutamine longue, plus elle va interagir avec CBP et diminuer le niveau d'acétylation des histones H3 et H4 (Steffan et coll., 2001 ; Nocifera et coll., 2001).
- l'interaction anormale des protéines avec les protéines histones : **l' α -synucléine**, dans la maladie de Parkinson, interagit avec les protéines histones qui ne peuvent plus être normalement acétylées (Kontopoulos et coll., 2006).
- l'inhibition de CBP : dans un modèle murin de sclérose latérale amyotrophique (expression de la superoxyde dismutase (SOD) présentant la mutation G86R), Rouaux et collaborateurs (2007) ont montré que CBP était particulièrement réduit dans les motoneurons en dégénérescence. La surexpression de la **SOD** mutée entraîne donc une répression de l'expression de CBP.

Il a été montré que l'administration d'iHDACs a des effets neuroprotecteurs dans un grand nombre de pathologies du système nerveux central telles que la maladie d'Huntington (Ferrante et coll., en 2003 ; Gardian et coll., 2005), dans la maladie de Parkinson (Harrison et Dexter, 2013), ou dans la sclérose latérale amyotrophique (Ryu et coll., 2005).



7. MODIFICATIONS EPIGENETIQUES DANS LA MALADIE D'ALZHEIMER

Au vu de l'effet modéré des traitements actuellement disponibles, des troubles mnésiques observés dans la **MA** et de l'importance des modifications épigénétiques dans la persistance des souvenirs, de nombreuses études tentent de mettre en évidence une éventuelle étiologie épigénétique à la MA. Le lien entre les dérégulations épigénétiques (touchant les mécanismes de méthylation et/ou d'acétylation) observées dans la MA et les troubles mnésiques qui la caractérisent n'est toujours pas clairement établie, mais plusieurs hypothèses font actuellement l'objet de recherches : une hypométhylation de l'ADN ou une diminution de l'acétylation des histones (soit par l'augmentation de l'activité des HDACs soit par la diminution de celle des HATs).

7.1. Méthylation de l'ADN

En 2009, Mastroeni et collaborateurs ont étudié les modifications épigénétiques dans les cerveaux de deux jumeaux dont l'identité génétique est en tous points similaires, mais dont seul l'un est atteint de la MA. Ils ont montré que celui atteint de la MA présente une **diminution** importante de la **méthylation de l'ADN** dans les neurones du cortex temporal antérieur par rapport à son jumeau ne souffrant pas de la MA. C'est la première fois que, malgré une similarité génétique parfaite, un phénotype aussi différent est observé, appuyant ainsi le rôle des modifications épigénétiques dans le développement de la MA. Une année plus tard, Mastroeni et collaborateurs ont montré que le niveau de méthylation de l'ADN des neurones du cortex entorhinal est diminué de manière dramatique dans 10 cerveaux de patients atteints de la MA. Ils ont par ailleurs observé que cette diminution est d'autant plus marquée dans les neurones présentant des DNFs, faisant ainsi l'hypothèse que la méthylation des histones, et plus particulièrement sa diminution, pourrait être à l'origine du développement de la MA.

7.2. Acétylation des histones

Certains auteurs proposent que les dérégulations épigénétiques, et notamment l'acétylation anormale des histones, seraient impliquées dans l'étiologie de la MA et seraient la cause des symptômes observés (Xu et coll., 2011). Une diminution de l'acétylation des histones peut avoir deux origines : la diminution de l'activité des HATs

(responsable de l'acétylation) ou l'augmentation de l'activité des HDACs (responsable de la déacétylation).

7.2.1. Rôles des HATs

L'hypothèse d'une **perte de l'activité des HATs** au cours du vieillissement pathologique, comme dans la MA, a été soulevée par différents auteurs, et reste un domaine de recherche très actif (Rouaux et coll., 2004 ; Saha et Pahan, 2005 ; Abel et Zukin, 2008 ; Stilling et Fischer, 2011 ; Konsoula et Barile, 2012 ; Peixoto et Abel, 2013).

Dès 2001, Cao et Südhof ont remarqué que le domaine intracellulaire de l'APP interagit avec Tip60, entraînant ainsi une diminution de sa fonction HAT. En 2013, Johnson et ses collègues ont démontré que l'APP interagit anormalement avec Tip60 dans un modèle drosophile de la MA et que cette interaction est à l'origine de troubles du transport axonal des vésicules. La restauration du niveau de Tip60 (MS-275) permet de rétablir le transport axonal et restaure en partie l'enrichissement de l'acétylation de l'histone H4 sur les promoteurs des gènes impliqués dans ce mécanisme.

Dans une étude publiée en 2004, Saura et ses collègues ont fait partie des premiers à chercher un lien éventuel entre la MA, les modifications épigénétiques et les troubles mnésiques. En utilisant des souris transgéniques portant des mutations sur les gènes de la PS1 et PS2, Saura et collaborateurs ont mis en évidence une diminution de l'expression de CBP, avec pour conséquence la diminution de l'expression des gènes dont la transcription est régulée par CBP (*c-Fos*, *Bdnf* ou encore *Zif268*), ainsi que des troubles en mémoire spatiale. En utilisant également un modèle transgénique amyloïde (c'est-à-dire qui développent des plaques séniles comme celles observées dans la MA), Francis et collaborateurs (2009) ont prouvé que l'induction de l'acétylation de l'histone H4 normalement observée suite à un conditionnement de peur, est diminuée de presque 50 % dans un modèle de souris de la MA (APP/PS1). L'administration systémique de TSA permet de rétablir le niveau d'acétylation de H4 mais également les déficits de la PLT observés. Les mutations de la PS1 et/ou de l'APP entraînent donc une diminution anormale de l'activité de CBP.

En utilisant des souris transgéniques PCAF KO, Duclot et collaborateurs (2010) ont étudié le lien entre PCAF et la toxicité amyloïde. En instillant des peptides A β ₂₅₋₃₅ de manière intra-cérébro-ventriculaire (partie favorisant l'agrégation du peptide amyloïde et engendrant sa toxicité, Maurice et coll., 1996 ; Kubo et coll., 2002) ces auteurs ont constaté une différence marquée en termes d'atteinte mnésique et physiopathologique entre les souris WT et celles PCAF KO. Les souris WT présentent une forte diminution de la quantité de cellules pyramidales dans la région CA1 (20%), des troubles en MdT (alternance spontanée évaluée dans le labyrinthe en Y), et en mémoire spatiale de référence (piscine de Morris) ainsi qu'une augmentation importante des marqueurs physiologiques du stress oxydatif (caspase3 et caspase12). Ces différents traits ne sont pas retrouvés chez les souris PCAF KO, qui présentent une résistance à la toxicité du peptide A β ₂₅₋₃₅. Les auteurs postulent qu'en l'absence de PCAF, Tip60 prendra le relai par un mécanisme compensatoire prend le relai encore mal connu, et serait capable d'augmenter l'activité de NEP (neprisyline, une endopeptidase), en partie responsable de la dégradation du peptide A β . Dans ce cadre-là, inhiber l'activité de PCAF semblerait avoir des effets bénéfiques sur le développement de la MA.

Liu et ses collègues (2012) ont découvert la présence en quantité anormalement élevée d'une protéine capable d'inhiber p300 et de CBP, la EID1 (*EP300 interacting inhibitor of differentiation*), dans des cerveaux de patients atteints de la MA. Ils ont créé un modèle de souris transgéniques afin d'étudier l'effet de la surexpression de cette protéine sur les performances mnésiques des souris ainsi que l'aspect neurotoxique de cette protéine. Ces souris présentent une désorganisation des neurofilaments comme celle typiquement relevée chez les patients Alzheimer ainsi que des troubles en mémoire spatiale. Cette étude a permis de mettre en évidence que l'inhibition de CBP / p300, par EIP1, engendre la genèse de troubles mnésiques et physiologiques similaires à ceux observés chez les patients atteints de la MA.

Ainsi, une diminution du niveau d'acétylation des histones, en raison de la baisse de l'activité de CBP, p300, PCAF ou encore Tip60, a été observée dans les modèles murins de la MA. L'activité des différentes HATs étant cruciale dans la mise en place d'une mémoire (*cf.* Partie 4.1, Rôles des HATs dans la mémoire de ce chapitre), ce déséquilibre pourrait être la cause des troubles mnésiques observés dans la MA.

7.2.2. Rôles des HDACs

Une diminution de l'acétylation des histones peut également être consécutive à **l'augmentation de l'activité des HDACs**. De nombreuses expériences, menées sur des modèles murins de la MA, ont étudiées l'impact de l'administration d'iHDACs. Dans la majorité d'entre elles, les auteurs ont observés une restauration des performances mnésiques (Fischer et coll., 2007 ; Ricobaraza et coll., 2009, 2011 et 2012 ; Wiley et coll., 2011 ; Gräff et Tsai, 2013), accompagnée dans certains cas d'une diminution des marqueurs physiopathologiques de la MA (Zhang et Schluesener, 2013).

En 2007, Fischer et ses collaborateurs, ont montré que l'instillation intra-cérébro-ventriculaire de NaBu permet de restaurer les capacités mnésiques et le nombre d'épines dendritiques dans l'hippocampe et le cortex cingulaire de souris CK-p25. Ces souris surexpriment la kinase cdk5, qui est anormalement élevée chez les patients souffrant de la MA. En utilisant le même modèle de souris, Gräff et collaborateurs (2012) ont étudié les modifications épigénétiques qui pourraient être altérées lors de la consolidation à long terme, fonction déficitaire dans la MA. Les souris CK-p25 présentent des déficits de consolidation d'une mémoire spatiale et d'une peur conditionnée au contexte. Les auteurs ont détecté une surexpression de HDAC2 (mais pas de changement au niveau de HDAC1 et HDAC3) dans la région CA1 de l'hippocampe et dans le cortex frontal de ces souris. De plus, HDAC2 est particulièrement présent au niveau des promoteurs des gènes impliqués les fonctions mnésiques (*Bdnf-eIV*, *Zif268*, *Homer1*) et dans la plasticité synaptique (*GluR1*, *GluR2*, *NR2A* et *NR2B*) chez les souris transgéniques. La surexpression de HDAC2 est donc responsable de la répression de gènes impliqués dans la mémoire et la neuroplasticité, ce qui pourrait expliquer les troubles cognitifs observés chez ces souris. Les auteurs ont retrouvé cette surexpression de HDAC2, accompagnée de son accumulation dans les neurones pyramidaux de CA1 chez des patients Alzheimer. La surexpression de HDAC2 pourrait ainsi expliquer les troubles mnésiques observés chez les patients atteints de la MA.

Ricobaraza et collaborateurs (2009), ont mis en évidence que l'administration de PheBu permet de restaurer les performances de mémoire spatiale, le niveau d'acétylation des histones, et l'expression de protéines synaptiques chez des souris Tg2576 de 16 mois. Trois ans plus tard, ces auteurs ont montré que la restauration des capacités mnésiques est

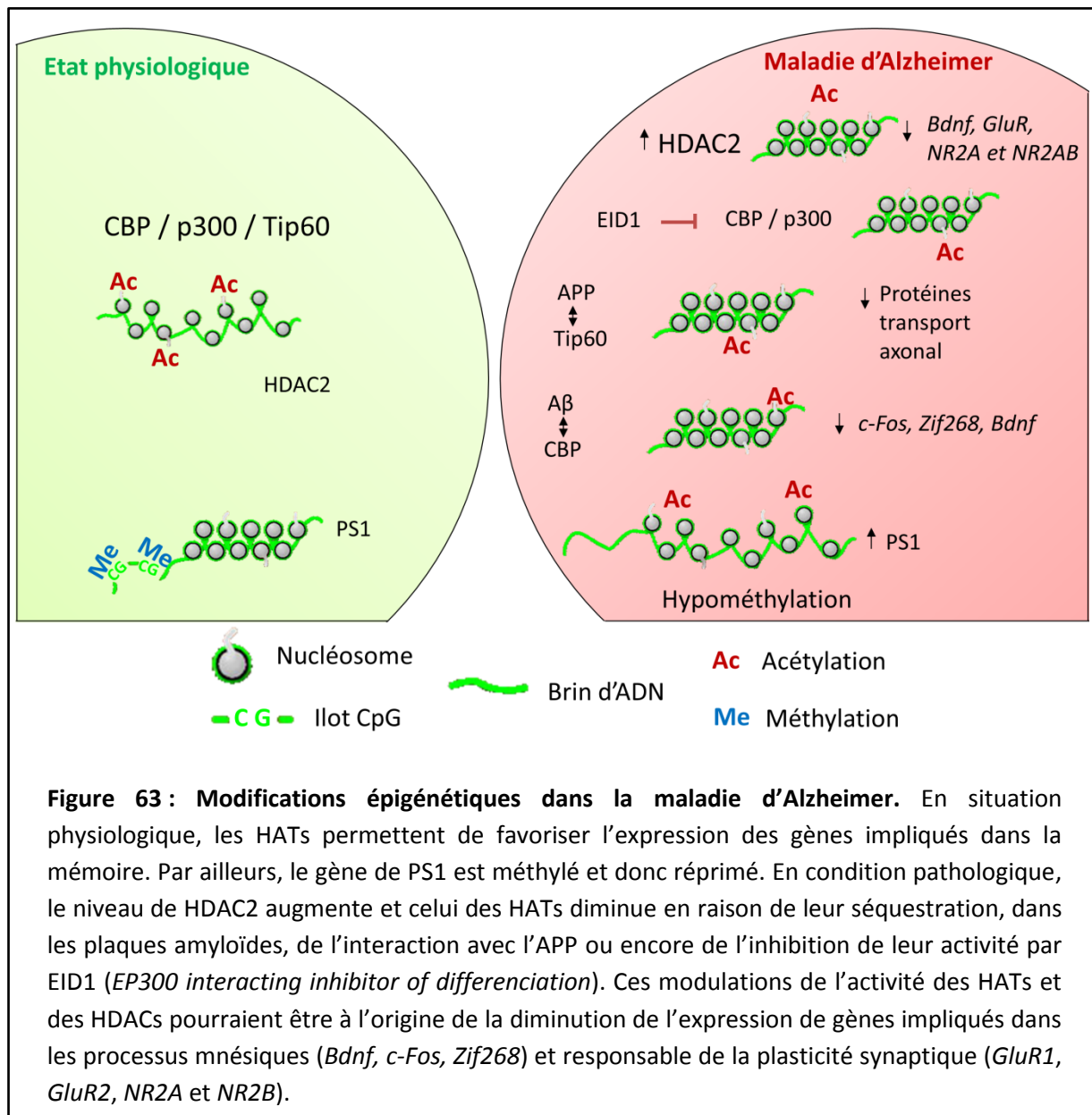
probablement liée au rétablissement du nombre d'épines dendritiques sur les neurones principaux de CA1 ainsi qu'à la diminution des DNFs observée chez ces souris après administration du PheBu. (Ricobaraza et coll., 2009, 2011 et 2012).

Wiley et ses collaborateurs (2011) ont montré que l'administration systémique (*via* l'eau de boisson) de PheBu à des souris APP/PS1 Δ 9 favorise la protéolyse de l'APP par la voie non amyloïdogène et diminue ainsi l'étendue des plaques séniles. Les auteurs expliquent la restauration des performances mnésiques (piscine de Morris) induite par le PheBu par l'augmentation de l'expression des récepteurs impliqués dans la mise en place et le maintien de la plasticité synaptique (mGluR1, GluR1, GluR2, GluR3 et AMPA).

Il semblerait que certaines HDACs favorisent le développement des plaques séniles et perturbent la dégradation de la protéine TAU. Zhang et Schluessener (2013) ont ainsi montré que l'inhibition de HDAC1 (administration de MS-275 *per os*) diminue l'activation des cellules microgliales et les dépôts amyloïdes dans le cortex et l'hippocampe de souris transgéniques APP/PS1-21. Par ailleurs, Ding et collaborateurs (2008) ont observé une augmentation anormale de la quantité protéique de HDAC6 dans les régions corticales (52%) et dans l'hippocampe (91%) de patients atteints de la MA. Or la surexpression de HDAC6 est associée à l'altération de la dégradation de la protéine TAU puisque son inhibition spécifique (injections intrapéritonéales quotidiennes de tubastatine A sur une période de 2 mois, de 5 à 7 mois), chez des souris rTg4510 (mutation P301L de la protéine TAU) diminue les dépôts neurofibrillaires dans l'hippocampe et le cortex cérébral (Selenica et coll., 2014).

Les HDACs sont donc en partie responsables des troubles mnésiques observés dans les modèles murins de la MA en raison de leur surexpression notamment sur les promoteurs de gènes associés à la mémoire et au processus de plasticité synaptique (Gräff et coll., 2012). Dès lors, l'inhibition des HDACs permet de restaurer le niveau d'acétylation (trop bas dans la MA) sur les promoteurs de ces gènes mais également de ralentir le développement de la dégénérescence.

Un déséquilibre entre l'activité des HATs et celle des HDACs pourrait être à l'origine des troubles cognitifs observés dans la MA qui seraient la conséquence d'une diminution de l'expression des gènes impliqués dans les processus mnésiques (*Bdnf*, *Nr2A*, *Nr2B*, *c-Fos*) et dans le transport axonal (*cf.* Figure 63).



L'ensemble de ces études a permis de mettre en évidence une nouvelle cause éventuelle des troubles cognitifs observés dans la MA : une altération des modifications épigénétiques. Ces modifications épigénétiques (dont l'acétylation des histones qui est au centre de mon projet de thèse), permettent de réguler la transcription des gènes. Dans le cas de la MA, on peut envisager que l'altération de ces mécanismes mènent à la répression de gènes impliqués dans la consolidation d'une mémoire à long terme, expliquant de ce fait les troubles mnésiques observés chez les patients atteints de la MA. La restauration de l'expression de ces gènes par l'augmentation de l'acétylation des histones (activateurs des HATs) ou la diminution de leur déacétylation (inhibiteurs des HDACs) pourrait être une nouvelle voie thérapeutique. C'est dans cette optique que nous avons testé le potentiel thérapeutique de deux molécules capables d'augmenter le niveau d'acétylation des histones (par l'activation des HATs pour l'une et par l'inhibition des HDACs pour l'autre), sur un modèle murin de tauopathie (présentant des DNFs similaires à celles observées chez les patients atteints de la MA).

PARTIE 2 :
CONTRIBUTIONS EXPÉRIMENTALES

PUBLICATION 1

A NOVEL ACTIVATOR OF CBP/P300 HAT PROMOTES NEUROGENESIS AND EXTENDS MEMORY DURATION IN ADULT MICE

Chatterjee S*, Mizar P*, Cassel R*, Neidl R, Selvi BR, Mohankrishna DV, Vedamurthy BM,
Schneider A, Bousiges O, Mathis C, Cassel JC, Eswaramoorthy M, Kundu TK, Boutillier AL.

* Equal contributors.

Article publié dans Journal of Neuroscience, 2013 Jun 26;33(26):10698-712

CONTEXTE SCIENTIFIQUE ET OBJECTIFS

La mémorisation d'un événement dépend de la mise en place d'une consolidation synaptique et systémique au sein de notre cerveau qui nécessite la synthèse de nouvelles protéines et donc la transcription de gènes (Miyamoto, 2006 ; Barco et coll., 2008). Les modifications épigénétiques, et notamment l'acétylation des histones, sont impliquées dans les processus de mémorisation et ont fait l'objet de beaucoup de travaux de recherche cette dernière décennie (e. g. Levenson et Sweatt, 2005 ; Wood et coll., 2006 ; Barrett et Wood, 2008 ; Puckett et Lubin, 2011, rev. Peixoto et Abel, 2013). L'acétylation des histones est régulée par deux familles d'enzymes, les histones acétyltransférases (HATs) et les histones déacétylases (HDACs) respectivement responsables de l'ajout ou du retrait d'un groupement acétyl sur les résidus lysines des queues N- et C-terminale des histones. Parmi les HATs impliquées dans les processus de mémorisation, CBP et p300 ont été étudiées grâce à la production de modèles murins présentant des mutations génétiques sur le gène de CBP ou de p300 entraînant une délétion partielle ou complète de ces HATs (Alarcón et coll., 2004 ; Wood et coll., 2005 ; Oliveira et coll., 2007 ; Barco et coll., 2007 ; Chen et coll., 2010 ; Oliveira et coll., 2011). Des données récentes du laboratoire (Bousiges et coll., 2010, 2013) ont mis en évidence que l'activité de CBP et p300 est augmentée au cours de l'acquisition d'une mémoire spatiale. Ainsi, le développement de molécules permettant d'activer CBP et p300 permettrait de mieux cerner le rôle de ces deux HATs dans la mémoire et d'offrir une nouvelle voie thérapeutique dans le traitement des maladies associées à des troubles de la mémoire.

Grâce à une collaboration avec le laboratoire du professeur Tapas Kundu (Transcription and Disease Laboratory, Jawaharlal Nehru Centre for Advanced Scientific Research (JNCASR), Bangalore, India), nous sommes les premiers à étudier l'effet de l'activation de CBP et de p300 sur l'expression de gènes impliqués dans les processus de mémorisation, sur la neurogenèse et sur la mémoire spatiale de souris jeune adulte (3 mois).

L'objectif de ce travail est de caractériser d'un point de vue moléculaire et comportemental une nouvelle molécule, CSP-TTK21. La molécule active, TTK21, synthétisée dans un premier temps à l'aide d'acide anacardique (trouvé dans le liquide extrait de coquilles de noix de cajou), puis d'acide salicylique, n'est pas capable de passer la BHE. Grâce

à sa liaison covalente à une nanosphère de carbone, appelée CSP, CSP-TTK21 est capable, *in vitro*, de traverser les membranes nucléaires. Les études *in vitro* ont été réalisées en Inde, dans le laboratoire du Pr. Kundu (JNCASR, Bangalore, India) et nous avons réalisé les études *in vivo* au LNCA. Nous avons procédé à une administration intrapéritonéale unique de CSP-TTK21 (500µg/souris) à des souris WT jeunes adultes (âgées de 3 mois) pour évaluer l'impact de l'administration de CSP-TTK21 *in vivo* sur l'acétylation des histones. CBP et p300 étant impliquées dans les processus de mémorisation, nous avons analysé l'effet de l'administration de CSP-TTK21 sur la mémoire spatiale de souris jeunes adultes dans le cadre d'un « apprentissage léger » (durée de l'acquisition de 3 jours) grâce à l'utilisation du test de la piscine de Morris (décrit dans la partie *Annexes*, Evaluation de la mémoire spatiale avec le test de la piscine de Morris chez la Souris).

10698 • The Journal of Neuroscience, June 26, 2013 • 33(26):10698–10712

Cellular/Molecular

A Novel Activator of CBP/p300 Acetyltransferases Promotes Neurogenesis and Extends Memory Duration in Adult Mice

Snehajyoti Chatterjee,^{1,3*} Pushpak Mizar,^{1*} Raphaëlle Cassel,^{3*} Romain Neidl,³ B. Ruthrotha Selvi,¹ Dalvoy Vasudevarao Mohankrishna,¹ Bhusainahalli M. Vedamurthy,¹ Anne Schneider,³ Olivier Bousiges,³ Chantal Mathis,³ Jean-Christophe Cassel,³ Muthusamy Eswaremoorthy,² Tapas K. Kundu,¹ and Anne-Laurence Boutillier³

¹Transcription and Disease Laboratory, Molecular Biology and Genetics Unit, and ²Chemistry and Physics of Materials Unit, Jawaharlal Nehru Centre for Advanced Scientific Research, Jakkur, Bangalore 560064, India, and ³Laboratoire de Neurosciences Cognitives et Adaptatives, Unité Mixte de Recherche 7364 Université de Strasbourg, Centre National de la Recherche Scientifique, Faculté de Psychologie, Groupe de Recherche 2905 NeuroMem, Strasbourg 67000, France

Although the brain functions of specific acetyltransferases such as the CREB-binding protein (CBP) and p300 have been well documented using mutant transgenic mice models, studies based on their direct pharmacological activation are still missing due to the lack of cell-permeable activators. Here we present a small-molecule (TTK21) activator of the histone acetyltransferases CBP/p300, which, when conjugated to glucose-based carbon nanosphere (CSP), passed the blood–brain barrier, induced no toxicity, and reached different parts of the brain. After intraperitoneal administration in mice, CSP-TTK21 significantly acetylated histones in the hippocampus and frontal cortex. Remarkably, CSP-TTK21 treatment promoted the formation of long and highly branched doublecortin-positive neurons in the subgranular zone of the dentate gyrus and reduced BrdU incorporation, suggesting that CBP/p300 activation favors maturation and differentiation of adult neuronal progenitors. In addition, mRNA levels of the neuroD1 differentiation marker and BDNF, a neurotrophin required for the terminal differentiation of newly generated neurons, were both increased in the hippocampus concomitantly with an enrichment of acetylated-histone on their proximal promoter. Finally, we found that CBP/p300 activation during a spatial training, while not improving retention of a recent memory, resulted in a significant extension of memory duration. This report is the first evidence for CBP/p300-mediated histone acetylation in the brain by an activator molecule, which has beneficial implications for the brain functions of adult neurogenesis and long-term memory. We propose that direct stimulation of acetyltransferase function could be useful in terms of therapeutic options for brain diseases.

Introduction

Epigenetic modifications are emerging as fundamental mechanisms involved in regulations of adaptive behaviors (Hsieh and

Eisch, 2010; Gräff et al., 2011). The site-specific acetylation of histone proteins within chromatin is an epigenetic modification that participates in the regulation of gene expression and, although highly dynamic, is believed to produce long-lasting changes that sustain physiological processes and behavior (Gräff et al., 2011). In neurons particularly, where *de novo* gene expression is known to support long-term memory formation, histone acetylation greatly participates in synaptic plasticity, learning, and memory (for review, see Peixoto and Abel, 2013). Epigenetic alterations, including those on histone acetylation, can lead to the cognitive dysfunctions found in pathological conditions (Gräff et al., 2012). Therefore, pharmacological enhancement of signaling, including transcriptional processes that mediate long-term memory formation, provides a potential therapeutic strategy for cognitive disorders involving aberrant neuroplasticity.

Reversible acetylation is regulated by specific enzymes, histone/lysine acetyltransferases (HAT/KAT), which add an acetyl group to lysine residues of proteins including histone tails and deacetylases (HDACs) catalyzing the opposite reaction (Yang and Seto, 2007). During the last decade, investigators have modulated cellular acetylation homeostasis in neurodegenerative conditions, especially those associated with cognitive impairments, using HDAC inhibitors as a potential therapeutic intervention (Kazantsev and Thompson, 2008; Fischer et al., 2010). However, caveats remain as to the specificity of these inhibitors,

Received Dec. 18, 2012; revised April 18, 2013; accepted May 8, 2013.

Author contributions: S.C., P.M., R.C., B.R.S., T.K.K., and A.-L.B. designed research; S.C., P.M., R.C., R.N., B.R.S., D.V.M., B.M.V., A.S., O.B., M.E., T.K.K., and A.-L.B. performed research; S.C., P.M., R.C., R.N., B.R.S., D.V.M., B.M.V., A.S., O.B., C.M., J.-C.C., M.E., T.K.K., and A.-L.B. analyzed data; S.C., J.-C.C., T.K.K., and A.-L.B. wrote the paper.

This work was supported by the Centre National de la Recherche Scientifique, the University of Strasbourg, the Department of Biotechnology, the Government of India (Grant #BT/CSH/GIA/1752 to T.K.K.), the Jawaharlal Nehru Centre for Advanced Scientific Research, ANR (Grant #ANR-12-MALZ-0002-01 to A.-L.B.), the Indo-French Centre for the Promotion of Advanced Research (Grant #4803-3 to T.K.K. and A.-L.B.), Ligue Européenne Contre la Maladie d'Alzheimer (Project #10702 to A.-L.B.), and Alsace Alzheimer 67 (to A.-L.B. and Dr. F. Blanc). T.K.K. is the recipient of a Sir J.C. Bose national fellowship, Department of Science and Technology, Government of India. R.C. and R.N. are recipients of a doctoral fellowship from the French government. A.S. is supported by the Fondation Unistra-don Pierre Fabre and by the ANR (Grant #ANR-12-MALZ-0002-01). We thank O. Bildstein, O. Egesi, and G. Edomwonyi (Unité Mixte de Recherche 7364) for assistance in animal care and B. Cosquer, K. Herbeaux, and M.-M. Klein (Unité Mixte de Recherche 7364) for excellent technical assistance. We thank Parijat Senapati and Dr Rahul Modak for providing the p300 enzyme. Publication costs are supported by the Neurex network.

The authors declare no competing financial interests.

*S.C., P.M., and R.C. contributed equally to this work.

Correspondence should be addressed to either of the following: Anne-Laurence Boutillier, Laboratoire de Neurosciences Cognitives et Adaptatives, UMR 7364 CNRS, Université de Strasbourg, 12 rue Goethe, 67000 Strasbourg, France, E-mail: laurette@unistra.fr; or Tapas K. Kundu, Transcription and Disease Laboratory, Molecular Biology and Genetics Unit, Jawaharlal Nehru Centre for Advanced Scientific Research, Jakkur, Bangalore 560064, India, E-mail: tapas@jncasr.ac.in.

DOI:10.1523/JNEUROSCI.5772-12.2013

Copyright © 2013 the authors 0270-6474/13/3310698-15\$15.00/0

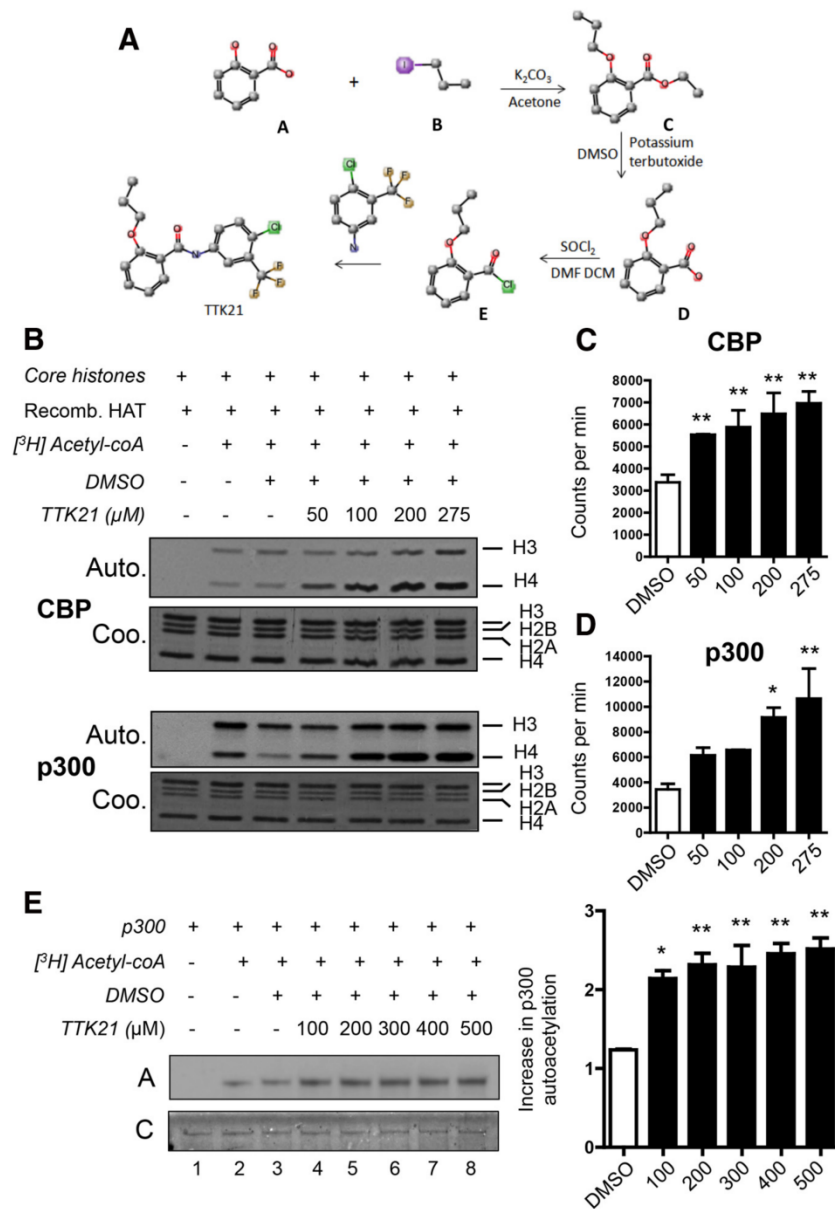


Figure 1. Small-molecule activator of lysine acetyltransferase (KAT) CBP/p300. **A**, Synthesis of the KAT activator TTK21 from salicylic acid. **B**, Gel fluorography assay shows a concentration-dependent activation of CBP and p300 by TTK21. TTK21 at different concentrations (50, 100, 200, and 275 μM as noted) dissolved in DMSO was added to reaction mixture to the desired concentration. Auto indicates autoradiogram; Coo, Coomassie gel. **C, D**, Concentration-dependent activation of CBP (**C**) and p300 (**D**) by TTK21 as shown by filter-binding assay using TTK21 at 50, 100, 200, and 275 μM. One-way ANOVA followed by Dunnett's test comparing all columns to DMSO control column (***p* < 0.01; **p* < 0.05, *n* = 4). **E**, Effect of TTK21 on the p300 auto-acetylation activity. Left: Autoradiogram showing auto-acetylation assays performed using full-length p300 in the absence of radioactive acetyl CoA [³H] (lane 1) and in the presence of radioactive acetyl CoA [³H] (lanes 2–8); lanes 4–8, p300 in the presence of increasing concentrations of TTK21 (100–500 μM); lane 3, DMSO only added as solvent control. Reaction mixtures were resolved by SDS-PAGE and processed for fluorography. Right: Quantification of the intensities of the bands from the autoradiogram. One-way ANOVA followed by Dunnett's test comparing all columns with the DMSO control column (***p* < 0.01; **p* < 0.05, *n* = 3).

and their long-term effects could be detrimental to the neurons. Therefore, the direct pharmacological activation of acetyltransferases could be an alternative that was not developed due to the lack of a cell-permeable HAT/KAT activator. The role of specific acetyltransferases such as the CREB-binding protein (CBP) in learning and memory has been demonstrated quite convincingly by knock-down and deletion studies (Barrett and Wood, 2008;

Chen et al., 2010; Barrett et al., 2011; Valor et al., 2011). The continued requirement of specific acetyltransferases throughout life may be required in addition to their proper developmental regulation (Barco, 2007). Our recent data demonstrated that the expression of several acetyltransferases (including CBP/p300) increased in the course of spatial memory acquisition, bringing the importance of their dynamic regulation during memory formation into question (Bousiges et al., 2010). Recently, a successful rescue of learning and memory defects was achieved by viral brain delivery of CBP into the hippocampus of a mouse model of Alzheimer's disease (Caccamo et al., 2010). These studies support the development of molecules able to stimulate the acetyltransferase function directly as a new potential therapeutic tool for treating memory dysfunctions, including Alzheimer's disease (Selvi et al., 2010; Valor et al., 2013).

The present study provides the first evidence for pharmacological HAT/KAT activation (CBP/p300) after systemic injection of a carbon-nanosphere-coupled small activator molecule (CSP-TTK21) in adult mice. This activation has direct consequences on brain functions because it induced differentiation of newly generated neurons and extended memory duration. Therefore, by promoting increased plasticity, acetyltransferase activators such as CSP-TTK21 could have a significant impact on detrimental age-related brain decline.

Materials and Methods

Synthesis of TTK21

For synthesis of TTK21 (Fig. 1), salicylic acid A (14.5 mmol) and iodopropane B (43.4 mmol) dissolved in acetone were added to anhydrous K₂CO₃ (43.4 mmol). The reaction mixture was refluxed for 3–4 h and, upon completion, evaporated in a vacuum and treated using ethyl acetate and water. The combined organic extract was dried over NaSO₄ and then evaporated. The crude product thus obtained was purified using ethyl acetate and hexane (1:20) as an eluent to yield 94% of the pure product C. Potassium tertiary butoxide (11 mmol) was added to solution of C (9 mmol) in DMSO at 0°C. The reaction mixture was stirred at 0°C for 30 min and then at room temperature for 2–3 h. The reaction upon completion was treated using ice-cold water and then extracted with dichloromethane (DCM). The combined organic layer was dried over NaSO₄ and then evaporated. The crude product thus obtained

was purified by recrystallization using ethanol as the solvent to obtain 95% of the desired product D. Solution D (3.3 mmol) in 10 ml of DCM was cooled in ice and a cold solution of SOCl₂ (3.66 mmol) dissolved in 2 ml of DCM was added dropwise. A few drops of dimethyl formamide (DMF) were added to the solution. The reaction mixture was refluxed for 2 h. Upon completion, the reaction was evaporated in vacuum to obtain crude product E. Compound D was dissolved in DCM (3.1 mmol) in

10700 • J. Neurosci., June 26, 2013 • 33(26):10698–10712

Chatterjee et al. • HAT Activator Promotes Cognitive Functions

another round-bottom flask and a solution of Et_3N (5.58 mmol) was added dropwise at 0°C . The reaction mixture was stirred at room temperature for 30 min. The resulting solution was added dropwise to the crude product E dissolved in DCM. The reaction mixture was refluxed for 3–4 h. The reaction upon completion was treated using water and DCM. The combined organic extract was evaporated in a vacuum to yield a crude product that was purified using recrystallization to yield the pure product TTK21 (92% yield).

Conjugation of CSP with TTK21

The carbon nanospheres (CSP) were prepared by the hydrothermal treatment of glucose at 180°C for 18 h (Selvi et al., 2008). One equivalent of SOCl_2 diluted in DCM was added dropwise to a suspension of 100 mg of CSP in DCM, followed by the addition of few drops of DMF (Fig. 2B). The reaction mixture was stirred at room temperature for 8–9 h. TTK21 dissolved in DCM was added dropwise to this solution. The reaction mixture was stirred for 8–9 h at room temperature. The solvent was then evaporated and washed with cold water. The crude product was centrifuged and the supernatant (i.e., water) was removed; this procedure was repeated 7–8 times. Washing was then performed using DCM and the supernatant was subsequently tested for absence of TTK21. The CSP-TTK21 conjugated was then dried at 60°C for 2–3 d.

Core histone purification from HeLa nuclear pellet

The HeLa nuclear pellet was homogenized in 0.1 M potassium phosphate buffer, pH 6.7, containing 0.1 mM EDTA, 10% glycerol, 0.1 mM PMSF, and 0.1 mM DTT with a 630 mM salt concentration. The supernatant was kept for binding with hydroxyapatite. Subsequent washes were with 630 mM salt over a prolonged period (12 h). Histone octamer was eluted with 2 M salt and dialyzed against BC100 (20 mM Tris, pH 7.9, 100 mM KCl, 20% glycerol, 0.1 mM DTT). The Bio-Rad protein reagent assay was used to estimate the protein concentration and electrophoresed on 15% SDS PAGE.

Purification of recombinant proteins

Full-length His₆-p300 was purified from recombinant baculovirus-infected Sf21 cells as described previously (Kundu et al., 1999). Briefly, Sf cells were infected with appropriate concentration of recombinant baculovirus followed by affinity chromatography of the cell lysate using Ni-NTA resin (Qiagen). FLAG-tagged CBP was also purified using similar techniques of infection of recombinant baculovirus into Sf21 cells, followed by affinity chromatography of the cell lysate using M2-agarose beads (Sigma). The proteins were eluted using FLAG peptide (Sigma).

HAT assays

Filter-binding assays. Highly purified HeLa core histones were incubated in HAT assay buffer at 30°C for 10 min with or without baculovirus-expressed recombinant p300 or CBP in the presence or absence of TTK21, followed by addition of $1\ \mu\text{l}$ of $3.6\ \text{Ci/mmol}$ [^3H]acetyl-CoA (NEN-PerkinElmer) and incubated for 10 min in a final volume of $30\ \mu\text{l}$ at 30°C . The mixture was blotted onto P-81 (Whatman) filter paper and

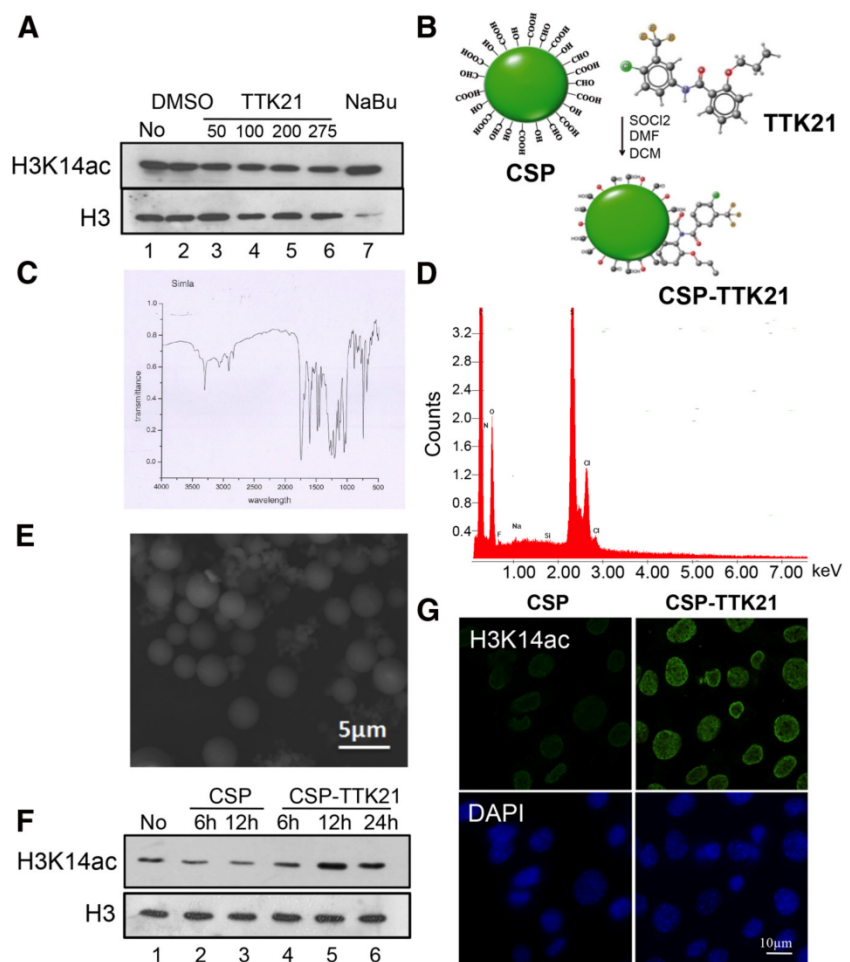


Figure 2. CSP conjugated activator (TTK21) induces histone H3 acetylation in SHSY-5Y neural cells. **A**, TTK21 alone is impermeable to cells. Western blot analysis of TTK21 untreated and treated HeLa cells for 24 h. Lane 1, untreated cells; lane 2, DMSO-treated cells; lane 3, $50\ \mu\text{M}$ TTK21 treatment; lane 4, $100\ \mu\text{M}$ TTK21; lane 5, $200\ \mu\text{M}$ TTK21; lane 6, $275\ \mu\text{M}$ TTK21; lane 7, $500\ \mu\text{M}$ broad spectrum histone deacetylase inhibitor NaBu-treated cells showing hyperacetylation of histone H3. Acetylated H3 antibody was used to probe the blot and was also probed with H3 antibody for equal amount of protein loading control. **B**, Synthesis of CSP-TTK21. **C**, Chemical characterization of TTK21 conjugated to CSPs (CSP-TTK21) using infrared spectroscopy analysis of CSP-TTK21. **D**, EDX analysis of CSP-TTK21 showing the presence of fluorine, thereby confirming the conjugation of TTK21 with CSP. **E**, Scanning electron microscopy image of CSP-TTK21 showing that the particle retains its original spherical shape after conjugation. **F**, CSP-TTK21 induces histone hyperacetylation in SHSY-5Y cells. Immunoblotting analysis of SHSY-5Y cells treated with CSP ($50\ \mu\text{g/ml}$) treated for 6 and 12 h (lanes 2 and 3, respectively) and CSP-TTK21 ($50\ \mu\text{g/ml}$) upon 6, 12, and 24 h of treatment (lanes 4, 5, and 6, respectively) using antibodies against acetyl H3Lys 14 and reprobated with H3 antibody. **G**, SHSY-5Y cells were treated with CSP-TTK21 ($50\ \mu\text{g/ml}$), CSP ($50\ \mu\text{g/ml}$) for 24 h and histone acetylation was estimated by immunofluorescence analysis using antibodies against acetyl H3Lys 14.

radioactive counts were recorded on a Wallac 1409 liquid scintillation counter.

Gel fluorography assay. Histones were isolated by TCA precipitation using 25% TCA. The pellet was washed twice with acetone and dissolved in $2\times$ SDS loading dye, heated for 5 min, and separated using 15% SDS-PAGE. Coomassie staining was performed to ascertain the presence of equal loading in each reaction and was later dehydrated in DMSO for 1 h. Dehydrated gel was later incubated in scintillation fluid (2,5 diphenyl oxazole solution in DMSO) for 45 min and rehydrated again in distilled water for 4 h. The gel was then dried using a gel drier and later exposed in an x-ray cassette using a film for 5 d in a -80°C cooler. The film was then developed to obtain the intensity profiles for each of the reactions.

p300 Auto-acetylation assay. Auto-acetylation reactions of full-length p300 were performed in lysine acetyltransferase assay buffer at 30°C for 10 min with or without TTK21, followed by the addition of $1\ \mu\text{l}$ of 4.7

Ci/mmol [^3H]acetyl-CoA (NEN–PerkinElmer). The reaction mixture was further incubated for another 10 min at 30°C. The ^3H -labeled acetylated p300 was visualized by fluorography followed by autoradiography.

Immunofluorescence in SHSY-5Y cells. Cells were grown on poly-L-lysine-coated coverslips at 37°C in a 5% CO_2 incubator. After treatment for the indicated times, cells were washed with PBS and fixed with 4% paraformaldehyde (in PBS) for 20 min at room temperature. Cells were permeabilized using 1% Triton X-100 (in PBS) for 10 min and washed with PBS for 3 \times 10 min. Nonspecific blocking was performed using 5% FBS (in PBS) for 45 min at 37°C. Primary antibody was added in appropriate dilutions for 1 h at room temperature. Cells were then washed with washing buffer (1% FBS in PBS) 4 times at 3 min each. Secondary antibody tagged with fluorescent dye was added in appropriate dilutions for 1 h at room temperature, followed by washes with washing buffer. The nuclei were then stained with Hoechst (1:10,000 dilutions) for 20 min. After two PBS washes, coverslips were inverted onto a microscopic slide with $>2\ \mu\text{l}$ of 70% glycerol (in PBS) and imaged using a confocal microscope.

Animals. Experimental protocols and animal care were in compliance with the institutional guidelines (council directive 87/848, October 19, 1987, Ministère de l'Agriculture et de la Forêt, Service Vétérinaire de la Santé et de la Protection Animale) and international laws (directive 86–609, 24 November 1986, European Community) and policies (personal authorizations #67-117 for A.-L.B., #67-215 for J.-C.C., and #67-292 for C.M.). B57BL6/6J male mice were purchased from Charles River Laboratories and behaviorally tested at ~ 3 months of age. They were housed individually under a 12 h light/dark cycle (lights on at 7:00 A.M.). Access to food and water was *ad libitum* in a temperature- and humidity-controlled room ($22 \pm 1^\circ\text{C}$ and $55 \pm 5\%$, respectively).

Immunofluorescence and Immunohistochemistry for animal tissue. Mice were injected with indicated amounts of the molecules. For BrdU counting, mice were injected with 100 mg/kg BrdU (B5002; Sigma) according to different protocols as noted in the text and represented in Figure 5G, H, J. After defined time periods, mice were deeply anesthetized with pentobarbital (60 mg/kg) and perfused transcardially with 150 ml of ice-cold paraformaldehyde (4% in 0.1 M PB, 4°C). Brains were then rapidly removed from the skull and postfixed for 6 h in the same fixative at 4°C. Fixed brains were then kept in sucrose at 4°C for 48 h. Freezing of the brains was performed in isopentane for 1 min at -40°C . The brains were stored in a -80°C freezer until being further processed. Coronal sections, 20 μm in thickness, were made through the dorsal hippocampus using a Vibratome (VT1000M; Leica). The tissue sections were permeabilized in 1 \times PBS/Triton X-100 2% for 15 min. Nonspecific labeling was blocked by 1 \times PBS/0.1% Triton X-100/5% horse serum for 30 min at 37°C. For BrdU immunolabeling, sections were denatured for 2 h in 2 N HCl at room temperature and then washed 4 times in PBS, pH 7.35, prior to the blocking step. The sections were then incubated overnight with the indicated antibodies (doublecortin [DCX] #sc-8066, Santa Cruz Biotechnology; acetylated-H3K14 #1921, Epitomics; acetyl-histone H2B #07-373, Millipore). After 3 washes, sections were incubated with the appropriate secondary antibody. For immunofluorescence, sections were incubated with donkey anti-rabbit conjugated with fluorescent dye (1 h at room temperature), followed by 3 washes with 1 \times PBS/0.1% Triton X-100, and the nuclei were stained with Hoechst (1:1000 dilutions) for 5 min. After two PBS washes, the sections were mounted. For immunohistochemistry, sections were further incubated with anti-rabbit horseradish peroxidase-conjugated antibody (#sc2004; Santa Cruz Biotechnology) for 1 h. After three washes with 1 \times PBS/0.1% Triton X-100, 0.05% DAB (with 0.04 M Tris, pH 7.5, 0.03% H_2O_2) was added and sections were mounted with a Roti Histokit II (Roth). For immunofluorescence, images were acquired with a Zeiss LSM510 confocal imaging system.

DCX-positive neurons, dendritic length, and branching counting. Counting was done in two groups of mice (CSP or CSP-TTK21, $n = 3/\text{group}$) that were left in their home cages for 3 d after injections. After DCX immunohistochemistry, images were acquired with a Zeiss LSM510 confocal imaging system and analyzed with the Zeiss LSM image browser. Sections containing the dorsal hippocampus ($n = 4-6/\text{animal}$) were then evaluated by an experimenter blind to the treatment for the

number of DCX-positive neurons. For each of these sections, the longest dendrite of each DCX-positive neuron was drawn on the image and the lengths given by the software were averaged per animal. One area in a similar hippocampal region was cropped out ($n = 5/\text{animal}$) and lines were drawn at 60, 90, and 120 μm from the DCX-positive nuclei (in the subgranular zone [SGZ]). The number of dendrites crossing each of these lines was then counted and averaged per hippocampus per animal.

Protein preparation and Western blot analyses. Animals were killed by cervical elongation. Their brains were rapidly removed from the skull and transferred on ice. Freshly dissected tissues were then immediately frozen at -80°C . Tissues were lysed and homogenized in Laemmli buffer. After 10 min at 70°C, samples were sonicated for 10 s (ultrasonic processor, power 60%), boiled 5 min, centrifuged (20,000 \times g for 5 min) and the supernatant was frozen at -20°C . Protein concentration was measured using the RC-DC Protein Assay (Bio-Rad). Western blots were performed as described previously (Bousiges et al., 2010) with antibodies against acetyl-histone H2B (#07-373; Millipore), acetylated-histone H2BK5 (#07-382; Millipore), H3 histone (#ab1791; Abcam), acetyl histone H3 lys 14 (#1921; Epitomics), acetyl Histone H3 (#06-599; Millipore), and H2B histone (#H2-28; Euromedex); pro-BDNF (#AB9612; Millipore), GFAP (#MAB360; Millipore), NeuN (#ABN78; Millipore), and β -actin (#ab16039; Abcam). Secondary HRP-conjugated antibodies were from Jackson ImmunoResearch. Blots were revealed with ECL and exposed with Hyperfilm ECL (GE Healthcare). Results were quantified using ImageJ software.

Real-time qRT-PCR. Tissues were finely cut with a razor blade and homogenized with a Dounce in TRIzol reagent (Invitrogen). After chloroform extraction, RNAs were ethanol precipitated twice. Only RNA samples with an OD 260/280 and OD 260/230 ratio close to 2.0 were selected for reverse transcription. RNA samples were denatured 10 min at 70°C and cDNA synthesis was performed on 1 μg of total RNA (iScript cDNA synthesis kit; Bio-Rad). qRT-PCR analysis was performed on a Bio-Rad iCycler System (CFX) using SsoAdvanced SYBR Green Super-Mix (Bio-Rad). A specific standard curve was performed in parallel for each gene, and each sample was quantified in duplicate ($n = 5-6$). qRT-PCR conditions were 3 min at 94°C, followed by 40 cycles of 45 s at 94°C and 10 s at 60°C. Data were analyzed by gene regression using iCycler software and normalized to the polymerase II RNA levels.

Chromatin immunoprecipitation. Freshly dissected tissues were chopped with a razor blade and rapidly put in 5 ml of PBS containing 1% formaldehyde for 15 min at room temperature. The fixation step was stopped by the addition of glycine (0.125 M final concentration). Samples were prepared as described previously (Panteleva et al., 2007), snap frozen in liquid nitrogen, and stored at -80°C until needed. An equal amount (120 μg) of DNA/protein complex was assayed and brought to a volume of 500 μl of with chromatin immunoprecipitation dilution buffer (0.01% SDS, 1.1% Triton X-100, 1.2 mM EDTA, 16.7 mM Tris-Cl, pH 8.1, 167 mM NaCl). A fraction of supernatants (20 μl) from each sample were saved before immunoprecipitation and served as “total input chromatin.” The remaining supernatant was incubated overnight at 4°C with 2 μg of the primary antibody against acetyl-histone H2B (#ab1759; Abcam) or no antibody (negative control). This was followed by incubation with a mix of protein A/G Dynabeads (Invitrogen) for 2 h. After several wash steps (low salt, high salt, LiCl, and TE buffers), complexes were eluted in 200 μl of elution buffer (1% SDS, 0.1 M NaHCO_3). The cross-linking was reversed (overnight at 65°C) and the DNA was subsequently purified with RNase (30 min at 37°C), proteinase K (2 h at 45°C), phenol/chloroform extraction, and ethanol precipitation. After a last wash with 70% ethanol, pellets were resuspended in 50 μl of nuclease-free Milli-Q water and analyzed by semiquantitative PCR (MyCycler system; Bio-Rad). Primers for neuroD1 promoter were as follows: left: 5'-gtccgaggagtctactg-3' and right: 5'-gaaccacgtgacctgctat-3', and those for bdnf PI and IV have been described previously (Zajac et al., 2010). Chromatin immunoprecipitations were quality controlled by the use of control genes that were either expressed ubiquitously (GAPDH) or not expressed in the hippocampus (TSH2B).

Statistical analysis of biochemical studies. Statistical analyses were performed using Student's *t* test or one-way ANOVA followed by Neuman-Keuls multiple-comparison test when appropriate (Prism software

version 4.0b; GraphPad). Data are expressed as the means \pm SEM. Differences at $p < 0.05$ were considered significant.

Spatial learning and memory testing in the Morris water maze. Using a circular pool ($\varnothing 140$) half-filled with opaque water (22°C) and located in a room with several well contrasted extra-maze cues, the aversively motivated task consisted of the mice learning, over four successive trials/d, the location of an escape platform hidden under the water surface at a fixed position. The two first training days were for habituation to increasing water levels. The strength and precision of memory were tested in a probe trial, for which the platform was removed and the animal was left for 60 s in the water. When remembering the platform location, the mice typically displayed a swimming pattern focused on the quadrant of the former platform location (where they typically spent a cumulated time corresponding to 35–50% of the probe trial duration). Ten to 12 mice in each group (CSP or CSP-TTK21 injected) were trained for task acquisition over three consecutive days (“weak learning”). The distance was recorded by a video tracking system (Ethovision; Noldus). The variable taken into account for probe trial analysis was the time spent in each of the four quadrants.

Statistical analyses for behavioral studies. Performance recorded during acquisition (latency to the platform) was evaluated using a two-way ANOVA for repeated measures considering the factors of “day” (1–3) and “treatment” (CSP vs CSP-TTK21). Probe trial performance was analyzed using a *t* test comparing the time spent in the target quadrant to chance (i.e., 15 s) and the time spent in the target quadrant to the average time in the other three quadrants. Values of $p < 0.05$ were considered significant and are noted in the text.

Results

TTK21, a small-molecule activator of CBP/p300 acetyltransferases induces acetylation *in vitro*

Based on the previously discovered first small-molecule HAT/KAT activator CTPB (Balasubramanyam et al., 2003), we have synthesized several derivatives. Through a low-throughput enzyme assay screening, TTK21 (*N*-(4-chloro-3-trifluoromethylphenyl)-2-*N*-propoxy-benzamide) was selected. The synthesis steps of TTK21 are depicted in Figure 1A (see Materials and Methods) where salicylic acid was taken as a synthon. Concentration-dependent activation of CBP and p300 by TTK21 was tested in gel fluorography studies (Fig. 1B) and filter-binding assays (Fig. 1C,D). The compound could efficiently activate the CBP HAT activity in a concentration-dependent manner, with a maximal activation at 250–275 μM (Fig. 1B,C) compared with the control solvent, DMSO. As expected, TTK21 activated the HAT activity of the functional ortholog of CBP, p300, to approximately the same extent at the maximal concentration of 275 μM compared with control (Fig. 1B,D). As revealed in the highly purified *in vitro* assay system, both CBP and p300 predominantly acetylated the core histones H3 and H4 (Fig. 1B). However, although H2B and H2A core histones have been described as CBP targets *in vivo*, especially in the brain (Valor et al., 2011), we could not detect their acetylation *in vitro*. The activation of p300/CBP HAT activity could be achieved by several means, including the induction of auto-acetylation. The *trans*-auto-acetylation of p300/CBP, which is regulated by several protein factors and post-translational modifications of the enzymes, induces the p300/CBP HAT activity (Arif et al., 2010 and references therein). We therefore performed an auto-acetylation assay on full-length recombinant p300 with increasing concentrations of TTK21. As depicted in Figure 1E, TTK21 significantly induced auto-acetylation of p300 at 100 μM concentration compared with DMSO. Increase in the concentration of TTK21 (up to 500 μM) did not induce further auto-acetylation.

Covalently conjugated CSP-TTK21 efficiently enters membranes and induces HAT activation in living cells

As for its parent compound, CTPB, TTK21 is poorly permeable to living cells. HeLa cells were treated with increasing concentrations (50, 100, 200, and 275 μM) of TTK21 and sodium butyrate, a permeant HDAC inhibitor (5 mM NaBu), was used as positive control. Histone acetylation levels were measured after 24 h. Western blot analysis using antibody against acetylated-H3K14 showed no significant alteration of histone H3 acetylation in response to TTK21 treatment (Fig. 2A, compare lanes 3–6 with the no treatment control lane 1 or the DMSO vehicle lane 2), whereas NaBu indeed activated H3 acetylation (Fig. 2A, lane 7). These data suggest the inability of the molecule to enter into mammalian cells. Therefore, TTK21 was conjugated to a glucose-derived CSP that is self-fluorescent and permeable to mammalian cells (Selvi et al., 2008). For the chemical conjugation, the functional groups present on the surface of CSP were used as described in the Materials and Methods section to covalently bind TTK21 and the CSP nanoparticle (Fig. 2B). The conjugation was confirmed by infrared spectroscopy and energy-dispersive x-ray spectroscopy analysis (Fig. 2C,D, respectively). Infrared spectroscopy showed bands specific for the functional groups for TTK21, whereas specific peak for fluorine was found in CSP-TTK21, which is present in the CF_3 group of TTK21. The electron microscopic images of CSP-TTK21 showed that, upon conjugation, the spherical shape of the nanoparticles was conserved (Fig. 2E). To investigate whether the covalent conjugation with CSP could enable TTK21 to enter mammalian cells, SHSY-5Y cells were either treated with CSP (50 $\mu\text{g}/\text{ml}$) or CSP-TTK21 (50 $\mu\text{g}/\text{ml}$) for 6, 12, or 24 h. Immunoblotting analysis was performed on purified histones using an antibody against acetylated-H3K14. Enhancement of H3K14ac was observed over time in CSP-TTK21 (compare Fig. 2F, lanes 4–6 with lanes 1–3). Maximum acetylated H3K14 levels were observed upon 12 h of CSP-TTK21 treatment (Fig. 2F). CSP-TTK21-induced acetylated H3K14 was further confirmed by immunofluorescence performed on CSP- and CSP-TTK21-treated SHSY-5Y cells (Fig. 2G). These findings suggested that although TTK21 itself cannot enter the living cells, the nanoparticle-conjugated material CSP-TTK21 could cross the mammalian cell membranes (including nuclear membranes) to induce histone hyperacetylation.

CSP-TTK21 located in the brain induces histone acetylation in the frontal cortex and dorsal hippocampus

The glucose-derived CSPs possess the unique ability to cross the blood–brain barrier in mice (Selvi et al., 2008; Selvi et al., 2012). Therefore, we next investigated the presence of CSP-TTK21 in different organs after intraperitoneal administration of CSP-TTK21 (20 mg/kg). After 1 d, brain, liver, lungs, kidney, and spleen tissue were isolated, fixed with paraformaldehyde, and processed for fluorescence imaging. The self-fluorescent CSP molecule could be observed on 5- μm -thick sections and its nuclear localization was counted in the different tissues (Fig. 3A). CSP-TTK21 was detected predominantly in the brain, liver, and spleen. It was mostly absent in the lungs and undetectable in the kidneys (Fig. 3A). We further investigated the retention time in liver and spleen and found that CSP content was dramatically decreased after 3 d and almost undetectable after 7 d (Fig. 3B,C), showing a rapid turnover of the CSP-coupled molecule in these peripheral organs. We next performed a time course study on CSP-TTK21 retention in the brain (1, 3, 7, 14, and 21 d) after intraperitoneal administration. Typical fluorescence microscopy imaging of the cortical area is presented in Figure 3D for days 1

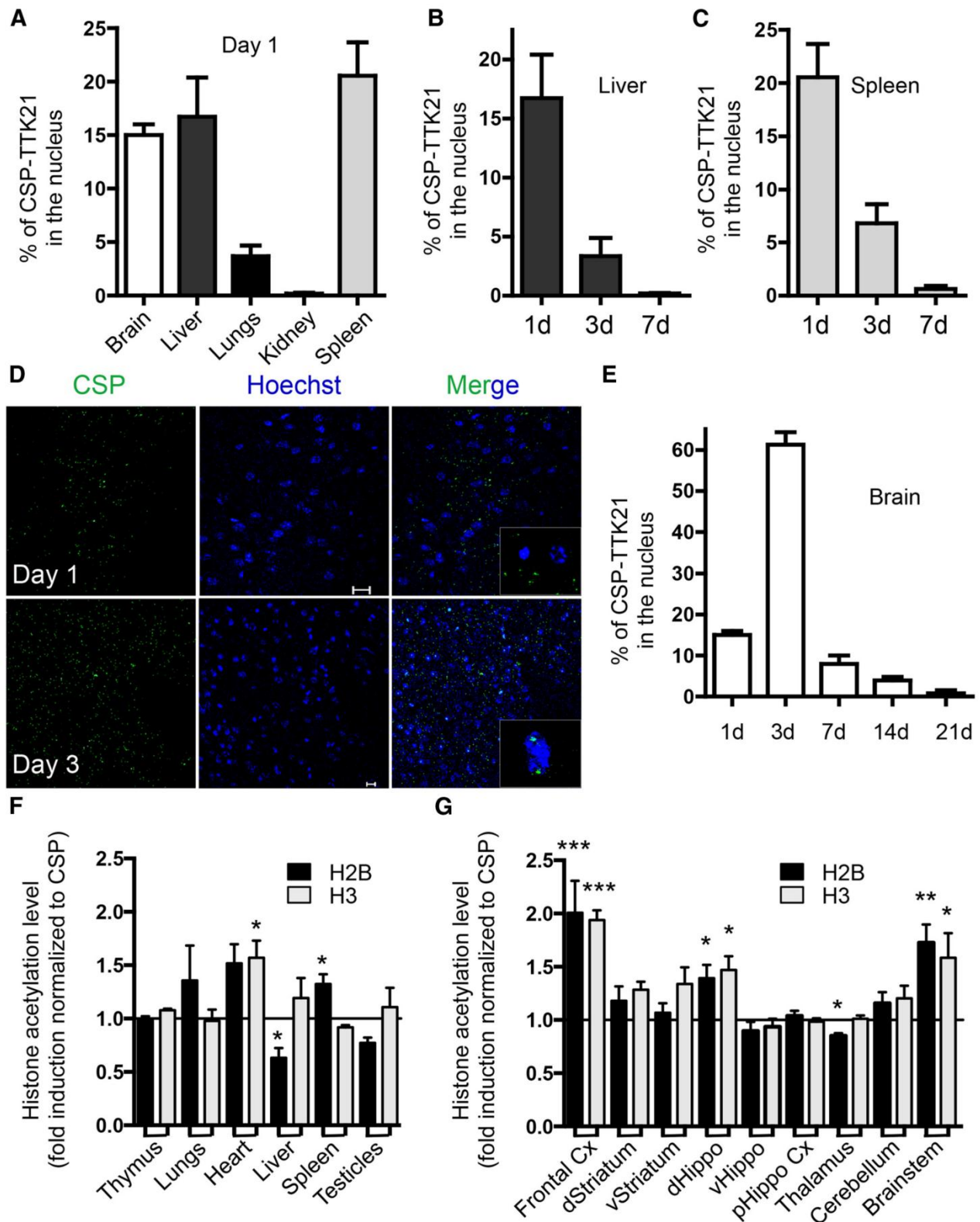


Figure 3. CSP-TTK21 is located in the brain after a single intraperitoneal (i.p.) injection. **A**, Localization of CSP-TTK21 in different organs of mice 1 d after an i.p. injection. Mice ($n = 5$) were injected with 20 mg/kg CSP-TTK21 and killed 24 h later. Brain, liver, lungs, kidney, and spleen were isolated and processed for histochemistry. CSP-TTK21 was detected by excitation at 514 nm. Nucleus of the cells in various tissues was stained with Hoechst. Histograms represent the quantification of the percentage of cells containing intranuclear CSP-TTK21. After 1 d, CSP-TTK21 molecules are mainly found in the brain, liver, and spleen. **B, C**, Time-dependent presence of CSP-TTK21 in mice liver (**B**) and spleen (**C**) after a single i.p. injection. Same as in **A**, except that 3 groups of mice were used ($n = 3$) and killed at different days after injection as noted (1, 3, and 7 d). CSP-TTK21 molecules levels are largely reduced 3 d after injection and almost absent after 7 d. **D, E**, Time-dependent presence of CSP-TTK21 in mice brain after a single i.p. injection. Five groups of mice ($n = 3$) that were used ($n = 3$) and killed at different days after (Figure legend continues.)

and 3, with the inset showing nuclear localization. Quantification of intranuclear CSP for the whole time course is represented in Figure 3E. In contrast to liver and spleen, we found that the percentage of nuclear-located CSP-TTK21 molecules was dramatically elevated 3 d after the intraperitoneal injection (61% for day 3 compared with 15% for day 1; $p = 0.0001$ at day 3 relative to all the other days, one-way ANOVA followed by Newman–Keuls multiple-comparison test). From day 7 onwards, a gradual decrease of CSP-TTK21 in the brain tissue was observed and, at day 21, almost no nanoparticle could be detected in nuclei (Fig. 3E). To further establish the activity of the HAT activator molecule associated with its distribution in the body, we dissected several peripheral organs on a group of CSP- and CSP-TTK21-injected mice (20 mg/kg; $n = 4–6$) 3 d after its intraperitoneal administration and analyzed histone H3K9K14 and H2B N-terminus acetylation by Western blot (Fig. 3F). We found a significant increase in H2B tetra-acetylation in response to CSP-TTK21 in the spleen ($p = 0.0284$); a trend to increase was observed in the heart ($p = 0.0610$) and a significant decrease was measured in the liver ($p = 0.0193$). H3K9K14ac was found significantly increased only in the heart ($p = 0.0372$). Therefore, it seems that the CSP-driven activator displays some preference in the heart and the spleen, the major effect being 1.5-fold, and no acetylation was measured in the thymus, lungs, or testicles. Clearance of the molecule observed in the spleen was almost complete within 7 d (Fig. 3C) and the animals did not show any apparent behavioral or physiological abnormalities throughout this time, suggesting the nontoxic nature of CSP-TTK21 in the mouse system. We then assessed the efficacy of the HAT activator in different parts of the brain. Several brain regions were thoroughly dissected (Fig. 3G) and analyzed as in Figure 3F. The frontal cortex was the main region displaying the acetylated histones H2B ($p = 0.0052$) and H3 ($p = 0.0008$), levels reaching approximately a 2-fold increase. H4K12 acetylation was also significantly activated in this brain region by 1.4-fold ($*p = 0.05$), whereas H2AK5

←

(Figure legend continued.) injection as noted (1, 3, 7, 14, and 21 d). Typical photographs for days 1 and 3 are shown (D). Magnified image of the nucleus from days 1 and 3 showing localization of CSP-TTK21 in the nuclei (inset of the respective figures). Scale bar, 10 μm . E, Quantification of the percentage of cells containing intranuclear CSP-TTK21. Note that large amounts of CSP-TTK21 molecules are located in the nuclei of brain cells at 3 d after injection and that the molecules are rapidly cleared out of cells. F, G, Three days after i.p. injection of either CSP alone or CSP-TTK21 (20 mg/kg body weight), different organs or brain subregions were dissected out and Western blots were performed on total protein extracts with acetylated H2B or H3 and total H2B. Quantification of acetylated histone levels is shown relative to the total amount of the H2B ($n = 4–6$). Student's *t* test, $*p < 0.05$ and $***p < 0.01$ compared with CSP control. #Close to significance. Cx indicates cortex; d, dorsal; Hippo, hippocampus; v, ventral; p, para.

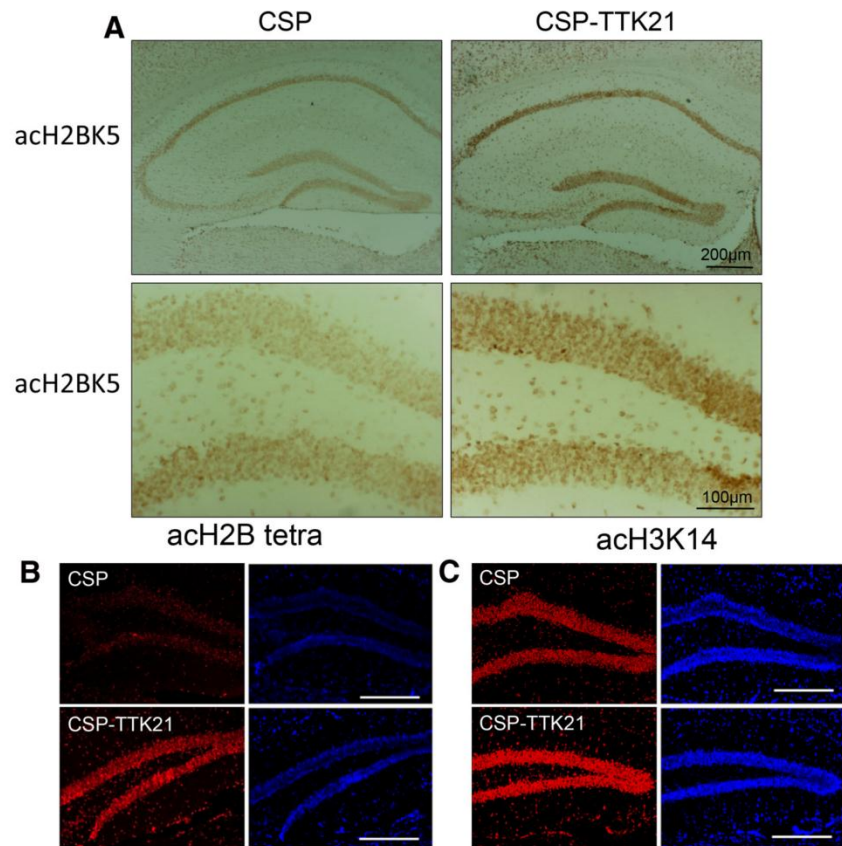


Figure 4. CSP-TTK21 induces histone acetylation on several residues of H2B and H3 in the mouse dorsal hippocampus. Mice were injected with either CSP alone or CSP-TTK21 (20 mg/kg each) and killed 3 d later. **A**, Immunohistochemistry was performed on 20- μm -thick cryosections with an anti-acetylated-H2BK5 antibody. Acetylation was increased in all hippocampal areas. Scale bar, 200 μm . A focus on the dentate gyrus is shown below. Scale bar, 100 μm . **B, C**, Immunofluorescent labeling of mouse dorsal hippocampus using antibodies against tetra-acetylated H2B (**B**) and acetylated-H3K14 (**C**). Scale bar, 100 μm .

levels remained unchanged in response to CSP-TTK21 (data not shown). H2B and H3 histone acetylation were significantly activated by the CSP-TTK21 molecule in the dorsal hippocampus (H2Bac, 1.39-fold, $*p = 0.0432$; H3ac, 1.47-fold, $*p = 0.0119$) and brainstem (H2Bac, 1.72-fold, $**p = 0.001$; H3ac, 1.58, $*p = 0.0284$), whereas a trend was measured for H3ac in the striatum (dorsal, $p = 0.0567$; ventral, 0.0542). Overall, these data show that the CSP-TTK21 molecule can affect different brain subregions and different tissues. This may be due to its mode of entry into mammalian cells described so far, which is ATP, clathrin, and glucose transporter dependent (Selvi et al., 2012). The exact mechanisms of this specificity remain to be established.

Because the dorsal hippocampus plays an important role in several brain functions and has specific structural features, we further measured the level of different acetylation histone marks in response to CSP-TTK21 of treated mice using immunohistochemistry (Fig. 4A–C). We found that acetylated-H2BK5 was increased after CSP-TTK21 treatment equally within the different area of the dorsal hippocampus (CA1, CA3, and dentate gyrus; Fig. 4A). The tetra-acetylated form of H2B and acetylated H3K14 were also equally increased and distributed in the dorsal hippocampus subregions, and representative confocal images focused on the dentate gyrus obtained after immunofluorescence labeling are shown (Fig. 4B, C).

These data demonstrate that the CSP-driven molecule displays HAT activation by acetylating several histone acetylation

marks in important brain structures such as the hippocampus and the frontal cortex.

HAT activation *in vivo* induces differentiation and maturation steps of adult hippocampal neurogenesis

The hippocampus is a major neurogenic niche of the brain, neural progenitor cells being formed in the SGZ and further differentiating within the dentate gyrus (Kempermann, 2012). Having shown a significant effect of CSP-TTK21 on histone acetylation levels in the dorsal hippocampus at day 3 after injection, we investigated whether CBP/p300 activation *in vivo* could affect adult neurogenesis. We performed immunohistochemistry studies on DCX, a marker of new, yet immature neurons in the adult brain, 3 d after injection of CSP or CSP-TTK21 (Fig. 5A–D, the timeline of the experimental protocol is shown on the upper right). Typically, 4–6 sections were analyzed per animal ($n = 3$). Overall, a clear increase of dendritic branching was observed on the dorsal hippocampus in response to CSP-TTK21 (Fig. 5A), which was not accompanied by an increase of DCX-positive neurons over the 3 d (Fig. 5B; $p = 0.1311$). In average, new neurons showed a significant increase in the length of their dendritic trees (Fig. 5C; $*p = 0.0177$). A thorough counting of specific areas within the dorsal dentate gyrus showed that DCX-positive neurons were particularly well branched in CSP-TTK21 compared with CSP-treated mice, especially in the vicinity of the dendrites' extremities (e.g., 120 μm distance from the SGZ; Fig. 5D; CSP-TTK21 vs CSP, $*p = 0.0115$ at 60 μm ; $*p = 0.0270$ at 90 μm and $*p = 0.0389$ at 120 μm ; $n = 5/\text{animal}$). In view of their maturation status at the time of treatment, increased DCX labeling by CSP-TTK21 is likely to result from activation of the maturation process of young neurons generated before the injection of the molecules. It was therefore interesting to further measure the effect of CSP-TTK21 on the proliferation of progenitors. One group of mice received a single injection of BrdU (100 mg/kg) 1.5 d after injection of the molecules (Fig. 5F, G). The mice were killed 2 h later, thus giving the net proliferation status of progenitors at that time. A typical image is shown in Figure 5F and quantification is presented in Figure 5G. We measured a decreased number of BrdU-positive cells in CSP-TTK21-treated animals compared with CSP alone (31.4 vs 19.9 BrdU-positive cells, $*p = 0.0383$, $n = 4/\text{animal}$), suggesting an antiproliferative effect of the HAT activator. To determine the fate of these newly generated neurons, different time courses were investigated: 10 d (Fig. 5H) and 21 d (Fig. 5I, J) after the molecule injection on different groups of mice. The timeline of CSP, CSP-TTK21, and BrdU administration is represented above the quantifications. Despite the first antiproliferative effect measured at day 1.5, an equal number of BrdU-positive cells was observed in CSP- and CSP-TTK21-treated mice at day 10, suggesting that progenitors survival slightly increased. Double immunolabeling with BrdU and DCX was performed 21 d after CSP-TTK21 injection and the number of BrdU-positive/DCX-positive neurons was counted throughout the dentate gyrus (hill included). We found that 75% of the BrdU-positive cells were DCX-positive in both CSP and CSP-TTK21 conditions (Fig. 5I), suggesting that the HAT activator did not influence the fate of the progenitors. A representative image of BrdU-positive/DCX-positive neurons as typically found in the SGZ is shown in Figure 5J.

Finally, we evaluated several mature or immature cell type markers (neurons vs glial cells) by qRT-PCR at two time points: 1.5 and 3 d after injection (Fig. 5K). Because increased amounts of DCX proteins were observed by immunohistochemistry, DCX mRNA levels were measured and were found to be significantly

increased at day 3 after injection ($*p = 0.0328$, $n = 5-6$). The TUC4 protein (TOAD [Turned On After Division]/Ulip/CRMP) reaches its highest expression levels in early postmitotic neurons and, as is the case for DCX, is expressed in immature neurons, but not in neural progenitors or adult neurons (Quinn et al., 1999), and is therefore a good candidate for CSP-TTK21 activation. Nevertheless, TUC4 only tended to increase in response to CSP-TTK21 treatment compared with CSP ($p = 0.0988$, $n = 5$). However, both DCX and TUC4 were significantly increased at day 3 compared with day 1.5 after injection of CSP-TTK21 ($\#p = 0.0121$, $n = 5$ and $\#p = 0.0377$, $n = 5$, respectively). For glial markers, the immature glial protein vimentin showed a trend to be repressed compared with CSP at the early time point (day 1.5; $p = 0.0542$), but remained unchanged at day 3 ($p = 0.5808$) (Fig. 5K). Vimentin mRNAs were indeed lowered by 30% when day 1.5 was compared with day 3 ($p = 0.0371$). GFAP levels remained unchanged whatever the comparison. The meaning of this early downregulation of vimentin is not known, but it is unlikely to play a major role because vimentin levels were unchanged at day 3. In addition, we previously observed no significant changes in the percentage of newly generated neuron after injection of the activator molecule among the BrdU-positive cells (Fig. 5I, J), so, by extension, no change in the number of glial cells was expected either.

CSP-TTK21 induces *neuroD1* and *BDNF* gene expression in the hippocampus by increasing chromatin acetylation of their promoters

We next evaluated, using qRT-PCR, the expression of *neuroD1* and *bdnf*, two genes that are associated with neuronal differentiation and maturation: *neuroD1* is a key transcription factor essential for terminal differentiation of the granule cells in the hippocampus (Gao et al., 2009) and *bdnf* depletion studies targeted in the hippocampus have recently demonstrated its crucial role for the terminal differentiation of new neurons in the adult mice (Chan et al., 2008). We found a significant increase of *neuroD1* mRNA as soon as 1.5 d after CSP-TTK21 injection in mice (1.34-fold, $p = 0.0344$, $n = 5$), and the mean mRNA level was still larger, although not significantly, after 3 d (1.21-fold, $p = 0.3876$, $n = 5$; Fig. 6A). The *bdnf* gene has a very complex structure that allows the production of different splice variants and, in the hippocampus, it is regulated through activation of different promoters, mainly I and IV (Lubin et al., 2008; Tian et al., 2009). Total (tot *bdnf*), exon I (*bdnf_eI*), and exon IV (*bdnf_eIV*) *bdnf* mRNA levels were measured in response to CSP-TTK21 (Fig. 6B). At day 1.5 after injection, total *bdnf* transcripts were already significantly increased by >2-fold in CSP-TTK21-treated animals compared with CSP controls ($**p = 0.0041$, $n = 5$), an effect mediated in part through *bdnf* I promoter activation (1.40-fold, $**p = 0.0090$, $n = 5$). At this early time point, *bdnf_eIV* transcripts were not altered by the treatment ($p = 0.2911$, $n = 5$). At day 3, total *bdnf* transcripts were still significantly induced by CSP-TTK21 ($*p = 0.0352$, $n = 5$) compared with CSP, but less markedly than at day 1.5 (1.4- vs 2.32-fold). Both *bdnf_eI* and *bdnf_eIV* transcripts were upregulated in response to CSP-TTK21 (1.58-fold, $*p = 0.0305$ and 1.52-fold, $**p = 0.0099$, respectively).

We next prepared the chromatin from dorsal hippocampi of mice 1.5 d after injection of CSP or CSP-TTK21 ($n = 3/\text{group}$) to determine whether *neuroD1* and *bdnf* promoters were enriched with acetylated-H2B histone. Gels from semiquantitative PCR analyses of promoters are shown in Figure 6C and the quantification of immunoprecipitated DNA relative to its corresponding input is presented in Figure 6D. In good correlation with gene

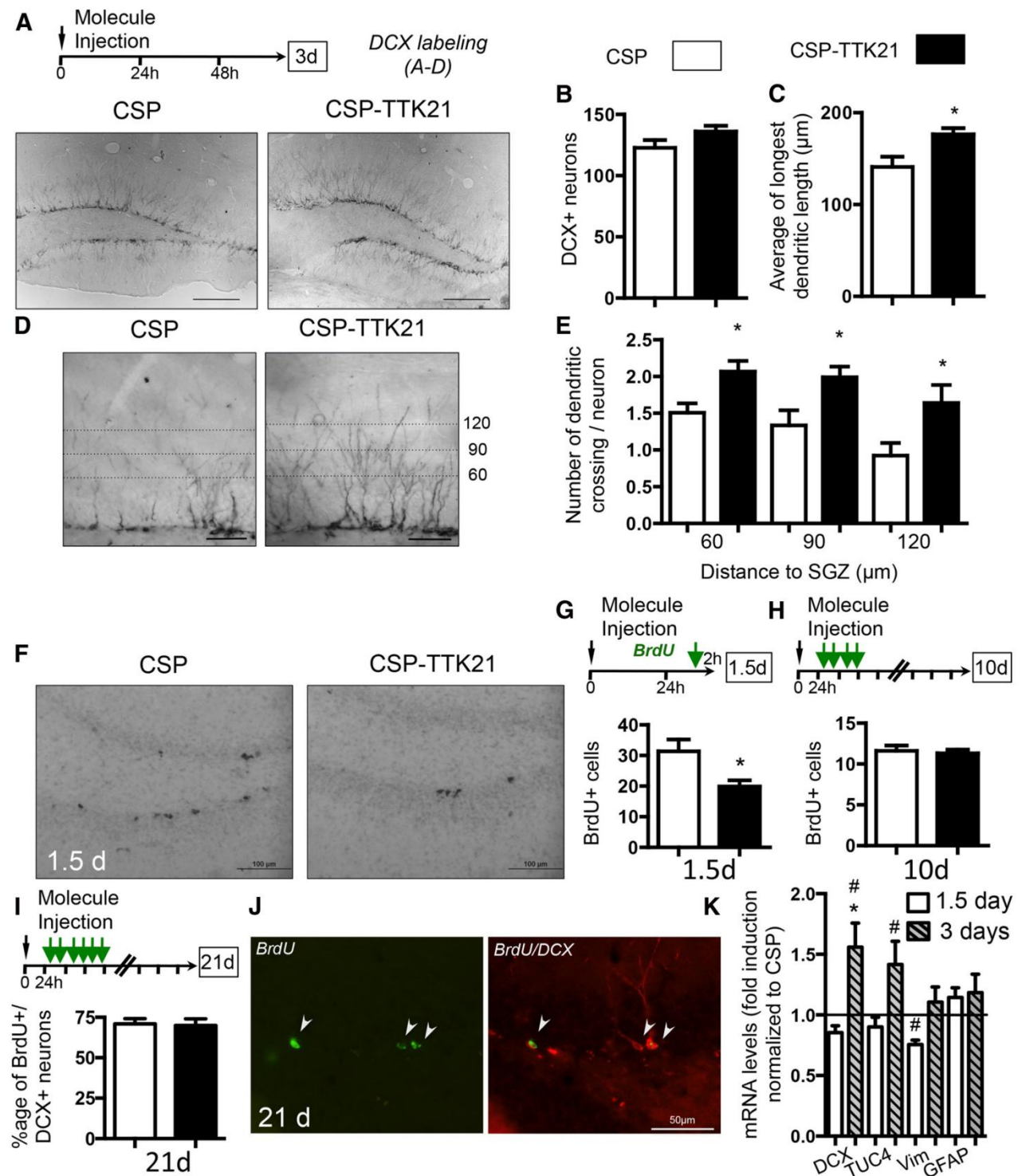


Figure 5. CSP-TTK21 stimulates the maturation step of adult neurogenesis in the SGZ of the dentate gyrus. *A–D*, Immunohistochemistry analysis of the dentate gyrus of mice 3 d after intraperitoneal injection of either CSP alone or CSP-TTK21 (20 mg/kg body weight) using an antibody against DCX followed by DAB staining. A typical photograph is shown (*A*). Scale bars, 100 μm. The timeline for injection and euthanasia is shown. *B*, Histograms representing the number of DCX-positive neurons per section (4–6 sections/animal). *C*, The average of the longest dendrites associated to all DCX-positive new neurons within one hippocampus was calculated and is represented as a histogram for each condition (CSP: 141.1 μm vs CSP-TTK21: 176.9 μm, **p* = 0.0177, 4–6 sections/animal). *D*, Typical cropped image from *A* is shown, on which the number of dendrites crossing virtual lines drawn at 60, 90, and 120 μm from the SGZ was counted (*n* = 5 images/animal). *E*, Histograms represent the dendritic crossing per DCX-positive neuron averaged from 3 animals. Student's *t* test. **p* < 0.05. Scale bars, 100 μm. Note that dendritic branching is still dense at the very end of the dendrites in CSP-TTK21 compared with CSP treated mice. *F–J*, CSP-TTK21 effect on adult neurogenesis after BrdU injection (100 mg/kg). Different protocols have been performed to show proliferative and/or survival effects after 1.5 d (*F,G*), 10 d (*H*), or 21 d (*I,J*). Protocols are schematically summarized above each quantitated histogram, in which the number of BrdU injections and their timing are represented by a green arrow (*G–I*). Representative images (*F*) show that CSP-TTK21 exerts an antiproliferative effect on newly generated neurons at an early time point after injection (1.5 d; *n* = 3–4/group). Scale bars, 100 μm. *H*, A similar number of BrdU-positive neurons was counted in both CSP- and CSP-TTK21-treated mice (*n* = 3/group) (*Figure legend continues.*)

expression studies (Fig. 6*A,B*), there was a significant enrichment in acetylated histone on the *neuroD1* and *bdnf* promoters in response to CSP-TTK21 treatment, whereas acetylated histone at the *bdnf* PIV promoter remained unchanged. Therefore, our studies support a molecular link between the acetylation of H2B by the HAT activator molecule and the expression of *neuroD1* and *bdnf*, two genes implicated in enhanced maturation and differentiation of adult neuronal progenitors in response to CSP-TTK21 injection.

Last, we verified that increased *bdnf* gene expression was leading to the production of its precursor protein pro-BDNF in the dorsal hippocampus of CSP- and CSP-TTK21-treated mice 1.5 and 3 d after injection (Fig. 6*E,F*). We show that CSP-TTK21 induces a significant 1.5-fold increase in protein levels at both days (day 1.5: $p = 0.0008$ and day 3: $p = 0.0015$, $n = 5$), whereas GFAP and NeuN protein levels remained unchanged upon treatment. Therefore, increased *bdnf* mRNA levels at both 1.5 and 3 d after injection could account for the increased pro-BDNF protein levels found at these time points.

CSP-TTK21 treatment extends memory duration in adult mice

Because CSP-TTK21 activates histone acetylation in the brain and differentiation of newly generated neurons, we further tested the HAT activator as a potential promnesic molecule in a hippocampus-dependent task taxing spatial reference memory. We first defined the retention profile of mice in our experimental room following a weak learning protocol of acquisition (Fig. 7*A*). Compared with a standard protocol of 5 training days or more, our mice ($n = 30$) were trained in the Morris water maze for only 3 d: they had to search the location of platform hidden at a fixed place. Latencies to reach the platform are shown in Figure 7*A*, left. There was a significant improvement of learning over the 3 d ($F_{(2,58)} = 7.46$; $p < 0.01$). After acquisition, a 60 s probe test, for which the platform was removed, was given at postacquisition delays of 2, 7, or 14 d ($n = 10$ /group). The time spent in the target quadrant (T) was compared with the average time spent in the 3 other quadrants (O) (Fig. 7*A*, right). Despite mild learning, mice did significantly recall the platform location after 2 d of rest ($***p < 0.0001$) and even after 7 d ($***p = 0.0008$). However, they had forgotten this location after 14 d ($p = 0.0728$). We also compared whether the searching time in the target quadrant was significantly superior to that accounting for a random distribution of the swim track pattern (15 s, solid line), which was the case for retention tested after 2 ($###p = 0.0025$), 7 ($#p = 0.0109$), but not 14 ($p = 0.1160$) days. Therefore, we further evaluated retention performance of new groups of mice treated with either CSP alone as control or CSP-TTK21 at two different time points (Fig. 7*B*). In this protocol, we made a single injection of the molecule 3 d before acquisition, so that when the training started (Acqui-

sition A1), the hippocampus already displayed increased acetylation levels (Fig. 4), accelerated maturation of young adult neurons (Fig. 5*A–D*), and increased pro-BDNF expression (Fig. 6*F*). We tested retention after 2 d, because at this retention time, performance can still be ameliorated despite mice already displaying searching scores above chance. Indeed, this mouse strain could reach an average of 30–33 s of focused search in the target quadrant after a regular 5-day training in our experimental room (data not shown). However, as seen in Figure 7*C*, right, whether treated with HAT activator (CSP-TTK21) or not (CSP alone), performance of the mice was similar: they were significantly increased in the target quadrant compared with the other quadrants ($***p = 0.0001$ for both CSP and CSP-TTK21 groups, $n = 10$) and the search time in the target quadrant was significantly larger than chance ($###p = 0.0001$ for CSP and $###p = 0.0006$ for CSP-TTK21). Scores reached by CSP-TTK21-treated mice were equal to those of CSP-treated mice (23.6 vs 23.9 s in T). We also tested retention performance after 16 d, a retention day at which searching scores of mice trained for 3 d are usually not different from chance. Figure 7*D* shows that CSP-treated mice ($n = 12$) performed as well as nontreated mice (shown in Fig. 7*A*, 14 d); the search did not focus on the target quadrant and it was not different from chance in the target quadrant. However, CSP-TTK21-treated mice did show a significant search in the target quadrant compared with others ($***p = 0.001$) and the searching score was above chance ($#p = 0.0117$). CSP-TTK21 treatment had no effect on acquisition performance (Fig. 7*C,D*, left). ANOVA revealed a significant effect of day for each group (Fig. 7*C*: $F_{(2,36)} = 9.06$; $p < 0.001$; Figure 7*D*: $F_{(2,44)} = 17.87$; $p < 0.00001$), but no significant effect of treatment (Fig. 7*C*: $F_{(1,18)} = 0.35$; $p = 0.55$; Fig. 7*D*: $F_{(1,22)} = 0.28$; $p = 0.59$). These data show that CSP-TTK21-induced HAT activation in mice affects the persistence of a spatial memory by extending the time during which this memory can be retrieved.

Finally, we measured the expression of several genes related to memory and hippocampal/neuronal excitability: *Egr-1*, *Arc*, *cFos* (Guzowski et al., 2001), *CREB1* (Lopez de Armentia et al., 2007), *Fosl2*, and *Nr4A2* (Hawk and Abel, 2011; Hawk et al., 2012) at the basal level (nonbehaving animals) and in response to CSP-TTK21 compared with CSP alone (Fig. 8). None of the genes tested was altered at day 1.5. However, *Nr4A2* and *cFos* showed a significant increase 3 d after injection compared with CSP controls (1.48-fold, $*p = 0.0410$ and 1.87-fold, $**p = 0.0092$, respectively). *cFos* was also significantly induced at day 3 compared with day 1.5 (1.79-fold, $###p = 0.0029$). *Fosl2* showed a nonsignificant trend to increase at day 3 compared with CSP controls (1.47-fold, $p = 0.0948$) and it was significantly increased at day 3 compared with day 1.5 (1.9-fold, $#p = 0.0159$). *CREB1* presented a nonsignificant induction ($p = 0.1189$) and *Egr-1* and *Arc* levels remained unchanged after CBP/p300 activation.

Discussion

In this study, we synthesized a novel HAT activator molecule (CSP-TTK21) and demonstrated its ability to improve some brain functions *in vivo*. We first showed that TTK21 activates CBP and p300 *in vitro*. Covalently bound to a CSP nanosphere, it increased histone acetylation in several brain regions, including the frontal cortex and the dorsal hippocampus, without apparent toxicity. Functional analyses showed that CSP-TTK21 promoted differentiation and maturation of young adult hippocampal neurons and improved long-term retention of a spatial memory. Because pharmacological activation of CBP/p300 has never been achieved *in vivo*, mostly because of the poor permeability of HAT activators (Selvi et al., 2008),

←
(Figure legend continued.) 10 d after the injections. *I, J*, CSP and CSP-TTK21-treated mice ($n = 3$ /group) were injected with BrdU twice a day for 3 d and killed at day 21 for BrdU and DCX colabeling. The images shown in *J* depict three BrdU-positive/DCX-positive neurons as typically observed in CSP-TTK21 mice. Scale bar, 50 μ m. The same results were observed in the CSP-treated group. Quantification in *I* shows that ~75% of the all BrdU-positive cells counted in the dentate gyrus (hill included) are double labeled with DCX. *K*, qRT-PCR analyses of mRNA levels in response to CSP and CSP-TTK21 treatment. Mice ($n = 5$ /group) were treated and killed either 1.5 or 3 d after intraperitoneal injection as indicated. Data are represented as the fold induction by CSP-TTK21 normalized to CSP alone. mRNA quantities have been normalized with RNA polII levels measured in each sample. Student's *t* test, $*p < 0.05$ when CSP-TTK21 is compared with CSP alone; $#p < 0.05$ when CSP-TTK21 at day 3 is compared with CSP-TTK21 at day 1.5.

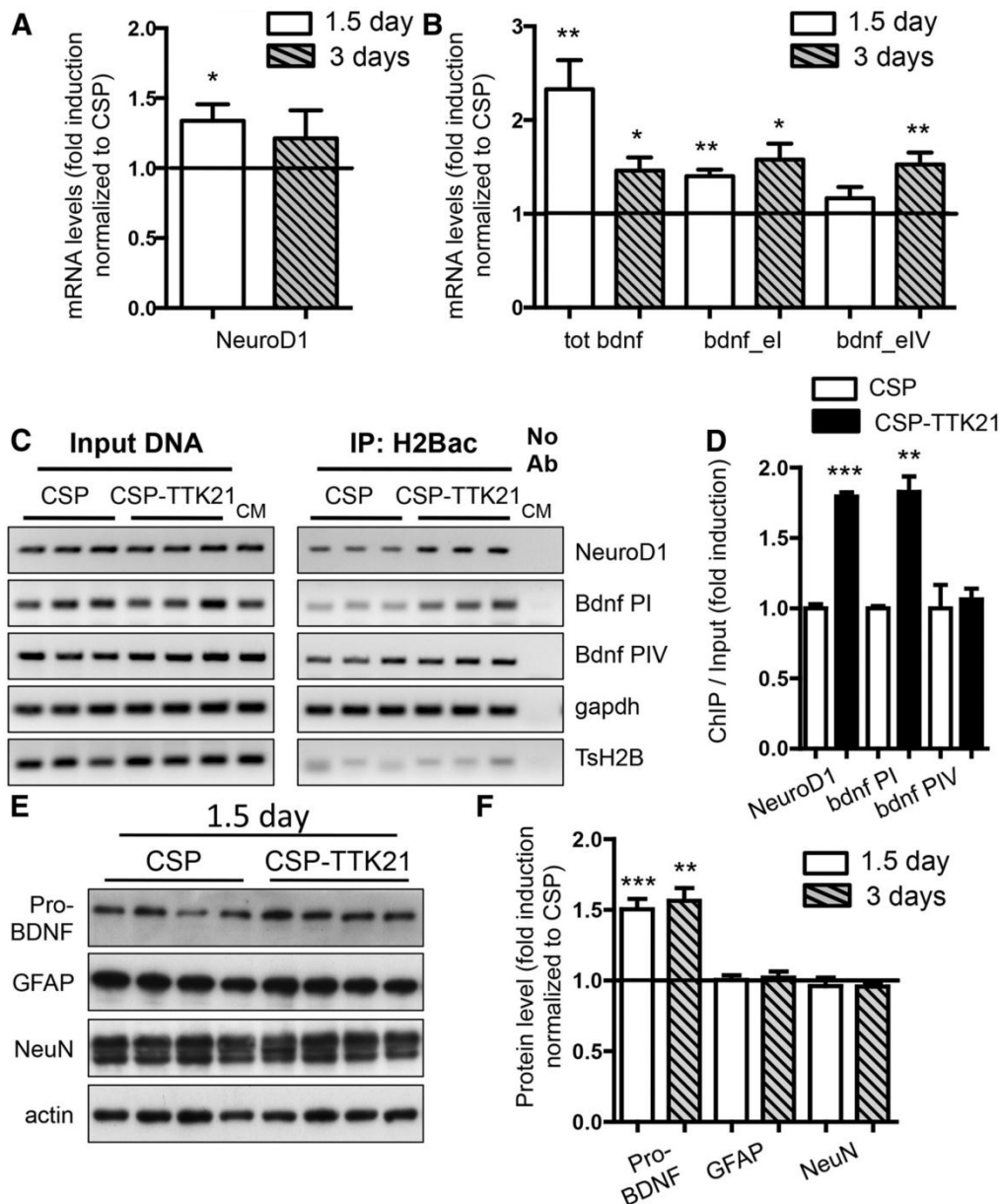


Figure 6. CSP-TTK21 stimulates *neuroD1* and *bdnf* expression in the hippocampus. **A, B**, qRT-PCR analyses of mRNA levels in response to CSP and CSP-TTK21 treatment. Mice ($n = 5$ /group) were treated and killed either 1.5 or 3 d after intraperitoneal injection as indicated. Data are represented as the fold induction by CSP-TTK21 normalized to CSP alone. mRNA quantities have been normalized with RNA polII levels measured in each sample. Student's *t* test, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, when CSP-TTK21 is compared with CSP alone. At day 1.5 after injection, *neuroD1* mRNA levels are significantly increased in mice treated with the HAT activator (**A**), and mRNA representative of total *Bdnf*, in part through activation of its promoter I, but not of promoter IV. At day 3, both *bdnf_exon I* and IV were upregulated by CSP-TTK21 treatment (**B**). **C, D**, Chromatin immunoprecipitation performed on dorsal hippocampus of mice injected with either CSP or CSP-TTK21 ($n = 3$ /group). Chromatin was isolated 1.5 d after molecule injection. Specific promoter targets were evaluated by semiquantitative PCR. Results are shown in triplicate (**C**) with input DNA (left) and immunoprecipitated samples (right). CM indicates chromatin mix; No Ab, no primary antibody. **D**, Quantification of immunoprecipitated material relative to its input level is represented as the fold induction where the CSP-treated group is arbitrarily set at 1. ** $p < 0.01$ and * $p < 0.05$ compared with CSP alone. **E, F**, Western blot analyses of proteins obtained from the dorsal hippocampi of mice treated with CSP or CSP-TTK21 for either 1.5 or 3 d. Pro-BDNF was significantly increased by the CBP/p300 activator, whereas the level of the glial (GFAP) and neuronal (NeuN) markers were not changed. Typical autoradiograms obtained for 1.5 d samples are shown (**E**) and their quantification is shown in **F**. Student's *t* test, *** $p < 0.001$ and ** $p < 0.01$ compared with CSP alone.

these results represent an important scientific advance and open new therapeutic options for brain diseases.

CBP/p300 activation favors differentiation of newly generated neurons in the dorsal hippocampus

A main result of this study is the dramatic effect of CSP-TTK21 on the dendritic network only 3 d after injection. Whereas the number of DCX-labeled neurons was unchanged, there was an

increase in dendritic length and arborization and in mRNAs of immature neuronal markers (DCX, TUC4; Fig. 5), suggesting that the HAT activator had an impact on young hippocampal neurons already generated before its injection and accelerated their maturation. It is likely that CSP-TTK21-induced expression of *neuroD1* contributed to this rapid maturation. Indeed, *neuroD*-lacking mice present hippocampal granule progenitors failing to mature and having little dendritic arborization (Schwab

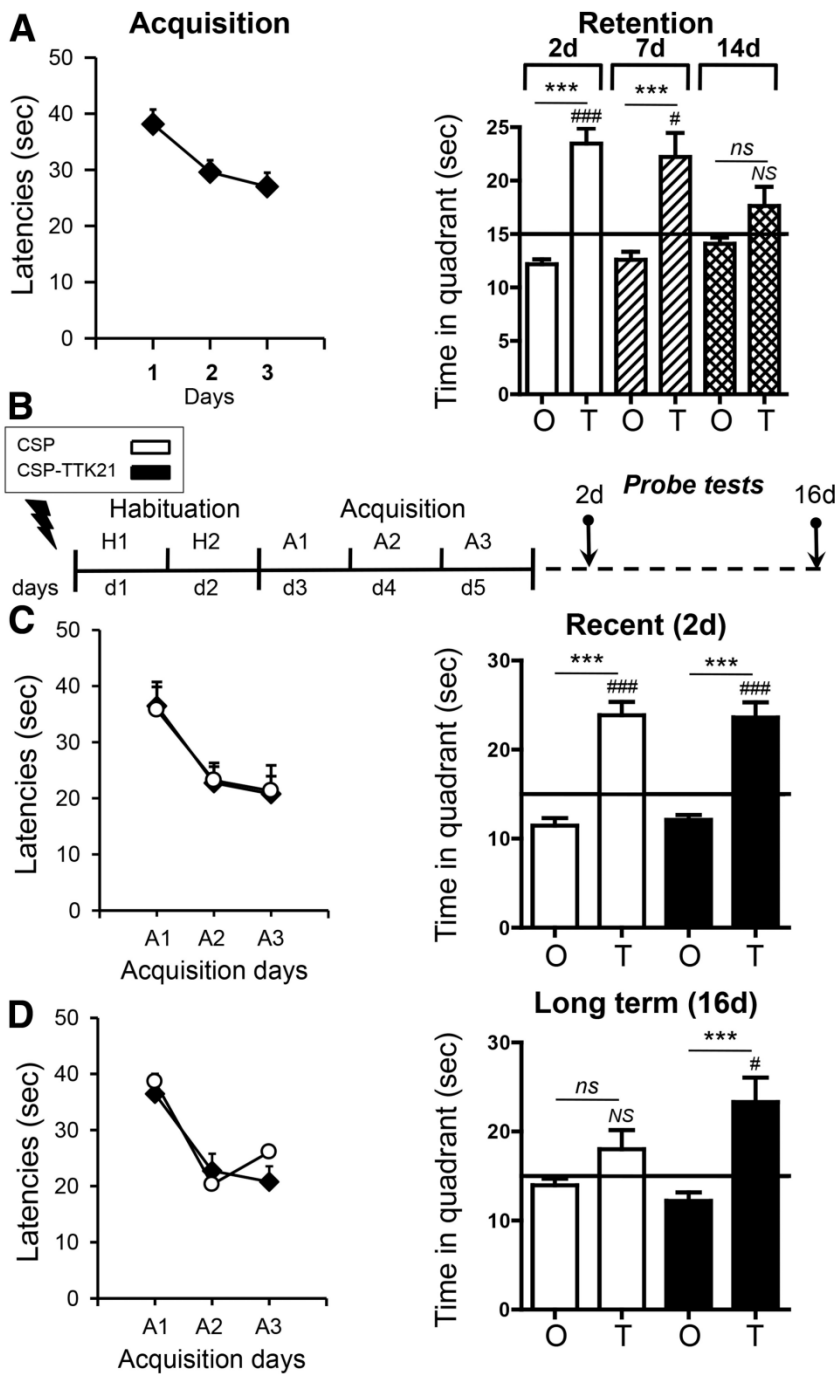


Figure 7. HAT activator-induced acetylation in the brain does not affect learning or recent memory, but extends memory duration. **A**, Three groups of mice ($n = 10/\text{group}$) were trained using a Morris water maze protocol for only 3 d to ensure a “weak learning” (i.e., leaving possibilities of amelioration). Left: Acquisition performance is shown as latencies to reach the platform. Right: Mice were tested for retention in a probe trial performed either after 2, 7, or 14 d after the last training session as indicated. The time spent in the target quadrant (T) is represented; compare with the time spent in the average of the three other quadrants (O). The mice undergoing a weak learning show low but significant retention performance at day 2 and 7 and no recall of the platform location at day 14. **B**, Timeline of CSP and CSP-TTK21 injection relative to the training protocol. **C, D**, Two groups of mice ($n = 20\text{--}22/\text{group}$) treated with either CSP or CSP-TTK21 were trained as in **A** and tested for retention in a probe test either at 2 d for recent memory (**C**) or 16 d for long-term memory (**D**). Latencies are shown on the left. During training, the latencies decreased over sessions in a similar way in both treatment groups to be tested for retention at a 2-day postacquisition delay versus a 16-day delay. Retention scores are shown on the right. Retention of the platform location was lost after 16 d in CSP-treated mice, as expected from results obtained in nontreated mice (**B**, 14 d), but CSP-TTK21 mice still displayed performance accounting for significant retention of the platform location. Student’s t test, $***p < 0.001$ or ns (nonsignificant) comparing T with O. $###p < 0.001$, $\#p < 0.05$, or nonsignificant (NS) when T is compared with random performance (15 s, solid line).

et al., 2000). Concomitantly, there was a reduction of BrdU incorporation, demonstrating an antiproliferative effect of CSP-TTK21. These results are consistent with the fact that differentiation of progenitors follows different processes, such as blockade of the cell cycle, increase of differentiation markers, and production of structural proteins (Kempermann et al., 2004), so that progenitors cannot proliferate and differentiate at the same time. We report herein that these processes are most likely relevant to CBP/p300 activation *in vivo*, which initiate the transcription of specific CBP-dependent genes such as *neuroD1* (Sun et al., 2001). So far, CBP histone acetyltransferase activity was shown to regulate embryonic neural differentiation (Wang et al., 2010). Whether the same holds true in adults was unknown. However, whereas basal adult neurogenesis is not affected in *cbp*^{+/-} mice, it was shown that environment-induced adult neurogenesis was significantly impaired in these mice, suggesting that it is extrinsically regulated by CBP function (Lopez-Atalaya et al., 2011). Therefore, our data support a role of CBP in adult neurogenesis, particularly in neuronal maturation and differentiation.

CSP-TTK21 upregulated the *bdnf* gene and its precursor protein pro-BDNF (Fig. 6). BDNF increases dendritic complexity in the dentate gyrus (Danzer et al., 2002). BDNF depletion studies in the hippocampus revealed a proliferative state of granule progenitors and an increase of nondifferentiated DCX-positive neurons (Chan et al., 2008). Therefore, the antiproliferative effect of CSP-TTK 21 coupled to increased progenitor differentiation is in agreement with increased BDNF levels in the dorsal hippocampus.

Survival and differentiation processes are frequently altered during pathological aging, when persistent hippocampal proliferative capacity remains (Verret et al., 2007). Aberrant neurogenesis and unscheduled neuronal cell cycle events have been reported in animal models of Alzheimer’s disease and in actual patients (Herup, 2012). Manipulating endogenous progenitor cells could be useful for brain repair (Lie et al., 2004). Therefore, our HAT activator could open new horizons for treating neurodegenerative diseases.

A new role for CBP/p300 in the persistence of memory

The dorsal hippocampus plays a major role in memory formation (Frankland and Bontempi, 2005). Many studies have established a role for CBP and p300 in

memory processes (Barco, 2007; Oliveira et al., 2007; Barrett and Wood, 2008; Barrett et al., 2011; Oliveira et al., 2011). The activation of the CREB signaling pathway—a major target of CBP/p300—increases spatial memory strength in weakly trained animals (Sekeres et al., 2010). Therefore, a surprising result was that enhancing CBP/p300 activity in the brain did not enhance spatial memory performance at a short postacquisition delay. CSP-TTK21 treatment, however, was able to extend memory vividness to 16 d after acquisition, a delay at which controls showed bad performance. In fact, it seems that most CBP mutants are deficient in some hippocampus-dependent forms of memory, particularly for object recognition, but not or poorly in spatial memory (Oike et al., 1999; Alarcón et al., 2004; Korzus et al., 2004; Valor et al., 2011). Similarly, conditional p300 knock-out mice exhibit normal spatial memory functions (Oliveira et al., 2011). In all of these studies, retention was tested at short postacquisition delays (< 24 h). Therefore, whereas CBP is not critical for recent memory, it seems implicated in remote spatial memory formation. Consistent with this, CBP/p300 activation results in increased BDNF expression, which is crucial for making memories durable (Bekinschtein et al., 2007; Bekinschtein et al., 2008).

How declarative memories persist for decades is a complex question. Consolidation involves reorganizations at synaptic and system levels, and stabilization of memories requires coordinated hippocampo–cortical interactions (Frankland and Bontempi, 2005; Winocur et al., 2010). We show herein that, in addition to activating histone acetylation in the dorsal hippocampus, CSP-TTK21 injected systemically also induced histone acetylation in the frontal cortex and other brain parts (Fig. 3G). Therefore, because we applied our treatment just before training, one possibility is that CSP-TTK21 allowed a specific tagging in some cortical subregions, thereby reinforcing a hippocampo–cortical dialogue to form a persistent memory, as described recently (Lesburguères et al., 2011).

Adult hippocampal neurogenesis is required for hippocampus-dependent memory, and new adult-generated neurons contribute to spatial memory updating and strengthening (Touche et al., 2009). Young adult neurons, particularly those that mature after training, are important for remote memory, especially in spatial tasks (Goodman et al., 2010; Arruda-Carvalho et al., 2011). It is also hypothesized that newly formed neurons could facilitate pattern separation and spatial memory resolution/completion by tagging CA3 neurons (Deng et al., 2010; Aimone et al., 2011; Sahay et al., 2011). With our injection timing (3 d before training day 1), the CSP-TTK21-induced differentiation occurred on previously generated new neurons (1–3 weeks old) and therefore might have contributed to more appropriate integration of these young adult neurons within the memory-fixing circuitry at the time of training, an effect that is beneficial for memory (Goodman et al., 2010).

Ultimately, whether the effect on memory retention is relevant to the HAT activator effect on cortical and hippocampal regions or on adult neurogenesis remains to be investigated by more specific approaches.

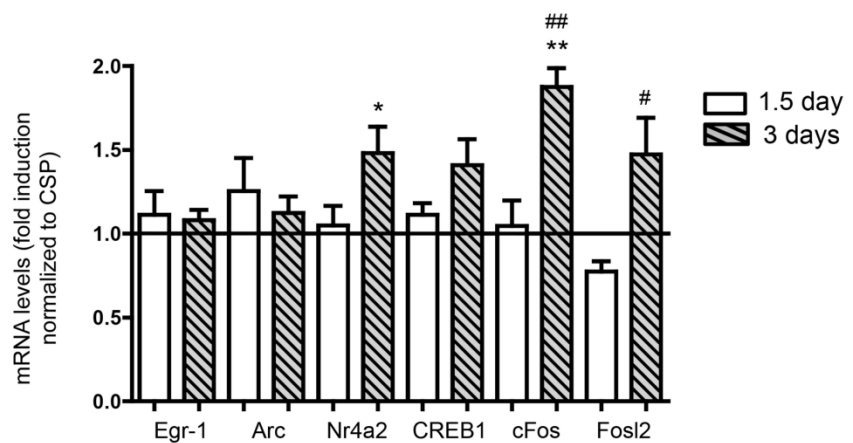


Figure 8. CSP-TTK21 activates selective transcription in the hippocampus. Several memory/plasticity-related genes were evaluated by qRT-PCR in the same conditions as in Fig. 6A. Student's *t* test, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ comparing CSP-TTK21 with CSP alone. # $p < 0.05$, ## $p < 0.01$ when CSP-TTK21 at day 3 is compared with CSP-TTK21 at day 1.5. Note that gene transcription is not widely activated by CSP-TTK21 in nonbehaving animals, with only a few of the genes (Nr4a2, cFos, Fosl2) being activated 3 d after injection.

A new therapeutic option for memory-related diseases?

In addition to their opposite modes of action, a major difference between HATs and HDACs is their recruitment to the chromatin loci. HDACs are usually part of corepressor complexes targeted to a specific locus by protein/protein interactions such as HDAC1 with MeCP2 (Jones et al., 1998; Nan et al., 1998), dnmt1 (Fuks et al., 2000), or PP1 (Koshibu et al., 2009). HATs such as CBP and p300, in addition to being part of large coactivator complexes, possess bromodomains so that they can be targeted to chromatin through interaction with acetylated histones (Yang, 2004). It is thus plausible that HAT induction may have functional consequences different from those of HDAC inhibition; they will not necessarily be on the same gene at the same time. In addition, specific histone marks are acetylated during memory formation (Bousiges et al., 2013; Peixoto and Abel, 2013), marks that are more reliably performed by activating the writers (HATs) than blocking the erasers (HDACs). In nonbehaving animals, CSP-TTK21 was able to activate specific transcriptional programs related to differentiation (Neuro D1, DCX, TUC4, BDNF), neuronal excitability (cFos), or memory (Fosl2, Nr4a2), but transcription was not activated randomly because Egr-1 or Arc was not responsive to CBP/p300 HAT activation (Fig. 8).

Transcriptional dysfunctions have been reported in many neurodegenerative diseases and HDAC inhibitors are widely used in animal models to increase acetylation levels and reestablish genetic programs in the brain (Kazantsev and Thompson, 2008; Gräff et al., 2011). In particular, HDAC inhibitors preserve memory function or ameliorate the pathological condition in animal models of Alzheimer's disease (Ricobaraza et al., 2009; Kilgore et al., 2010; Ricobaraza et al., 2011; Govindarajan et al., 2011; Ricobaraza et al., 2012). Although recent progress has been made in deciphering the role of specific HDACs in learning and memory functions (Guan et al., 2009; McQuown and Wood, 2011; Bahari-Javan et al., 2012; Agis-Balboa et al., 2013) and in adult neurogenesis (Jawerka et al., 2010), HDACs represent a large family of isoforms and it is hard to predict which ones to target in a particular pathological context (Fischer et al., 2010). Furthermore, the development of effective treatments based on HDAC inhibition is limited by a lack of specificity of currently available molecules that often block many, if not all, HDAC isoforms (Khan et al.,

2008). The data presented here open, for the first time, a new era of research to investigate the CBP/p300 activation function in the brain *in vivo*. As an alternative to blocking HDACs, we propose a direct stimulation of acetyltransferase function, which could have important implications in terms of therapeutic options for neurodegenerative diseases, in which increasing the survival and maturation of endogenous progenitor cells may benefit functional recovery.

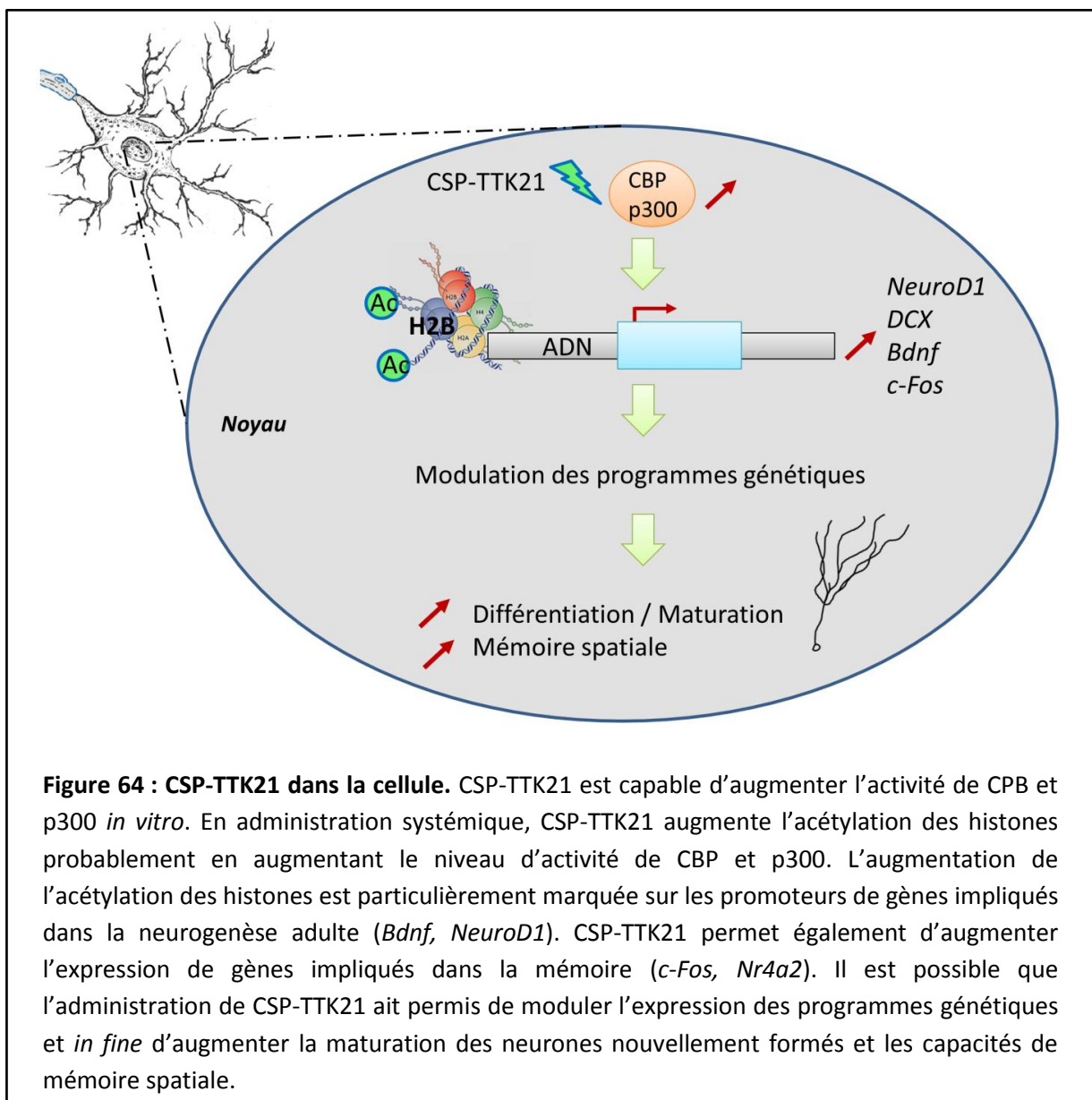
References

- Agis-Balboa RC, Pavelka Z, Kerimoglu C, Fischer A (2013) Loss of HDAC5 impairs memory function: implications for Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis* 33:35–44. [CrossRef Medline](#)
- Aimone JB, Deng W, Gage FH (2011) Resolving new memories: a critical look at the dentate gyrus, adult neurogenesis, and pattern separation. *Neuron* 70:589–596. [CrossRef Medline](#)
- Alarcón JM, Malleret G, Touzani K, Vronskaya S, Ishii S, Kandel ER, Barco A (2004) Chromatin acetylation, memory, and LTP are impaired in CBP[±] mice: a model for the cognitive deficit in Rubinstein-Taybi syndrome and its amelioration. *Neuron* 42:947–959. [CrossRef Medline](#)
- Arif M, Vedamurthy BM, Choudhari R, Ostwal YB, Mantelingu K, Kodaganur GS, Kundu TK (2010) Nitric oxide-mediated histone hyperacetylation in oral cancer: target for a water-soluble HAT inhibitor, CTK7A. *Chem Biol* 17:903–913. [CrossRef Medline](#)
- Arruda-Carvalho M, Sakaguchi M, Akers KG, Josselyn SA, Frankland PW (2011) Posttraining ablation of adult-generated neurons degrades previously acquired memories. *J Neurosci* 31:15113–15127. [CrossRef Medline](#)
- Bahari-Javan S, Maddalena A, Kerimoglu C, Wittnam J, Held T, Bähr M, Burkhardt S, Delalle I, Kügler S, Fischer A, Sananbenesi F (2012) HDAC1 regulates fear extinction in mice. *J Neurosci* 32:5062–5073. [CrossRef Medline](#)
- Balasubramanyam K, Swaminathan V, Ranganathan A, Kundu TK (2003) Small molecule modulators of histone acetyltransferase p300. *J Biol Chem* 278:19134–19140. [CrossRef Medline](#)
- Barco A (2007) The Rubinstein-Taybi syndrome: modeling mental impairment in the mouse. *Genes Brain Behav* 6:32–39. [CrossRef Medline](#)
- Barrett RM, Wood MA (2008) Beyond transcription factors: the role of chromatin modifying enzymes in regulating transcription required for memory. *Learn Mem* 15:460–467. [CrossRef Medline](#)
- Barrett RM, Malvaez M, Kramer E, Matheos DP, Arrizon A, Cabrera SM, Lynch G, Greene RW, Wood MA (2011) Hippocampal focal knockout of CBP affects specific histone modifications, long-term potentiation, and long-term memory. *Neuropsychopharmacology* 36:1545–1556. [CrossRef Medline](#)
- Bekinschtein P, Cammarota M, Igaz LM, Bevilaqua LR, Izquierdo I, Medina JH (2007) Persistence of long-term memory storage requires a late protein synthesis- and BDNF-dependent phase in the hippocampus. *Neuron* 53:261–277. [CrossRef Medline](#)
- Bekinschtein P, Cammarota M, Katze C, Slipczuk L, Rossato JJ, Goldin A, Izquierdo I, Medina JH (2008) BDNF is essential to promote persistence of long-term memory storage. *Proc Natl Acad Sci U S A* 105:2711–2716. [CrossRef Medline](#)
- Bousiges O, Vasconcelos AP, Neidl R, Cosquer B, Herbeaux K, Panteleeva I, Loeffler JP, Cassel JC, Boutillier AL (2010) Spatial memory consolidation is associated with induction of several lysine-acetyltransferase (histone acetyltransferase) expression levels and H2B/H4 acetylation-dependent transcriptional events in the rat hippocampus. *Neuropsychopharmacology* 35:2521–2537. [CrossRef Medline](#)
- Bousiges O, Neidl R, Majchrzak M, Muller MA, Barbelivien A, Pereira de Vasconcelos A, Schneider A, Loeffler JP, Cassel JC, Boutillier AL (2013) Detection of histone acetylation levels in the dorsal hippocampus reveals early tagging on specific residues of H2B and H4 histones in response to learning. *PLoS One* 8:e57816. [CrossRef Medline](#)
- Caccamo A, Maldonado MA, Bokov AF, Majumder S, Oddo S (2010) CBP gene transfer increases BDNF levels and ameliorates learning and memory deficits in a mouse model of Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 107:22687–22692. [CrossRef Medline](#)
- Chan JP, Cordeira J, Calderon GA, Iyer LK, Rios M (2008) Depletion of central BDNF in mice impedes terminal differentiation of new granule neurons in the adult hippocampus. *Mol Cell Neurosci* 39:372–383. [CrossRef Medline](#)
- Chen G, Zou X, Watanabe H, van Deursen JM, Shen J (2010) CREB binding protein is required for both short-term and long-term memory formation. *J Neurosci* 30:13066–13077. [CrossRef Medline](#)
- Danzer SC, Crooks KR, Lo DC, McNamara JO (2002) Increased expression of brain-derived neurotrophic factor induces formation of basal dendrites and axonal branching in dentate granule cells in hippocampal explant cultures. *J Neurosci* 22:9754–9763. [Medline](#)
- Deng W, Aimone JB, Gage FH (2010) New neurons and new memories: how does adult hippocampal neurogenesis affect learning and memory? *Nat Rev Neurosci* 11:339–350. [CrossRef Medline](#)
- Fischer A, Sananbenesi F, Mungenast A, Tsai LH (2010) Targeting the correct HDAC(s) to treat cognitive disorders. *Trends Pharmacol Sci* 31:605–617. [CrossRef Medline](#)
- Frankland PW, Bontempi B (2005) The organization of recent and remote memories. *Nat Rev Neurosci* 6:119–130. [CrossRef Medline](#)
- Fuks F, Burgers WA, Brehm A, Hughes-Davies L, Kouzarides T (2000) DNA methyltransferase Dnmt1 associates with histone deacetylase activity. *Nat Genet* 24:88–91. [CrossRef Medline](#)
- Gao Z, Ure K, Ables JL, Lagace DC, Nave KA, Goebbels S, Eisch AJ, Hsieh J (2009) Neurod1 is essential for the survival and maturation of adult-born neurons. *Nat Neurosci* 12:1090–1092. [CrossRef Medline](#)
- Goodman T, Trouche S, Massou I, Verret L, Zerwas M, Roulet P, Rampon C (2010) Young hippocampal neurons are critical for recent and remote spatial memory in adult mice. *Neuroscience* 171:769–778. [CrossRef Medline](#)
- Govindarajan N, Agis-Balboa RC, Walter J, Sananbenesi F, Fischer A (2011) Sodium butyrate improves memory function in an Alzheimer's disease mouse model when administered at an advanced stage of disease progression. *J Alzheimers Dis* 26:187–197. [CrossRef Medline](#)
- Gräff J, Kim D, Dobbin MM, Tsai LH (2011) Epigenetic regulation of gene expression in physiological and pathological brain processes. *Physiol Rev* 91:603–649. [CrossRef Medline](#)
- Gräff J, Rei D, Guan JS, Wang WY, Seo J, Hennig KM, Nieland TJ, Fass DM, Kao PF, Kahn M, Su SC, Samiei A, Joseph N, Haggarty SJ, Delalle I, Tsai LH (2012) An epigenetic blockade of cognitive functions in the neurodegenerating brain. *Nature* 483:222–226. [CrossRef Medline](#)
- Guan JS, Haggarty SJ, Giacometti E, Dannenberg JH, Joseph N, Gao J, Nieland TJ, Zhou Y, Wang X, Mazitschek R, Bradner JE, DePinho RA, Jaenisch R, Tsai LH (2009) HDAC2 negatively regulates memory formation and synaptic plasticity. *Nature* 459:55–60. [CrossRef Medline](#)
- Guzowski JF, Setlow B, Wagner EK, McGaugh JL (2001) Experience-dependent gene expression in the rat hippocampus after spatial learning: a comparison of the immediate-early genes Arc, c-fos, and zif268. *J Neurosci* 21:5089–5098. [Medline](#)
- Hawk JD, Abel T (2011) The role of NR4A transcription factors in memory formation. *Brain research bulletin* 85:21–29. [CrossRef Medline](#)
- Hawk JD, Bookout AL, Poplawski SG, Bridi M, Rao AJ, Sulewski ME, Kroener BT, Manglesdorf DJ, Abel T (2012) NR4A nuclear receptors support memory enhancement by histone deacetylase inhibitors. *J Clin Invest* 122:3593–3602. [CrossRef Medline](#)
- Herrup K (2012) The contributions of unscheduled neuronal cell cycle events to the death of neurons in Alzheimer's disease. *Front Biosci (Elite Ed)* 4:2101–2109. [Medline](#)
- Hsieh J, Eisch AJ (2010) Epigenetics, hippocampal neurogenesis, and neuropsychiatric disorders: unraveling the genome to understand the mind. *Neurobiol Dis* 39:73–84. [CrossRef Medline](#)
- Jawerka M, Colak D, Dimou L, Spiller C, Lager S, Montgomery RL, Olson EN, Wurst W, Göttlicher M, Götz M (2010) The specific role of histone deacetylase 2 in adult neurogenesis. *Neuron Glia Biol* 6:93–107. [CrossRef Medline](#)
- Jones PL, Veenstra GJ, Wade PA, Vermaak D, Kass SU, Landsberger N, Strouboulis J, Wolffe AP (1998) Methylated DNA and MeCP2 recruit histone deacetylase to repress transcription. *Nat Genet* 19:187–191. [CrossRef Medline](#)
- Kazantsev AG, Thompson LM (2008) Therapeutic application of histone deacetylase inhibitors for central nervous system disorders. *Nat Rev Drug Discov* 7:854–868. [CrossRef Medline](#)
- Kempermann G (2012) New neurons for 'survival of the fittest'. *Nat Rev Neurosci* 13:727–736. [CrossRef Medline](#)
- Kempermann G, Jessberger S, Steiner B, Kronenberg G (2004) Milestones of neuronal development in the adult hippocampus. *Trends in neurosciences* 27:447–452. [CrossRef Medline](#)

- Khan N, Jeffers M, Kumar S, Hackett C, Boldog F, Khramtsov N, Qian X, Mills E, Berghs SC, Carey N, Finn PW, Collins LS, Tumber A, Ritchie JW, Jensen PB, Lichenstein HS, Sehested M (2008) Determination of the class and isoform selectivity of small-molecule histone deacetylase inhibitors. *Biochem J* 409:581–589. [CrossRef Medline](#)
- Kilgore M, Miller CA, Fass DM, Hennig KM, Haggarty SJ, Sweatt JD, Rumbaugh G (2010) Inhibitors of class I histone deacetylases reverse contextual memory deficits in a mouse model of Alzheimer's disease. *Neuropsychopharmacology* 35:870–880. [CrossRef Medline](#)
- Korzus E, Rosenfeld MG, Mayford M (2004) CBP histone acetyltransferase activity is a critical component of memory consolidation. *Neuron* 42:961–972. [CrossRef Medline](#)
- Koshibu K, Gräff J, Beullens M, Heitz FD, Berchtold D, Russig H, Farinelli M, Bollen M, Mansuy IM (2009) Protein phosphatase 1 regulates the histone code for long-term memory. *J Neurosci* 29:13079–13089. [CrossRef Medline](#)
- Kundu TK, Wang Z, Roeder RG (1999) Human TFIIC relieves chromatin-mediated repression of RNA polymerase III transcription and contains an intrinsic histone acetyltransferase activity. *Mol Cell Biol* 19:1605–1615. [Medline](#)
- Lesburguères E, Gobbo OL, Alaux-Cantin S, Hambucken A, Trifilieff P, Bontempi B (2011) Early tagging of cortical networks is required for the formation of enduring associative memory. *Science* 331:924–928. [CrossRef Medline](#)
- Lie DC, Song H, Colamarino SA, Ming GL, Gage FH (2004) Neurogenesis in the adult brain: new strategies for central nervous system diseases. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 44:399–421. [CrossRef Medline](#)
- Lopez de Armentia M, Jancic D, Olivares R, Alarcón JM, Kandel ER, Barco A (2007) cAMP response element-binding protein-mediated gene expression increases the intrinsic excitability of CA1 pyramidal neurons. *J Neurosci* 27:13909–13918. [CrossRef Medline](#)
- Lopez-Atalaya JP, Ciccarelli A, Viosca J, Valor LM, Jimenez-Minchan M, Canals S, Giustetto M, Barco A (2011) CBP is required for environmental enrichment-induced neurogenesis and cognitive enhancement. *EMBO J* 30:4287–4298. [CrossRef Medline](#)
- Lubin FD, Roth TL, Sweatt JD (2008) Epigenetic regulation of BDNF gene transcription in the consolidation of fear memory. *J Neurosci* 28:10576–10586. [CrossRef Medline](#)
- McQuown SC, Wood MA (2011) HDAC3 and the molecular brake pad hypothesis. *Neurobiol Learn Mem* 96:27–34. [CrossRef Medline](#)
- Nan X, Ng HH, Johnson CA, Laherty CD, Turner BM, Eisenman RN, Bird A (1998) Transcriptional repression by the methyl-CpG-binding protein MeCP2 involves a histone deacetylase complex. *Nature* 393:386–389. [CrossRef Medline](#)
- Oike Y, Hata A, Mamiya T, Kaname T, Noda Y, Suzuki M, Yasue H, Nabeshima T, Araki K, Yamamura K (1999) Truncated CBP protein leads to classical Rubinstein-Taybi syndrome phenotypes in mice: implications for a dominant-negative mechanism. *Hum Mol Genet* 8:387–396. [CrossRef Medline](#)
- Oliveira AM, Wood MA, McDonough CB, Abel T (2007) Transgenic mice expressing an inhibitory truncated form of p300 exhibit long-term memory deficits. *Learn Mem* 14:564–572. [CrossRef Medline](#)
- Oliveira AM, Estévez MA, Hawk JD, Grimes S, Brindle PK, Abel T (2011) Subregion-specific p300 conditional knock-out mice exhibit long-term memory impairments. *Learn Mem* 18:161–169. [CrossRef Medline](#)
- Panteleeva I, Boutillier S, See V, Spiller DG, Rouaux C, Almouzni G, Bailly D, Maison C, Lai HC, Loeffler JP, Boutillier AL (2007) HP1alpha guides neuronal fate by timing E2F-targeted genes silencing during terminal differentiation. *The EMBO J* 26:3616–3628. [CrossRef Medline](#)
- Peixoto L, Abel T (2013) The role of histone acetylation in memory formation and cognitive impairments. *Neuropsychopharmacology* 38:62–76. [CrossRef Medline](#)
- Quinn CC, Gray GE, Hockfield S (1999) A family of proteins implicated in axon guidance and outgrowth. *J Neurobiol* 41:158–164. [CrossRef Medline](#)
- Ricobaraza A, Cuadrado-Tejedor M, Pérez-Mediavilla A, Frechilla D, Del Rio J, García-Osta A (2009) Phenylbutyrate ameliorates cognitive deficit and reduces tau pathology in an Alzheimer's disease mouse model. *Neuropsychopharmacology* 34:1721–1732. [CrossRef Medline](#)
- Ricobaraza A, Cuadrado-Tejedor M, García-Osta A (2011) Long-term phenylbutyrate administration prevents memory deficits in Tg2576 mice by decreasing Abeta. *Front Biosci (Elite Ed)* 3:1375–1384. [Medline](#)
- Ricobaraza A, Cuadrado-Tejedor M, Marco S, Pérez-Otaño I, García-Osta A (2012) Phenylbutyrate rescues dendritic spine loss associated with memory deficits in a mouse model of Alzheimer disease. *Hippocampus* 22:1040–1050. [CrossRef Medline](#)
- Sahay A, Wilson DA, Hen R (2011) Pattern separation: a common function for new neurons in hippocampus and olfactory bulb. *Neuron* 70:582–588. [CrossRef Medline](#)
- Schwab MH, Bartholomae A, Heimrich B, Feldmeyer D, Druffel-Augustin S, Goebbels S, Naya FJ, Zhao S, Frotscher M, Tsai MJ, Nave KA (2000) Neuronal basic helix-loop-helix proteins (NEX and BETA2/Neuro D) regulate terminal granule cell differentiation in the hippocampus. *J Neurosci* 20:3714–3724. [Medline](#)
- Sekeres MJ, Neve RL, Frankland PW, Josselyn SA (2010) Dorsal hippocampal CREB is both necessary and sufficient for spatial memory. *Learn Mem* 17:280–283. [CrossRef Medline](#)
- Selvi BR, Jagadeesan D, Suma BS, Nagashankar G, Arif M, Balasubramanyam K, Eswaramoorthy M, Kundu TK (2008) Intrinsically fluorescent carbon nanospheres as a nuclear targeting vector: delivery of membrane-impermeable molecule to modulate gene expression in vivo. *Nano Lett* 8:3182–3188. [CrossRef Medline](#)
- Selvi BR, Cassel JC, Kundu TK, Boutillier AL (2010) Tuning acetylation levels with HAT activators: therapeutic strategy in neurodegenerative diseases. *Biochim Biophys Acta* 1799:840–853. [CrossRef Medline](#)
- Selvi RB, Chatterjee S, Jagadeesan D, Chaturvedi P, Suma BS, Eswaramoorthy M, Kundu TK (2012) ATP driven clathrin dependent entry of carbon nanospheres prefer cells with glucose receptors. *J Nanobiotechnology* 10:35. [CrossRef Medline](#)
- Sun Y, Nadal-Vicens M, Misono S, Lin MZ, Zubiaga A, Hua X, Fan G, Greenberg ME (2001) Neurogenin promotes neurogenesis and inhibits glial differentiation by independent mechanisms. *Cell* 104:365–376. [CrossRef Medline](#)
- Tian F, Hu XZ, Wu X, Jiang H, Pan H, Marini AM, Lipsky RH (2009) Dynamic chromatin remodeling events in hippocampal neurons are associated with NMDA receptor-mediated activation of Bdnf gene promoter 1. *J Neurochem* 109:1375–1388. [CrossRef Medline](#)
- Trouche S, Bontempi B, Roulet P, Rampon C (2009) Recruitment of adult-generated neurons into functional hippocampal networks contributes to updating and strengthening of spatial memory. *Proc Natl Acad Sci U S A* 106:5919–5924. [CrossRef Medline](#)
- Valor LM, Pulopulos MM, Jimenez-Minchan M, Olivares R, Lutz B, Barco A (2011) Ablation of CBP in forebrain principal neurons causes modest memory and transcriptional defects and a dramatic reduction of histone acetylation but does not affect cell viability. *J Neurosci* 31:1652–1663. [CrossRef Medline](#)
- Valor LM, Viosca J, Lopez-Atalaya JP, Barco A (2013) Lysine acetyltransferases CBP and p300 as therapeutic targets in cognitive and neurodegenerative disorders. *Current pharmaceutical design*.
- Verret L, Trouche S, Zerwas M, Rampon C (2007) Hippocampal neurogenesis during normal and pathological aging. *Psychoneuroendocrinology* 32:S26–S30. [CrossRef Medline](#)
- Wang J, Chen J (2010) SIRT1 regulates autoacetylation and histone acetyltransferase activity of TIP60. *J Biol Chem* 285:11458–11464. [CrossRef Medline](#)
- Winocur G, Moscovitch M, Bontempi B (2010) Memory formation and long-term retention in humans and animals: convergence towards a transformation account of hippocampal-neocortical interactions. *Neuropsychologia* 48:2339–2356. [CrossRef Medline](#)
- Yang XJ (2004) Lysine acetylation and the bromodomain: a new partnership for signaling. *Bioessays* 26:1076–1087. [CrossRef Medline](#)
- Yang XJ, Seto E (2007) HATs and HDACs: from structure, function and regulation to novel strategies for therapy and prevention. *Oncogene* 26:5310–5318. [CrossRef Medline](#)
- Zajac MS, Pang TY, Wong N, Weinrich B, Leang LS, Craig JM, Saffery R, Hannan AJ (2010) Wheel running and environmental enrichment differentially modify exon-specific BDNF expression in the hippocampus of wild-type and premotor symptomatic male and female Huntington's disease mice. *Hippocampus* 20:621–636. [CrossRef Medline](#)

DISCUSSION

Cette publication montre que CSP-TTK21 est capable d'activer CBP et p300 *in vitro* (Figure 1) et d'induire l'acétylation des histones dans des cultures cellulaires (Figure 2). *In vivo* CSP-TTK21 augmente l'acétylation des histones dans différentes structures cérébrales (Figures 3 et 4). CSP-TTK21 entraîne une augmentation de l'expression des gènes impliqués dans la neurogenèse (*DCX*, *TUC4*, *NeuroD1* et *Bdnf*) et dans la mémoire (*Bdnf*, *c-Fos*, *Nr4a2*) (Figures 5, 6 et 8). Nous avons également mis en évidence un effet pro-mnésique de CSP-TTK21 chez des souris WT de 3 mois (Figures 7 et 64).



1. CSP-TTK21 ET LA MATURATION NEURONALE

La neurogenèse est un processus physiologique complexe dépendant de différents facteurs endogènes (transcription de gènes comme *DCX*, *NeuroD1*) et exogènes (libération de BDNF par les cellules avoisinantes, Covic et coll., 2010). L'une des étapes cruciales dans le processus de neurogenèse et de maturation d'un neurone nouvellement formé est son intégration au sein des réseaux neuronaux existants (Aimone et coll., 2010). Nous avons montré que l'injection de CSP-TTK21 exerce une activité anti-proliférative (diminution du nombre de neurones nouvellement formés) 36 heures après son injection, mais qu'il y a néanmoins autant de nouveaux neurones formés 10 jours après son injection. Ce résultat suggère que CSP-TTK21 exerce un effet bénéfique sur la survie des neurones nouvellement formés éventuellement lié à l'augmentation de la transcription du *Bdnf*. CSP-TTK21 permet d'augmenter considérablement la maturation des neurones nouvellement formés, mais déjà présents au moment de son administration, dans la zone sous granulaire du gyrus denté. Suite à son administration, nous avons montré que l'arborisation dendritique des neurones granulaires du gyrus denté (immunomarquage de la DCX) est plus complexe (Figures 5 et 6). Nous avons d'ailleurs observé une augmentation de la transcription de la *DCX*. Au niveau moléculaire, nous avons mis en évidence que l'injection de cet activateur induit une augmentation de la transcription de gènes impliqués dans la neurogenèse adulte, comme *NeuroD1* et *Bdnf*, augmentation consécutive à l'enrichissement de l'acétylation de l'histone H2B sur les promoteurs de ces gènes (Figure 6). Le BDNF est un facteur neurotrophique déterminant dans les processus de neurogenèse (Li et Keffer, 2009). Il est particulièrement impliqué dans le développement et la complexification de l'arborisation dendritique (Danzer et coll., 2002). Nous avons montré que l'administration de CSP-TTK21 permet d'augmenter l'expression du *Bdnf*, ce qui a pu favoriser la croissance dendritique des nouveaux neurones. Nous avons également observé une augmentation de l'expression de *Neuro D1*, qui est aussi impliqué dans les processus de développement de l'arborisation dendritique. Des souris présentant une délétion de *NeuroD* présentent des troubles de la maturation des neurones nouvellement formés (arborisation dendritique atrophiée, Schwab et coll., 2000). CSP-TTK21, en permettant d'augmenter l'acétylation des histones au niveau des promoteurs de gènes impliqués dans la NGS (*NeuroD1* et *Bdnf*) a donc permis d'améliorer la maturation des neurones nouvellement formés.

2. CSP-TTK21 ET LA MEMOIRE SPATIALE

L'implication de CBP dans les processus cognitifs a fait l'objet de nombreuses publications qui mettent notamment en évidence que la délétion de CBP entraîne non seulement une diminution dramatique de l'acétylation des histones H2B, H3 et H4 mais aussi des déficits en mémoire de reconnaissance à long terme (Chen et coll., 2010 ; Barrett et coll., 2011 ; Valor et coll., 2011). Nous avons testé l'impact de l'injection de CSP-TTK21 sur les performances de mémoire spatiale (Figure 7). Nous avons montré que cet activateur des HATs n'influence pas l'acquisition d'une mémoire spatiale ni le rappel d'une mémoire récente (évaluée à 2 jours après la fin de l'acquisition). Sekeres et collaborateurs (2010) ont montré que l'activation de CREB, une des cibles de CBP et p300, permet d'augmenter la force d'une trace en mémoire spatiale chez des animaux faiblement entraînés. Etant donné que les souris ont suivi un protocole d'apprentissage « léger » (3 jours d'acquisition), on aurait pu s'attendre à ce que les souris WT traitées avec CSP-TTK21 présentent de meilleures performances que les souris du groupe control. Il est possible que les performances des souris ne puissent tout simplement pas être meilleures dans ce test, et que l'on observe de ce fait un effet plafond. Par contre, l'administration de CSP-TTK21 a permis d'améliorer le rappel d'une mémoire ancienne (16 jours), à un délai où les souris non traitées ne sont plus capables de rappeler l'information. Cet effet pro-mnésique de CSP-TTK21 pourrait avoir (au moins) deux origines : 1) l'amélioration de la maturation des nouveaux neurones, 2) l'augmentation de l'acétylation des histones dans l'hippocampe et le cortex frontal, deux structures largement impliquées dans les processus de consolidation systémique.

1) Nous avons montré que CSP-TTK21 améliore la maturation des neurones, étape critique de la neurogenèse puisque seuls les neurones suffisamment matures s'intègrent fonctionnellement et favorisent le rappel d'une mémoire spatiale (Dupret et coll., 2007 ; Trouche et coll., 2009). En augmentant la maturation des nouveaux neurones grâce à l'injection de CSP-TTK21, nous avons potentiellement augmenté le nombre de nouveaux neurones intégrés et impliqués dans la consolidation de la trace mnésique, et de ce fait amélioré le rappel d'une mémoire spatiale ancienne.

2) Nous avons également constaté que CSP-TTK21 induit la transcription de gènes impliqués dans les processus de mémorisation et de plasticité synaptique (Figure 8). Il est

possible que nous ayons facilité les processus de consolidation systémique. En effet, nous avons montré que l'injection de CSP-TTK21 entraîne une augmentation de l'acétylation des histones dans différentes structures cérébrales mais majoritairement dans l'hippocampe et le cortex frontal (Figure 3). La consolidation d'une information nécessite la mise en place d'une plasticité synaptique mais également systémique, surtout dans le cadre du rappel d'une mémoire ancienne. Selon les théories de la consolidation systémique d'une trace mnésique, les régions corticales, et plus particulièrement le cortex frontal, sont impliqués dans le rappel d'une mémoire ancienne (e. g. Bontempi et coll., 1999 ; Maviel et coll., 2004 ; Frankland et Bontempi, 2005). Lesburguères et collaborateurs (2011) ont montré que les neurones corticaux sont « taggés », c'est-à-dire qu'intervient un processus de marquage des neurones corticaux impliqués dans l'encodage de la trace mnésique *via* une augmentation de l'acétylation des histones H3. Ce mécanisme est dépendant de l'hippocampe et intervient dans les jours suivants l'acquisition de la tâche. Si ce tagging cortical n'a pas lieu correctement, des déficits en mémoire à long terme sont observés. Nous pouvons faire l'hypothèse que l'augmentation de l'acétylation des histones dans le cortex frontal consécutive à l'administration de CSP-TTK21 ait pu faciliter ces processus de « tagging » favorisant la consolidation à long terme de la trace mnésique.

3. VERS UNE NOUVELLE CIBLE THERAPEUTIQUE DANS LES MALADIES DE LA MEMOIRE ?

Des dérégulations épigénétiques ont été mises en évidence dans des modèles transgéniques de la maladie d'Alzheimer (Fischer et coll., 2007 ; Ricobaraza et coll., 2009, 2011, 2012, Rev. Fischer, 2014a) et chez des patients atteints de la MA (Liu et coll., 2012 ; Gräff et coll., 2012), altérations qui pourraient être à l'origine des troubles mnésiques observés chez ces patients (Xu et coll., 2011).

En utilisant les souris transgéniques CK-p25 (surexpression de la cdk5 qui entraîne le développement de plaques séniles), Gräff et collaborateurs (2012) ont montré que HDAC2 est surexprimée dans la région CA1 de l'hippocampe et dans le cortex frontal de ces souris. HDAC2 était particulièrement concentrée sur les promoteurs de gènes impliqués dans les processus de mémoire (*Bdnf-eIV*, *Zif268*, *Homer1*) et de plasticité synaptique (*GluR1*, *GluR2*, *NR2A* et *NR2B*). L'analyse post-mortem de cerveaux de patients atteints de la MA a mis en évidence que la surexpression d'HDAC2, accompagnée de son accumulation, été retrouvée dans les neurones pyramidaux de la région CA1 (hippocampe) (Gräff et coll., 2012). Par

ailleurs, l'administration d'inhibiteurs des HDACs permet de rétablir les performances mnésiques dans des modèles murins de la MA *via* un mécanisme dépendant de l'acétylation des histones. L'administration de PheBu permet de rétablir le niveau d'acétylation des histones et d'améliorer les performances de mémoire spatiale tout en influençant le développement des DNFs chez les souris Tg2576 de 16 mois (Ricobaraza et coll., 2009, 2011 et 2012). Ainsi, en augmentant l'acétylation des histones, l'administration d'iHDACs permet de restaurer les performances mnésiques et de rétablir le niveau d'acétylation des histones dans des modèles murins de la MA. Mais les HDACs ne sont pas les seules enzymes incriminées dans la MA. Liu et collaborateurs ont mis en évidence qu'une protéine capable d'inhiber CBP et p300, la EID1 (*EP300 interacting inhibitor of differentiation*), s'accumule dans le cerveau de patients atteints de la MA. La surexpression de cette protéine dans un modèle de souris transgéniques entraîne des troubles en mémoire spatiale et une augmentation des dépôts neurofibrillaires comme ceux observés chez les patients Alzheimer. Pour conclure, ces différents résultats suggèrent que la MA puisse être associée à des altérations des modifications épigénétiques telles qu'une augmentation de l'activité des HDACs et/ou une diminution de l'activité des HATs. CSP-TT21 pourrait permettre de rétablir le niveau d'acétylation des histones par l'activation de CBP/p300 et ainsi favoriser la transcription de gènes impliqués dans la mémoire. Cette molécule représenterait ainsi un nouvel espoir thérapeutique dans la MA.

PERSPECTIVES

Selon les théories de la consolidation systémique d'une trace mnésique, le cortex frontal est impliqué dans le rappel d'une mémoire ancienne. Nous avons montré que CSP-TTK21 est capable d'augmenter le niveau d'acétylation des histones dans l'hippocampe mais également dans le cortex frontal. Il serait intéressant de procéder à une administration plus localisée de cette molécule. Ainsi, en utilisant une approche de chirurgie stéréotaxique, il serait possible d'implanter des guides canules visant spécifiquement ces deux structures, et ainsi instiller CSP-TTK21 soit dans l'hippocampe soit dans le cortex frontal au moment de l'acquisition. Cette expérience nous permettrait d'observer si l'effet pro-mnésique de CSP-TT21 est lié à l'augmentation de l'acétylation des histones dans l'hippocampe ou dans le

cortex frontal. Cette étude n'a pas été réalisée car elle nécessite des mises au point importantes, notamment en termes de dose à instiller et de solubilité de la molécule (dans l'état actuel des choses, la molécule boucherait les canules d'instillation, cf. discussion générale, 2. Limites des molécules utilisées). Il serait également intéressant d'observer l'effet de l'injection de CSP-TTK21 lors du rappel d'une mémoire spatiale à un délai plus long, 30 jours par exemple. Lorsque nous avons réalisé une expérience dans ce sens (données non publiées), nous avons fait l'erreur de procéder à une période d'acquisition trop longue, ne permettant pas la mise en place d'un apprentissage « léger » (5 jours). Nous avons réalisé un test de rétention à 30 jours et constaté que l'ensemble des souris passent significativement plus de temps dans le quadrant cible que le hasard, indépendamment du traitement (CSP : $t(9)=4,06$, $p<0,01$; CSP-TTK21 : $t(9)=3,23$, $p<0,01$; CSP vs. CSP-TTK21 $F(1,18)=0,003$, *ns*). Il faudrait réaliser une expérience similaire en réduisant la durée de l'acquisition à 3 ou 4 jours. La consolidation systémique étant un processus progressif et long à se mettre en place, cette expérience permettrait d'observer les conséquences de l'injection de CSP-TTK21 sur la réorganisation structurelle. L'observation de l'expression de gènes précoces comme *c-Fos* (après le test de rétention) apporterait également des informations supplémentaires sur l'implication de l'hippocampe et du cortex frontal (ou d'autres structures). Enfin, nous aimerions mesurer l'impact de l'administration de CSP-TTK21 sur les processus fonctionnels associés à la mémoire tels que la potentialisation à long terme ou la formation d'épines dendritiques dans les neurones de l'hippocampe.

PUBLICATION 2

**EFFECT OF AN ACUTE OR CHRONIC TREATMENT WITH AN HDAC
INHIBITOR (4-PHENYLBUTYRATE) ON SPATIAL MEMORY PERFORMANCES
AND PATHOLOGICAL MARKERS IN A MOUSE MODEL OF TAUOPATHY**

Cassel R, Cosquer B, Strittmatter C, Blum D, Buée L, Cassel JC, Boutillier AL.

En préparation pour Neurobiology of Aging

CONTEXTE SCIENTIFIQUE ET OBJECTIFS

La maladie d'Alzheimer est la démence la plus répandue chez les personnes âgées et représente un problème de santé publique majeure au vu du vieillissement général de la population (Cummings and Cole, 2002). Les traitements actuellement disponibles, qu'ils soient symptomatiques ou neuroprotecteurs, n'ont qu'un effet modéré. L'un des trois marqueurs neuropathologiques de la MA est l'apparition et la propagation de dégénérescences neurofibrillaires (DNFs) au sein du parenchyme cérébral. Les DNFs sont des agrégats intraneuronaux formés de la protéine TAU hyperphosphorylée (Brion et coll., 1985). Il a été démontré que le développement des DNFs est corrélé aux troubles cognitifs observés dans la MA (Braak et coll., 2006).

La mémorisation d'un événement est un processus cognitif complexe qui dépend de la transcription de gènes (Peixoto et Abel, 2013 ; Gräff et Tsai, 2013). Cette transcription de gènes est régulée par divers facteurs, dont les modifications épigénétiques, qui peuvent avoir lieu sur l'ADN (méthylation) ou sur les protéines histones (méthylation, acétylation, phosphorylation). L'acétylation de certains résidus sur les protéines histones, comme H2BK5/K12/K15/K20, H3K9/K14, H4K12, est impliquée dans les processus de mémorisation (Levenson and Sweatt, 2005 ; Stefanko et coll., 2009) et notamment en mémoire spatiale (Bousiges et coll., 2010, 2013). Lorsque ces acétylations font défaut, des troubles mnésiques sont observés (Levenson and Sweatt, 2005 ; Stefanko et coll., 2009). De plus en plus de données tendent à prouver qu'une altération des modifications épigénétiques contribuerait au développement des maladies neurodégénératives (Xu et coll., 2011) et notamment de la MA (Francis et coll., 2009 ; Kilgore et coll., 2010 ; Gräff et coll., 2012 ; Fischer, 2014a) et pourrait être à l'origine des troubles mnésiques observés chez les patients souffrant de la MA.

Les objectifs de cette étude sont d'évaluer l'impact d'un traitement aigu ou chronique avec le phénylbutyrate (PheBu), sur la phosphorylation de la protéine TAU, sur le développement des DNFs ainsi que sur les capacités de mémoire spatiale dans un modèle murin de tauopathie, les souris THY-Tau22. Ces souris expriment la protéine TAU murine mais également la protéine TAU humaine mutée sur deux résidus : G272V et P301S. Ces deux mutations sont décrites comme augmentant les propriétés agrégatives de la protéine

TAU (Goedert et Jakes, 2004 ; Brandt et coll., 2005) et donc le développement des DNFs. Les souris THY-Tau22 présentent un développement progressif des DNFs dans l'hippocampe et dans le cortex frontal, accompagné d'une augmentation de l'inflammation avec l'âge qui débute vers 7 mois (Schindowski et coll., 2006).

Effect of an acute or chronic treatment with an HDAC inhibitor (4-Phenylbutyrate) on spatial memory performances and pathological markers in a mouse model of tauopathy

Abstract

Alzheimer's disease (AD) is the most common neurodegenerative disorder and the first cause of dementia in the elderly. AD is defined by progressive memory loss and cognitive impairment. Tau pathology found in AD is crucial in cognitive decline; it is early observed in entorhinal cortex and brain stem of AD patients and its progression corresponds to the gradual disorders observed in AD. Accumulating evidence suggest that the dysregulation of epigenetic gene expression may play a key role in the pathogenesis of neurodegeneration. Using a transgenic mice model of tauopathy, THY-Tau22 mice strain, we assessed the effect of an acute and chronic treatment with phenylbutyrate, an HDAC inhibitor, on spatial memory performances, on inflammation and on abnormal Tau phosphorylation. We show that PheBu acute or chronic administration allows the rescue of spatial memory performances in Tg mouse model of tauopathy and this HDAC inhibitor allows rescuing abnormal Tau phosphorylation when chronically injected.

Keywords: Tauopathy, THY-Tau22, epigenetic alteration, 4-Phenylbutyrate, spatial memory recovery, abnormal Tau phosphorylation

Introduction

Alzheimer's disease (AD) is the most common neurodegenerative disorder and the first cause of dementia in the elderly (Cummings and Cole, 2002). AD is defined by progressive memory loss and cognitive impairment. AD has been previously associated with central nervous system neuroinflammation, microglial activation, astrogliosis and release of numerous inflammatory mediators (Casamenti et al., 1999; Millington et al., 2014). Neuroinflammation in particular may contribute to neural dysfunction and cell death (Meraz-Rios et al., 2014). At the molecular level, AD is characterized by two mains markers, extracellular deposits of aggregated β -amyloid (A β) peptide (senile/amyloid plaques) and

intracellular deposits of hyperphosphorylated Tau protein called neurofibrillary tangles (Brion et al., 1985; Brion, 2006; Hardy, 2006). Tau pathology found in AD is crucial in cognitive decline; it is early observed in entorhinal cortex and brain stem of AD patients (Braak and Braak, 1991; Braak et al., 2006) and its progression (from the entorhinal cortex to the hippocampus and lastly the neocortex) corresponds to the gradual disorders observed in AD (Duyckaerts et al., 1997 and Grober et al., 1999). In this disease, Tau protein aggregates over time, leading to neurodegeneration and cognitive dysfunctions. Why and how this accumulation of Tau protein appears is still not fully understood. Decreasing Tau phosphorylation is a major therapeutic option to rescue or delay cognitive impairments observed in AD patients as showed by beneficial effect of immunotherapy in tauopathy animal model (Chai et al., 2011; Ando et al., 2014; Castillo-Carranza et al., 2014).

Accumulating evidence obtained in animal model suggests that dysregulation of epigenetic gene expression by histone acetylation may play a key role in the pathogenesis of AD (Francis et al., 2009; Kilgore et al., 2010; Xu et al., 2011; Fischer, 2014). Therefore, epigenetic regulation may offer a new approach to understand and treat AD. Histones modification is a fundamental mechanism involved in epigenetic regulation of gene expression, now recognized to contribute to the consolidation of long-term memory (Stefanko et al., 2009 ; Levenson and Sweatt, 2005; Bousiges et al., 2010 ; Chatterjee et coll., 2013; Peixoto and Abel, 2012 ; Gräff and Tsai, 2013). As cognitive processes require gene expression modulation (Abel and Kandel, 1998), a dysregulation of transcriptional processes might lead to neuronal death and cognitive impairments. Acetylated histones form a dynamic complex with DNA that facilitates DNA accessibility and recruitment of transcription factors and basal transcriptional machinery, thereby regulating gene transcription. Therefore, it is hypothesized that, by modulating the net acetylation level of histones, one could restore proper genetic regulations. Histone deacetylases (HDACs), a group of enzymes capable of removing the acetylation marks on lysine amino acids of histones, may be valuable therapeutic targets for the treatment of AD. Growing evidence highlights that HDACs inhibitors regulate long-term memory consolidation and boost memory formation (Alarcón et al., 2004; Levenson et al., 2004; Levenson and Sweatt, 2005; Gräff and Mansuy, 2008; Zovkic et al., 2013). Recently, several papers have shown that increased histones acetylation induced by the administration of HDACs inhibitors is capable of enhancing memory

performances in young mice (Bredy et al., 2007; Stefanko et al., 2009), and to reverse learning and memory deficits observed in different mouse models of Alzheimer's diseases (Fischer et al., 2007; Kilgore et al., 2010; Ricobaraza et al., 2009, 2011, 2012; Wiley et al. 2011, reviewed in Fischer 2014).

Sodium 4-phenylbutyrate (PheBu) is a bioavailable short-chain fatty acid, able to cross the blood-brain barrier, originally approved for the treatment of urea cycle disorders (Brusilow and Maestri, 1996). The PheBu is a HDACs inhibitor known to activate the transcription of a variety of cell development- and proliferation-related genes (Wright et al., 2004). PheBu has originally been shown to improve the neurodegenerative phenotype in Huntington's disease mice (Ferrante et al., 2003) and against MPTP neurotoxicity (Gardian et al., 2004). It has more recently been tested in a mouse model of AD, the Tg 2576 mice, which present amyloid plaques (Ricobaraza et al., 2009, 2011, 2012). After the chronic treatment, Tg 2576 mice showed a recovery of spatial memory and dendritic spine formation.

In this study, we assessed the ability of PheBu to improve Tau pathology in the THY-Tau22 mouse model that develops abnormal tau phosphorylation and aggregates (Schindowski et al., 2006; Belarbi et al., 2009), presents a progressive age-related cognitive decline including hippocampus-dependent learning and memory (Van der Jeugd et al., 2013) and attenuated late-phase long-term depression of synaptic transmission (Van der Jeugd et al., 2011). The effects of this molecule were tested upon acute and chronic injections on memory performances. We further tested whether PheBu was able to reduce pathological markers (phosphorylation of Tau and inflammation markers) upon chronic treatment when administered either early or late during the course of the disease. We provide evidence that PheBu treatment allows the rescue of spatial memory performances in the THY-Tau22 mouse model of tauopathy. In addition, PheBu chronic treatment was able to reduce abnormal Tau phosphorylation.

Materials and methods

Animals

We used heterozygous THY-Tau22 transgenic male mice (C57Bl6/J background). THY-Tau22 mice overexpressed mutated human Tau protein under the control of a Thy1.2 promoter

allowing a specific neuron expression that starts at postnatal day 6. The Tau mutations G272V and P301S were generated by site-directed mutagenesis PCR into the human 4-repeat Tau cDNA, as previously described (Schindowski et al., 2006). The vector was injected into a C57BL6/CBA background and backcrossed to C57BL6/J for more than ten generations. The progeny was genotyped using PCR on DNA isolated from ear tip. THY-Tau22 model is characterized by a major Tau expression in the hippocampal formation and the cortex, but little or not in the spinal cord. All animals were kept in standard animal cage under conventional laboratory conditions (12h/12h light-dark cycle, temperature: $22\pm 2^{\circ}\text{C}$, humidity: $55\pm 5\%$) with *ad libitum* access to food and water. All behavior experiments were conducted during the light phase. Experimental protocols and animal care were in compliance with the institutional guidelines (council directive 87/848, October 19, 1987, Ministère de l'agriculture et de la Forêt, Service Vétérinaire de la Santé et de la Protection Animale) and international laws (directive 2010/63/UE609, 13 February 2013, European Community) and policies (personal authorizations #67-117 for A.-L.B., and #I-67UnivLouisPasteur-F1-04 for R.C.). Our project has been reviewed and approved by the ethics committee of Strasbourg, France (#AL/87/94/02/13).

Treatment

Molecule preparation

We treated the mice with 4- Phenulbutyric acid (P21005, Sigma) at the dose of 200 mg/kg. Administration of PheBu at 200mg/kg through i.p. injection was chosen according to previous work reporting significant benefit in transgenic mice model of amyloidogenesis (Ricobaraza et al., 2009; 2011; 2012). This dose was chosen based on a dose-response experiment performed using increasing doses of PheBu from 100 to 800 mg/kg in order to determine the most efficacious dose (Ryu et al., 2005). 4-Phenulbutyric acid (PheBu) solution was prepared by titrating equimolecular amounts of PheBu and sodium hydroxide to pH 7.4 and filter sterilized (0.22-micron filter). The control mice received the same volume of vehicle solution (NaCl 0.9%).

Acute treatment

After 5 days of handling (1-2 min per day), the i.p. injection was done each day of acquisition (n=8-9/group), directly at the end of the fourth trial in Morris Water maze during the 4 acquisition days.

For the dose-response experiment, old THY-Tau22 transgenic mice received a single i.p. injection of PheBu (200 mg/kg or 400 mg/kg) or vehicle solution (NaCl, 0.9%). Mice were killed 2 hours after the injection (n=7/group).

Chronic treatment

Three groups have been used to test different protocols of injection. For the first one, injections began when males THY-Tau22 mice were 12 months of age, and were repeated 6 days a week during 4 weeks (24 injections). Memory assessment started 3 days after the last injection (n=8 mice for each treatment). The second group was designed to analyze Tau phosphorylation and inflammatory markers, included females injected 4 times per week, during 6 weeks (24 injections, n=5 mice). We started the injections when the mice were 12 months. The last group, aimed at testing the effect of the chronic treatment before the onset of the neuroinflammation, included THY-Tau22 mice treated twice a week from 4 months of age to 8 months of age (32 injections, n=8/7 mice).

Spatial learning and memory testing in the Morris water maze

Spatial memory was evaluated using the Morris Water Maze task (MWM). The circular pool (150-cm diameter) is located in a room with several extra-maze cues. The maze is half-filled with opaque water at 22°C. To escape this aversive situation, the mice need to learn the position of an escape platform (11cm diameter) hidden under the water surface and located at a fixed position. The test starts with 2 days of habituation (one trial per day, consisting of a 1-min trial with a visible platform and 5 cm of water, and a 2-min free-swim trial without platform, respectively). The mice were then given 4 acquisition trials per day (maximum duration 60 s, 4–5 min intertrial interval), starting randomly from each of the four cardinal points from the edge of the pool (pseudo-randomly alterned each day). Training extends over 4 or 5 consecutive days depending on the experiment. The distance traveled, the latency before reaching the platform, the swim speed, and the thigmotaxic behavior are

recorded and subsequently computed by a video-tracking system (*Any maze software*). Each trial terminates when the mice reach the platform or after 60 s. Mice failing to reach the platform were gently guided onto it. After each trial, mice remain on the platform for 10s. The retention of memory, done 3 days after the last day of acquisition, is tested in a probe trial, during which the platform is removed and the animal is introduced in the center of the device and left for 60 s. The time spent in each quadrant is recorded. The swim speed and thigmotaxis are also recorded during the probe trial. If the mice remember the platform location, they display a swimming pattern focused on the quadrant in which the platform was located during the acquisition. The results are represented as the time spent in the target quadrant and the mean time spent in the three others.

Biochemistry

Protein preparation and Western blot analyses

Animals were killed by cervical elongation and brain rapidly removed from the skull. After staying 2 minutes in PBS at 4°C, tissues were dissected and immediately frozen at -80°C.

For histone acetylation analyses, tissues were lysed and homogenized in Laemmli buffer, samples were sonicated for 10 s (ultrasonic processor, power 60%), heated 10 min at 70°C then boiled 5 min, centrifuged (20,000g for 5 min) and supernatant was frozen at -20°C. Protein concentration was measured using the RC-DC Protein Assay (Bio-Rad). Western blots were performed as described previously (Bousiges et al., 2010) with antibodies against acetyl-histone H2B (#07-373; Millipore), acetylated-histone H2BK5 (#07-382; Millipore), H3 histone (#ab1791; Abcam), acetyl Histone H3 (#06-599; Millipore), and H2B histone (#H2-28; Euromedex); acetyl H3K27 (#07-360; Millipore); BDNF and pro-BDNF (#AB9612; Millipore), and actin (#ab16039; Abcam). Secondary HRP-conjugated antibodies were from Jackson ImmunoResearch. Protein Blots were revealed with ECL and exposed with Hyperfilm ECL (GE Healthcare). Results were quantified Image Lab, Biorad software.

For Tau protein analyses, samples were homogenized in 200 µl of a TRIS buffer (pH7.4) containing 10% sucrose, sonicated and let under agitation for 1h at 4°C. Protein amounts were quantified using the BCA assay (Pierce). Samples were then diluted in 2x reducing LDS Sample Buffer (Life Technologies, Saint-Aubin, France) and denaturated at 100°C for 5 min.

Then, 10 µg of proteins were loaded on 4–12% MOPS NuPAGE gels (Invitrogen), and transferred to nitrocellulose membranes. The nitrocellulose membranes were saturated (5% non-fat dry milk or 5% BSA) in TNT (Tris 15mM pH8, NaCl 140mM, 0.05% tween) and incubated with appropriate antibodies. Antibodies used for western blot were AT100, AT270 (developed by Innogenetics), TaupSer396, TaupSer404 (Invitrogen), Tau-5 (Biosource) and actin (#ab16039; Abcam). Levels were visualized by chemiluminescence (ECL™, Amersham Biosciences) and quantified using an imaging system (LAS-3000 2.0; Fuji Photo Film Co. Ltd.).

RNA preparation and RTqPCR analyzes

Total RNA were extracted from the hippocampus using the same protocol than in our previous paper (Chatterjee et al., 2013). The reverse transcription has been done on one microgram of total RNA using the Bio-Rad reverse transcription kit. All RT-qPCR were performed on CFX96 Touch Real Time PCR Detection System. Forty cycles of a two-step PCR consisting of a 95°C step for 15 s followed by a 63°C step for 25. Amplifications were carried out in duplicates and relative expression of target genes was determined by the $\Delta\Delta CT$ method.

Statistics

Statistical analyses of biochemical studies

Statistical analyses were performed using a one-way ANOVA followed by Newman–Keuls multiple-comparison test when appropriate. Data are expressed as the means + SEM. The significant level is set at $p < 0.05$.

Statistical analyses for behavioral studies

We used a one- or two-way ANOVA for analyzing the MWM data, with repeated measures when appropriate. Performances recorded during acquisition (escape latencies, speed and distance to reach the platform) were analyzed using a two-way ANOVA considering the factors “day” (1–4 or 1–5), and “treatment” (Vehicle vs. PheBu). The ANOVA analyses have been followed by Newman–Keuls multiple-comparisons test when appropriate. For the probe trial, the time spent in the target quadrant was compared with chance level using a one-sample *t*-test (Student’s *t* test). Chance level in one quadrant is fixed at 15 s (test duration of 60 s in 4 quadrants). A one-way ANOVA have been used to analyze the

“treatment” effect (Vehicle vs. PheBu) for the time spent in the target quadrant. Results are expressed as the means + SEM. Values of $p < 0.05$ were considered significant.

Symbols: £, $p < 0.05$; ££, $p < 0.01$; £££, $p < 0.001$ t-test comparison to chance level; *, $p < 0.05$;

** , $p < 0.01$; ***, $p < 0.001$ ANOVA one-way to assess treatment effect.

Results

Because it is the first time that the effect of an HDAC inhibitor is studied in THY-Tau22 mice model, we first analyzed the effect of PheBu injection on acetylation levels 2 hours after a single injection of 200 or 400 mg/kg PheBu (Suppl. Fig. 1). PheBu injection was able to significantly increase histones acetylation levels in THY-Tau22 transgenic mice at the dose of 400mg/kg. However, even if PheBu at the dose 200mg/kg did not significantly increased acetylation level at this global level when compared to the saline group, we treated mice at this dose in order to prevent a potential overload with hyperacetylation which could be toxic for the mice, especially for chronic injections. In addition, such dose has been previously tested in an amyloid mouse model (Ricobaraza et al., 2009; 2011; 2012).

Effect of acute PheBu treatment on spatial memory performances in 12 month-old THY-Tau22 mice

We assessed the effect of an acute treatment of the HDACs inhibitor PheBu when given during acquisition (one injection at the end of each day) and evaluated its effect on spatial memory in THY-Tau22 mice ($n=8-9$ /group) (Fig. 1A). Saline solution was used as control (Vehicle).

During the acquisition, we assessed the latency to reach the platform depending on the day (1-4). All the mice, independently from the “treatment” ($F(1,15)=0.49$, *ns*) showed a significant decrease of latency to reach the platform depending on the days (“day”: $F(3,45)=19.67$, $p=0.000000$). The PheBu did not influence acquisition performances (Fig.1B, left panel).

Three days after the end of acquisition, mice were reintroduced in the device in the absence of the platform. We assessed the time spent in the target quadrant (the one which contained the platform during the acquisition) as an indicator of memory (Fig.1B, right panel). Concerning the probe trial, there is a “treatment” effect ($F(1,15)p=0.01$) indicating

that PheBu treated mice show higher preference for the target quadrant than Vehicle treated mice. Analyses of the time spent in the target quadrant compared to chance level also showed the beneficial effect of PheBu (Vehicle-treated mice: $t(7)=2.35$, $p=0.051$, PheBu-treated mice: $t(8)=5.76$, $p<0.001$). These results are not due to a potential effect of PheBu treatment on swim speed ("treatment" ($F(1, 15)=2.37$, *ns*) (Suppl. Fig.2A). The acute PheBu treatment did not affect the body weight of the mice ("treatment": $F(1,15)=0.012$, *ns*) (Suppl. Fig.2B).

Altogether, these results highlight that acute PheBu treatment during acquisition rescued spatial memory retention performances in THY-Tau22.

Effect of a chronic treatment with PheBu on spatial memory performances in 12 month-old THY-Tau22 mice

Because AD has a progressive and long-lasting development, we decided to assess the effect of a chronic PheBu treatment. AD is generally diagnosed in advanced stages of development, when neuroinflammation is already established. Treatment was started when the THY-Tau22 mice were 12 months of age, an age at which when the inflammation is already started (Schindowski et al., 2006). We injected the mice 6 times a week (200mg/kg) during 4 weeks. MWM experiment was started three days after the last injection. The time course is shown in Fig.2A.

All mice showed a significant decrease of latency to reach the platform depending on the days ("day": $F(4,56)=9.10$, $p=0.00001$) and the chronic treatment with PheBu did not influence the learning capacity ("treatment": $F(1,14)=0.23$, *ns*). The probe test was performed 3 days after the last day of acquisition. Interestingly, PheBu-treated transgenic mice spent significantly more time to search the platform location in the right quadrant compared to the control mice ("treatment": $F(1,14)=8.13$, $p<0.01$). The time spent in the target quadrant is nevertheless different from random for both groups (Vehicle-treated THY-Tau22: $t(7)=2.65$, $p<0.05$; PheBu-treated mice: $t(7)=5.07$, $p<0.001$).

Because PheBu is known to induce side effects (Jeong et al., 2003; Biswas et al., 2005) we followed the animals' weight as an indicator of general health state (Suppl. Fig.3A). The chronic PheBu administration did not affect the body weight of the mice whatever

treatment (“treatment”: $F(1,41)=0.58$, *ns*). There was no significant effect of treatment ($F(1, 14)=0.199$, *ns*) on the average speed to reach the platform during the acquisition step (Suppl. Fig.3B).

D. RNA expression level of inflammatory markers in the dorsal hippocampus of Tg mice. (Currently under analysis in Strasbourg).

These results showed that a chronic PheBu treatment allowed an improvement of spatial memory retrieval in the THY-Tau22 mice.

Effect of a chronic treatment with PheBu on the pathological status of 12 month-old THY-Tau22 mice

We have shown that PheBu chronic treatment exerted a beneficial effect at the symptomatic level, as it improved spatial memory performances. We next wanted to assess whether such chronic treatment could impact on pathological hallmarks of the disease such as the phosphorylation status of the Tau protein (Duyckaerts et al., 1997; Sergeant et al., 2008) or inflammation. THY-Tau22 mice model develops a hyper- and abnormal phosphorylation of Tau with time (Schindowski et al., 2006). To avoid a high stimulation due to multiple injections, we injected four times a week during 6 weeks to get the same number of injections than previously (total of 24 injections). We started injection at 12 months of age (Fig.3A).

We evaluated the influence of PheBu treatment on Tau protein phosphorylation level in the frontal cortex of the transgenic mice ($n=5$ /group). PheBu treatment induced a downward tendency of Tau dephosphorylation on Taup404 ($F(1,8)=4.64$, $p=0.06$) known to be hyperphosphorylated in AD’s brains and a significant decrease of phosphorylation on several residues associated with Neurofibrillary tangles (NFTs) formation (AT100: $F(1,8)=11.15$, $p<0.01$; AT270: $F(1,8)=6.90$ $p<0.05$). There is no effect of treatment on Taup396 ($F(1,8)=0.09$, *ns*), Tau1 ($F(1,8)=1.87$, *ns*) and on Tau5 ($F(1,8)=1.46$, *ns*) allowing the assessment of Tau total (Fig. 3B).

We verified the level of histone acetylation in the hippocampus of the chronically-treated THY-Tau22 mice (Fig. 3C) and observed no significant effect of treatment on histone

acetylation (H2B 4ac: $F(1,8)=0.01$, *ns*; H3K9K14ac: $F(1,8)=0.14$, *ns*; H3K27ac : $F(1,8)=0.54$, *ns*; H4K12ac: $F(1,8)=0.34$, *ns*).

Finally, because iHDACs could impact inflammatory process (Zhang and Schluessener, 2013), we assessed the RNA expression level of inflammatory markers depending on the treatment (ongoing analyses Fig. 3D).

As observed previously, there is no effect of PheBu treatment on body weight ("treatment": $F(1,8)=2.91$, *ns*, Suppl. Fig.4).

Taken together, these data show that chronic PheBu treatment causes a significant reduction of pathological phosphorylation of the Tau protein in the frontal cortex and did not influence acetylation state in dorsal hippocampus of THY-Tau22 mice.

Effect of chronic treatment with PheBu on the pathological progression of THY-Tau22 mice

Because chronic treatment did rescue spatial memory performances and decrease abnormal Tau phosphorylation in THY-Tau22 mice even when inflammation was already started, we decided to study the effect of chronic treatment when administrated before the onset of inflammation. The hypothesis is that chronic PheBu would delay inflammation processes and chemokine production thereby delaying/preventing the tauopathy progression. We evaluated the impact of PheBu treatment on Tau phosphorylation and on inflammatory markers (Fig. 4A). Because of the treatment duration, we decided to perform 2 injections each week (every Tuesday and Friday at 5 pm), during 4 months. The treatment started at 4 months of age and was stopped at 8 months of age (last injection 3 days before euthanasia). Because of the treatment duration, animal's weight was regularly followed as an indicator of general health state (Fig. 4B). The mean weight of mice in response to the number of injections was not impacted by the treatment ("treatment": $F(1,21)=1.32$, *ns*).

C. Tau phosphorylation level in frontal cortex as for middle aged mice (females Tg 12 months of age). (Will be made in Lille, starting August 2014).

D. Immunostaining of pathological Tau phosphorylation with AT100 in dorsal hippocampus (experiment will be done in August in Strasbourg).

E. RNA expression level of inflammatory markers in the dorsal hippocampus of Tg mice. (Currently under analysis in Strasbourg).

Discussion

The beneficial effect of iHDACs on neuropathogenesis of AD has been already shown in several amyloid mice models (Fischer et al., 2007; Kilgore et al., 2010; Ricobaraza et al., 2009, 2011, 2012; Wiley et al., 2011). Yet, our study is the first one to investigate the effect of an HDAC inhibitor (PheBu) in a mouse model of tauopathy. The present data show that PheBu is able to decrease Tau phosphorylation and to improve spatial memory performances in THY-Tau22 strain. Tau hyperphosphorylation has been consistently associated with cognitive alterations in several dementing disorders (Sergeant et al., 2008) and Tau transgenic models (Burnouf et al., 2013). Moreover, increased Tau phosphorylation has been associated with impaired spatial memory in wild-type mice (Leboucher et al., 2013) or Tau transgenic animals (Le Freche et al., 2012). Reduced Tau hyperphosphorylation, especially when occurring at known pathological epitopes (AT100, AT270), may likely explain improved memory performances observed in THY-Tau22 mice at 12 months of age.

Concerning the rescue of spatial memory performances after an acute administration of PheBu, this effect may be explained by the re-establishment of histones acetylation level in THY-Tau22 mice and subsequent dependent processes. However, we did not observe a global increase of histone acetylation in the dorsal hippocampus upon the chronic treatment, which may be due to compensatory mechanisms. Yet, PheBu was able to improve spatial memory performances in the THY-Tau22 strain. It is likely that chronic PheBu may have enhanced acetylation on discrete chromatin loci that are not detected by an overall detection using western blot. In addition, the half-life of PheBu is short, and the chronic treatment may have induced a rapid peak of acetylation after injection, that is no longer detectable at later time-points. Lastly, it is also possible that HDAC inhibitors were able to increase the CBP/p300 stability by inducing their auto-acetylation (Thompson et al., 2004; Kim et al., 2010; Dancy et al., 2012). We may have increased the stability of CBP and/or p300, making these enzymes able to boost learning processes.

The acute PheBu treatment effect in Tg mice might be linked to increased histones acetylation level. Gene transcription required for memory formation is dependent of the activation of transcription factors but also the induction of dynamic changes into the organization of chromatin. Histone acetylation is linked to the activation of several genes transcription, some of them being known as related to memory processes (Bailey et al., 2004; Fischer et al., 2007; Chatterjee et al., 2013).

In conclusion, this work demonstrates that acute inhibition of HDAC with PheBu is able to rescue spatial memory performances probably through the re-establishment of histone acetylation levels. Treatment with HDACs inhibitors may also have impacted tau pathology through the acetylation of non-histone proteins involved in memory and plasticity (Lopez-Atalaya et al., 2013). Some studies suggest the use of HDAC inhibitors as therapeutic target to restore histone acetylation level in several neurodegenerative models (e. g. Hahnen et al., 2008; rev. Abel and Zukin, 2008). Therefore, the findings in this study and others (Fischer et al., 2007; Kilgore et al., 2010; Ricobaraza et al., 2009, 2011, 2012; Wiley et al., 2011) suggest a great potential for PheBu as a therapeutic agent to restore memory function in AD patients.

Acknowledgments This work was supported by CNRS (UMR7364), Université de Strasbourg, ANR (12-MALZ-0002-01 to ALB) and Alsace Alzheimer 67 (to F. Blanc and ALB). RC is a recipient of a fellowship from the French « Ministère de la Recherche et de l'Enseignement Supérieur ». We are grateful to O. Bildstein, D. Egesi, G. Edomwonyi and C. Strittmatter for their assistance in transgenic mouse production and animal care.

Disclosure statement. We report no actual or potential conflict of interest

References

- Abel, T., Kandel, E., 1998. Positive and negative regulatory mechanisms that mediate long-term memory storage. *Brain Res. Brain Res. Rev.* 26, 360–378.
- Abel, T., Zukin, R., 2008. Epigenetic targets of HDAC inhibition in neurodegenerative and psychiatric disorders. *Current Opinion in Pharmacology* 8, 57–64.
- Ando, K., Kabova, A., Stygelbout, V., Leroy, K., Heraud, C., Frédérick, C., Suain, V., Yilmaz, Z., Authelet, M., Dedecker, R., Potier, M.-C., Duyckaerts, C., Brion, J.-P., 2014. Vaccination with Sarkosyl insoluble PHF-tau decrease neurofibrillary tangles formation in aged tau transgenic mouse model: a pilot study. *J. Alzheimers Dis.* 40 Suppl 1, S135–145.

- Alarcón, J.M., Malleret, G., Touzani, K., Vronskaya, S., Ishii, S., Kandel, E.R., Barco, A., 2004. Chromatin Acetylation, Memory, and LTP Are Impaired in CBP+/- Mice: A Model for the Cognitive Deficit in Rubinstein-Taybi Syndrome and Its Amelioration. *Neuron* 42, 947–959.
- Bailey, C.H., Kandel, E.R., Si, K., 2004. The persistence of long-term memory: a molecular approach to self-sustaining changes in learning-induced synaptic growth. *Neuron* 44, 49–57.
- Belarbi, K., Burnouf, S., Fernandez-Gomez, F.-J., Desmercières, J., Troquier, L., Brouillette, J., Tsambou, L., Grosjean, M.-E., Caillierez, R., Demeyer, D., Hamdane, M., Schindowski, K., Blum, D., Buée, L., 2011. Loss of medial septum cholinergic neurons in THY-Tau22 mouse model: what links with tau pathology? *Curr Alzheimer Res* 8, 633–638.
- Belarbi, K., Schindowski, K., Burnouf, S., Caillierez, R., Grosjean, M.-E., Demeyer, D., Hamdane, M., Sergeant, N., Blum, D., Buée, L., 2009. Early Tau pathology involving the septo-hippocampal pathway in a Tau transgenic model: relevance to Alzheimer's disease. *Curr Alzheimer Res* 6, 152–157.
- Biswas S.C., Liu D.X., Greene L.A., 2005. Bim is a direct target of a neuronal E2F-dependent apoptotic pathway. *J Neurosci* 25, 8349–8358.
- Bousiges, O., Neidl, R., Majchrzak, M., Muller, M.-A., Barbelivien, A., Pereira de Vasconcelos, A., Schneider, A., Loeffler, J.-P., Cassel, J.-C., Boutillier, A.-L., 2013. Detection of histone acetylation levels in the dorsal hippocampus reveals early tagging on specific residues of H2B and H4 histones in response to learning. *PLoS ONE* 8, e57816.
- Bousiges, O., Vasconcelos, A.P. de, Neidl, R., Cosquer, B., Herbeaux, K., Panteleeva, I., Loeffler, J.-P., Cassel, J.-C., Boutillier, A.-L., 2010. Spatial memory consolidation is associated with induction of several lysine-acetyltransferase (histone acetyltransferase) expression levels and H2B/H4 acetylation-dependent transcriptional events in the rat hippocampus. *Neuropsychopharmacology* 35, 2521–2537.
- Boutillier, A.-L., Trinh, E., Loeffler, J.-P., 2003. Selective E2F-dependent gene transcription is controlled by histone deacetylase activity during neuronal apoptosis. *Journal of neurochemistry* 84, 814–828.
- Braak, H., Alafuzoff, I., Arzberger, T., Kretschmar, H., Tredici, K., 2006. Staging of Alzheimer disease-associated neurofibrillary pathology using paraffin sections and immunocytochemistry. *Acta Neuropathologica* 112, 389–404.
- Braak, H., Braak, E., 1991. Neuropathological staging of Alzheimer-related changes. *Acta Neuropathol.* 82, 239–259.
- Bredy, T.W., Wu, H., Crego, C., Zellhoefer, J., Sun, Y.E., Barad, M., 2007. Histone modifications around individual BDNF gene promoters in prefrontal cortex are associated with extinction of conditioned fear. *Learning & Memory* 14, 268–276.
- Brion JP, Couck AM, Passareiro E, Flament-Durrand J, 1985. Neurofibrillary tangles of Alzheimer's disease: an immunohistochemical study. *J Submicrosc Cytol.* 17, 89–96.
- Brion, J.-P., 2006. Immunological demonstration of tau protein in neurofibrillary tangles of Alzheimer's disease. *J. Alzheimers Dis.* 9, 177–185.

- Brusilow, S.W., Maestri, N.E., 1996. Urea cycle disorders: diagnosis, pathophysiology, and therapy. *Adv Pediatr* 43, 127–170.
- Burnouf, S., Martire, A., Derisbourg, M., Laurent, C., Belarbi, K., Leboucher, A., Fernandez-Gomez, F.J., Troquier, L., Eddarkaoui, S., Grosjean, M.-E., Demeyer, D., Muhr-Tailleux, A., Buisson, A., Sergeant, N., Hamdane, M., Humez, S., Popoli, P., Buée, L., Blum, D., 2013. NMDA receptor dysfunction contributes to impaired brain-derived neurotrophic factor-induced facilitation of hippocampal synaptic transmission in a Tau transgenic model. *Aging Cell* 12, 11–23.
- Cantley, M.D., Haynes, D.R., 2013. Epigenetic regulation of inflammation: progressing from broad acting histone deacetylase (HDAC) inhibitors to targeting specific HDACs. *Inflammopharmacology* 21, 301–307.
- Casamenti, F., Prosperi, C., Scali, C., Giovannelli, L., Colivicchi, M.A., Fausone-Pellegrini, M.S., Pepeu, G., 1999. Interleukin-1beta activates forebrain glial cells and increases nitric oxide production and cortical glutamate and GABA release in vivo: implications for Alzheimer's disease. *Neuroscience* 91, 831–842.
- Castillo-Carranza, D.L., Gerson, J.E., Sengupta, U., Guerrero-Muñoz, M.J., Lasagna-Reeves, C.A., Kaye, R., 2014. Specific targeting of tau oligomers in Htau mice prevents cognitive impairment and tau toxicity following injection with brain-derived tau oligomeric seeds. *J. Alzheimers Dis.* 40 Suppl 1, S97–S111.
- Chai, X., Wu, S., Murray, T.K., Kinley, R., Cella, C.V., Sims, H., Buckner, N., Hanmer, J., Davies, P., O'Neill, M.J., Hutton, M.L., Citron, M., 2011. Passive immunization with anti-Tau antibodies in two transgenic models: reduction of Tau pathology and delay of disease progression. *J. Biol. Chem.* 286, 34457–34467.
- Chatterjee, S., Mizar, P., Cassel, R., Neidl, R., Selvi, B.R., Mohankrishna, D.V., Vedamurthy, B.M., Schneider, A., Bousiges, O., Mathis, C., Cassel, J.-C., Eswaramoorthy, M., Kundu, T.K., Boutillier, A.-L., 2013. A Novel Activator of CBP/p300 Acetyltransferases Promotes Neurogenesis and Extends Memory Duration in Adult Mice. *Journal of Neuroscience* 33, 10698–10712.
- Collins, A.F., Pearson, H.A., Giardina, P., McDonagh, K.T., Brusilow, S.W., Dover, G.J., 1995. Oral sodium phenylbutyrate therapy in homozygous beta thalassemia: a clinical trial. *Blood* 85, 43–49.
- Cook, C., Carlomagno, Y., Gendron, T.F., Dunmore, J., Scheffel, K., Stetler, C., Davis, M., Dickson, D., Jarpe, M., DeTure, M., Petrucelli, L., 2014. Acetylation of the KXGS motifs in tau is a critical determinant in modulation of tau aggregation and clearance. *Human Molecular Genetics* 23, 104–116.
- Cremer, J.E., Lai, J.C., Sarna, G.S., 1977. Rapid blood-brain transport and metabolism of butyrate and pyruvate in the rat after portocaval anastomosis [proceedings]. *J. Physiol. (Lond.)* 266, 70P–71P.
- Cummings, J.L., Cole, G., 2002. Alzheimer disease. *Jama* 287, 2335–2338.
- Duyckaerts, C., Bennefib, M., Grignon, Y., Uchihara, T., He, Y., Piette, F., Hauw, J.-J., 1997. Modeling the relation between neurofibrillary tangles and intellectual status. *Neurobiology of aging* 18, 267–273.
- Ferrante, R.J., Kubilus, J.K., Lee, J., Ryu, H., Beesen, A., Zucker, B., Smith, K., Kowall, N.W., Ratan, R.R., Luthi-Carter, R., Hersch, S.M., 2003. Histone deacetylase inhibition by sodium butyrate

- chemotherapy ameliorates the neurodegenerative phenotype in Huntington's disease mice. *J. Neurosci.* 23, 9418–9427.
- Ferrante, R.J., Kubilus, J.K., Lee, J., Ryu, H., Beesen, A., Zucker, B., Smith, K., Kowall, N.W., Ratan, R.R., Luthi-Carter, R., others, 2003. Histone deacetylase inhibition by sodium butyrate chemotherapy ameliorates the neurodegenerative phenotype in Huntington's disease mice. *The Journal of neuroscience* 23, 9418–9427.
- Fischer, A., 2014. Targeting histone-modifications in Alzheimer's disease. What is the evidence that this is a promising therapeutic avenue? *Neuropharmacology* 80, 95–102.
- Fischer, A., Sananbenesi, F., Wang, X., Dobbin, M., Tsai, L.-H., 2007. Recovery of learning and memory is associated with chromatin remodelling. *Nature* 447, 178–182.
- Francis, Y.I., Fà, M., Ashraf, H., Zhang, H., Staniszewski, A., Latchman, D.S., Arancio, O., 2009. Dysregulation of histone acetylation in the APP/PS1 mouse model of Alzheimer's disease. *J. Alzheimers Dis.* 18, 131–139.
- Fujiki, R., Sato, A., Fujitani, M., Yamashita, T., 2013. A proapoptotic effect of valproic acid on progenitors of embryonic stem cell-derived glutamatergic neurons. *Cell Death and Disease* 4, e677.
- Gardian, G., Browne, S.E., Choi, D.-K., Klivenyi, P., Gregorio, J., Kubilus, J.K., Ryu, H., Langley, B., Ratan, R.R., Ferrante, R.J., Beal, M.F., 2005. Neuroprotective Effects of Phenylbutyrate in the N171-82Q Transgenic Mouse Model of Huntington's Disease. *Journal of Biological Chemistry* 280, 556–563.
- Gardian, G., Yang, L., Cleren, C., Calingasan, N.Y., Klivenyi, P., Beal, M.F., 2004. Neuroprotective effects of phenylbutyrate against MPTP neurotoxicity. *Neuromolecular Med.* 5, 235–241.
- Ghasemi, M., Fatemi, A., 2014. Pathologic Role of Glial Nitric Oxide in Adult and Pediatric Neuroinflammatory Diseases. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews.*
- Gräff, J., Mansuy, I.M., 2008. Epigenetic codes in cognition and behaviour. *Behavioural Brain Research* 192, 70–87.
- Gräff, J., Tsai, L.-H., 2013. The potential of HDAC inhibitors as cognitive enhancers. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 53, 311–330.
- Grober, E., Dickson, D., Sliwinski, M.J., Buschke, H., Katz, M., Crystal, H., Lipton, R.B., 1999. Memory and mental status correlates of modified Braak staging. *Neurobiol. Aging* 20, 573–579.
- Hahnen, E., Hauke, J., Tränkle, C., Eyüpoglu, I.Y., Wirth, B., Blümcke, I., 2008. Histone deacetylase inhibitors: possible implications for neurodegenerative disorders. *Expert Opin Investig Drugs* 17, 169–184.
- Hardy, J., 2006. A Hundred Years of Alzheimer's Disease Research. *Neuron* 52, 3–13.
- Jeong M.R., Hashimoto R., Senatorov V.V., Fujimaki K., Ren M., Lee M.S., Chuang D.-M., 2003. Valproic acid, a mood stabilizer and anticonvulsant, protects rat cerebral cortical neurons from spontaneous cell death: a role of histone deacetylase inhibition. *FEBS Letters* 542, 74–78.

- Kilgore, M., Miller, C.A., Fass, D.M., Hennig, K.M., Haggarty, S.J., Sweatt, J.D., Rumbaugh, G., 2010. Inhibitors of class 1 histone deacetylases reverse contextual memory deficits in a mouse model of Alzheimer's disease. *Neuropsychopharmacology* 35, 870–880.
- Kim, H.J., Chuang, D.-M., 2014. HDAC inhibitors mitigate ischemia-induced oligodendrocyte damage: potential roles of oligodendrogenesis, VEGF, and anti-inflammation. *Am J Transl Res* 6, 206–223.
- Langley, B., Gensert, J.M., Beal, M.F., Ratan, R.R., 2005. Remodeling chromatin and stress resistance in the central nervous system: histone deacetylase inhibitors as novel and broadly effective neuroprotective agents. *Curr Drug Targets CNS Neurol Disord* 4, 41–50.
- Laurent, C., Eddarkaoui, S., Derisbourg, M., Leboucher, A., Demeyer, D., Carrier, S., Schneider, M., Hamdane, M., Müller, C.E., Buée, L., Blum, D., 2014. Beneficial effects of caffeine in a transgenic model of Alzheimer's disease-like tau pathology. *Neurobiol. Aging* 35, 2079–2090.
- Le Freche, H., Brouillette, J., Fernandez-Gomez, F.-J., Patin, P., Caillierez, R., Zommer, N., Sergeant, N., Buée-Scherrer, V., Lebuffe, G., Blum, D., Buée, L., 2012. Tau phosphorylation and sevoflurane anesthesia: an association to postoperative cognitive impairment. *Anesthesiology* 116, 779–787.
- Leboucher, A., Laurent, C., Fernandez-Gomez, F.-J., Burnouf, S., Troquier, L., Eddarkaoui, S., Demeyer, D., Caillierez, R., Zommer, N., Vallez, E., Bantubungi, K., Breton, C., Pigny, P., Buée-Scherrer, V., Staels, B., Hamdane, M., Tailleux, A., Buée, L., Blum, D., 2013. Detrimental effects of diet-induced obesity on τ pathology are independent of insulin resistance in τ transgenic mice. *Diabetes* 62, 1681–1688.
- Levenson, J.M., 2004. Regulation of Histone Acetylation during Memory Formation in the Hippocampus. *Journal of Biological Chemistry* 279, 40545–40559.
- Levenson, J.M., Sweatt, J.D., 2005. Epigenetic mechanisms in memory formation. *Nature Reviews Neuroscience* 6, 108–118.
- Lopez-Atalaya, J.P., Ito, S., Valor, L.M., Benito, E., Barco, A., 2013. Genomic targets, and histone acetylation and gene expression profiling of neural HDAC inhibition. *Nucleic Acids Res.* 41, 8072–8084.
- Luna-Munoz, J., R., C., M., C., Flores-Rodriguez, P., Avila, J., R., S., la Cruz, F.D., Mena, R., A., M., Floran-Garduno, B., 2013. Phosphorylation of Tau Protein Associated as a Protective Mechanism in the Presence of Toxic, C-Terminally Truncated Tau in Alzheimer's Disease, in: Zerr, I. (Ed.), *Understanding Alzheimer's Disease*. InTech.
- McGeer, E.G., McGeer, P.L., 1998. The importance of inflammatory mechanisms in Alzheimer disease. *Exp. Gerontol.* 33, 371–378.
- Meraz-Ríos, M.A., Toral-Rios, D., Franco-Bocanegra, D., Villeda-Hernández, J., Campos-Peña, V., 2013. Inflammatory process in Alzheimer's Disease. *Frontiers in Integrative Neuroscience* 7 : 59.
- Millington, C., Sonogo, S., Karunaweera, N., Rangel, A., Aldrich-Wright, J.R., Campbell, I.L., Gyengesi, E., Münch, G., 2014. Chronic Neuroinflammation in Alzheimer's Disease: New Perspectives on Animal Models and Promising Candidate Drugs. *Biomed Res Int* 2014, 309129.
- Min, S.-W., Cho, S.-H., Zhou, Y., Schroeder, S., Haroutunian, V., Seeley, W.W., Huang, E.J., Shen, Y., Masliah, E., Mukherjee, C., 2010. Acetylation of Tau Inhibits Its Degradation and Contributes to Tauopathy. *Neuron* 67, 953–966.

- Nguyen, T.-V.V., Shen, L., Vander Griend, L., Quach, L.N., Belichenko, N.P., Saw, N., Yang, T., Shamloo, M., Wyss-Coray, T., Massa, S.M., others, 2014. Small Molecule p75 NTR Ligands Reduce Pathological Phosphorylation and Misfolding of Tau, Inflammatory Changes, Cholinergic Degeneration, and Cognitive Deficits in A β PP L/S Transgenic Mice. *Journal of Alzheimer's Disease*.
- Peixoto, L., Abel, T., 2013. The role of histone acetylation in memory formation and cognitive impairments. *Neuropsychopharmacology* 38, 62–76.
- Ricobaraza, A., Cuadrado-Tejedor, M., Garcia-Osta, A., 2011. Long-term phenylbutyrate administration prevents memory deficits in Tg2576 mice by decreasing A β . *Front Biosci (Elite Ed)* 3, 1375–1384.
- Ricobaraza, A., Cuadrado-Tejedor, M., Marco, S., Pérez-Otaño, I., García-Osta, A., 2012. Phenylbutyrate rescues dendritic spine loss associated with memory deficits in a mouse model of Alzheimer disease. *Hippocampus* 22, 1040–1050.
- Ricobaraza, A., Cuadrado-Tejedor, M., Pérez-Mediavilla, A., Frechilla, D., Del Río, J., García-Osta, A., 2009. Phenylbutyrate ameliorates cognitive deficit and reduces tau pathology in an Alzheimer's disease mouse model. *Neuropsychopharmacology* 34, 1721–1732.
- Ryu, H., Smith, K., Camelo, S.I., Carreras, I., Lee, J., Iglesias, A.H., Dangond, F., Cormier, K.A., Cudkowicz, M.E., Brown, R.H., Jr, Ferrante, R.J., 2005. Sodium phenylbutyrate prolongs survival and regulates expression of anti-apoptotic genes in transgenic amyotrophic lateral sclerosis mice. *J. Neurochem.* 93, 1087–1098.
- Schindowski, K., Belarbi, K., Bretteville, A., Ando, K., Buée, L., 2008. Neurogenesis and cell cycle-reactivated neuronal death during pathogenic tau aggregation. *Genes, Brain and Behavior* 7, 92–100.
- Schindowski, K., Bretteville, A., Leroy, K., Bégard, S., Brion, J.-P., Hamdane, M., Buée, L., 2006. Alzheimer's Disease-Like Tau Neuropathology Leads to Memory Deficits and Loss of Functional Synapses in a Novel Mutated Tau Transgenic Mouse without Any Motor Deficits. *The American Journal of Pathology* 169, 599–616.
- Sergeant, N., Bretteville, A., Hamdane, M., Caillet-Boudin, M.-L., Grognet, P., Bombois, S., Blum, D., Delacourte, A., Pasquier, F., Vanmechelen, E., Schraen-Maschke, S., Buée, L., 2008. Biochemistry of Tau in Alzheimer's disease and related neurological disorders. *Expert Rev Proteomics* 5, 207–224.
- Stefanko, D.P., Barrett, R.M., Ly, A.R., Reolon, G.K., Wood, M.A., 2009. Modulation of long-term memory for object recognition via HDAC inhibition. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 106, 9447–9452.
- Van der Jeugd, A., Ahmed, T., Burnouf, S., Belarbi, K., Hamdane, M., Grosjean, M.-E., Humez, S., Balschun, D., Blum, D., Buée, L., D'Hooge, R., 2011. Hippocampal tauopathy in tau transgenic mice coincides with impaired hippocampus-dependent learning and memory, and attenuated late-phase long-term depression of synaptic transmission. *Neurobiology of Learning and Memory* 95, 296–304.
- Van der Jeugd, A., Vermaercke, B., Derisbourg, M., Lo, A.C., Hamdane, M., Blum, D., Buée, L., D'Hooge, R., 2013. Progressive Age-Related Cognitive Decline in Tau Mice. *Journal of Alzheimer's Disease* 37, 777–788.

- Vecsey, C.G., Hawk, J.D., Lattal, K.M., Stein, J.M., Fabian, S.A., Attner, M.A., Cabrera, S.M., McDonough, C.B., Brindle, P.K., Abel, T., Wood, M.A., 2007a. Histone Deacetylase Inhibitors Enhance Memory and Synaptic Plasticity via CREB: CBP-Dependent Transcriptional Activation. *Journal of Neuroscience* 27, 6128–6140.
- Vecsey, C.G., Hawk, J.D., Lattal, K.M., Stein, J.M., Fabian, S.A., Attner, M.A., Cabrera, S.M., McDonough, C.B., Brindle, P.K., Abel, T., Wood, M.A., 2007b. Histone Deacetylase Inhibitors Enhance Memory and Synaptic Plasticity via CREB: CBP-Dependent Transcriptional Activation. *Journal of Neuroscience* 27, 6128–6140.
- Wiley, J.C., Pettan-Brewer, C., Ladiges, W.C., 2011. Phenylbutyric acid reduces amyloid plaques and rescues cognitive behavior in AD transgenic mice: PBA reduces amyloid plaques and rescues cognitive behavior in mice. *Aging Cell* 10, 418–428.
- Wright, J.M., Zeitlin, P.L., Cebotaru, L., Guggino, S.E., Guggino, W.B., 2004. Gene expression profile analysis of 4-phenylbutyrate treatment of IB3-1 bronchial epithelial cell line demonstrates a major influence on heat-shock proteins. *Physiol. Genomics* 16, 204–211.
- Xu, K., Dai, X.-L., Huang, H.-C., Jiang, Z.-F., 2011. Targeting HDACs: A Promising Therapy for Alzheimer's Disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2011, 1–5.
- Zhang, Z.-Y., Schluesener, H.J., 2013. Oral administration of histone deacetylase inhibitor MS-275 ameliorates neuroinflammation and cerebral amyloidosis and improves behavior in a mouse model. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology* 72, 178–185.
- Zovkic, I.B., Guzman-Karlsson, M.C., Sweatt, J.D., 2013. Epigenetic regulation of memory formation and maintenance. *Learning & Memory* 20, 61–74.

Figure 1

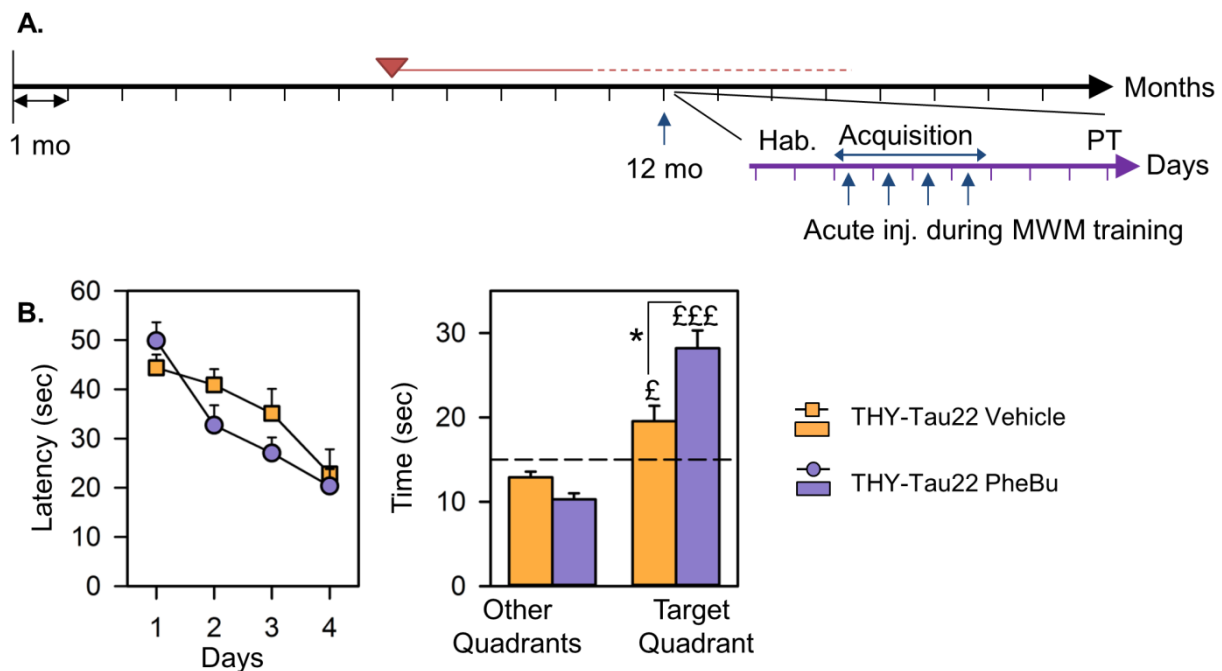


Figure 1: Effect of acute PheBu treatment on spatial memory performances in THY-Tau22 mice at 12 months of age

A. Time line representation of the experiment. Acute treatment has been performed at the end of each acquisition day, after the last trial (represented by the blue arrows). Red triangle represents the onset of neuroinflammation (as described by Schindowski et al., 2006).

B. Morris water maze results. During the acquisition, the diminution in the average latency to reach the hidden platform over days indicates the learning of the task (left). All mice, independently from the treatment group, showed a significant decrease of latency to reach the platform over days. During probe trial, the time spent in the target quadrant (compared to the mean time spent in the three other) indicates the memory of platform location (right). The treatment effect highlights the beneficial effect of PheBu on memory performances in Tg mice at 12 months of age.

Dashed line represented the chance level (*i.e.* 15 s). Results are expressed as means + SEM. £, $p < 0.05$; £££, $p < 0.001$ t-test comparison to chance level; *, $p < 0.05$ ANOVA one-way treatment effect ($n = 8-9$ mice per group).

Figure 2

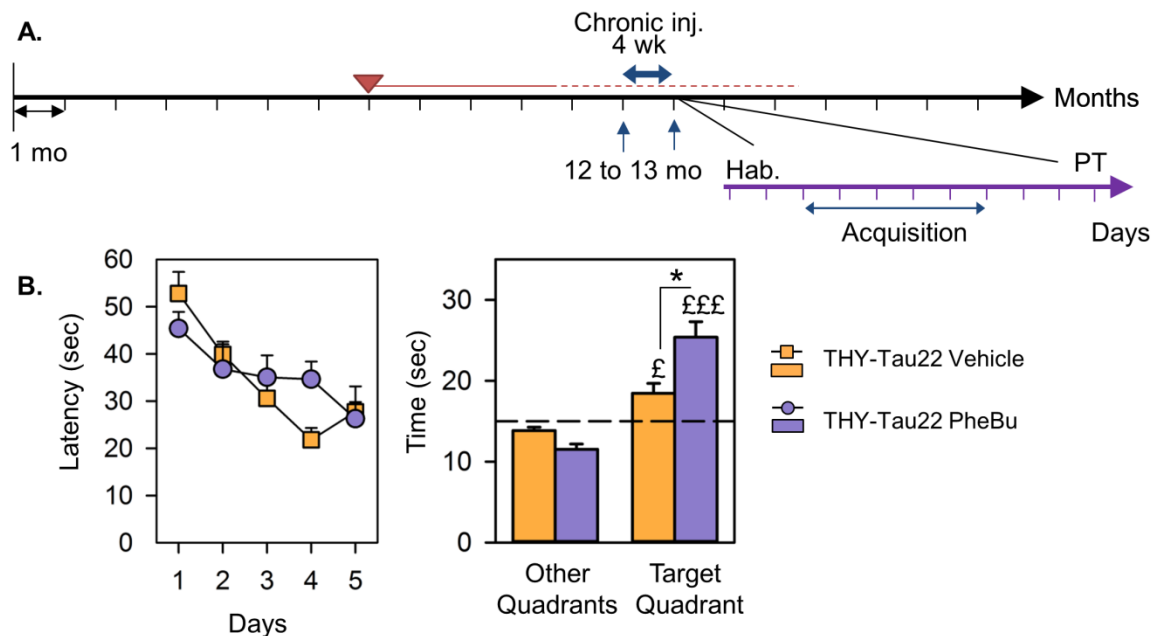


Figure 2: Effect of a chronic treatment with a HDACs inhibitor on spatial memory performances in THY-Tau22 mice when injected after the beginning of inflammation

A. Time line representation of the experiment. Chronic treatment was started when the mice were 12-months of age and injections (200 mg/kg PheBu or saline) were performed 6 times a week during 4 weeks. MWM experiment was started three days after the last injection. Red triangle represents the onset of neuroinflammation (as described by Schindowski et al., 2006).

B. Morris water maze results. During the acquisition, the diminution in the average latency to reach the hidden platform over days indicates the learning of the task (left). All mice, independently from the treatment group, showed a significant decrease of latency to reach the platform over days. During probe trial, the time spent in the target quadrant (compared to the mean time spent in the three other) indicates the memory of platform location (right). The treatment effect highlights the beneficial effect of PheBu on memory performances in Tg mice at 12 months of age.

Dashed line represented the chance level (*i.e.* 15 s). Results are expressed as means + SEM. £, $p < 0.05$; £££, $p < 0.001$ t-test comparison to chance level; *, $p < 0.05$ ANOVA one-way treatment effect ($n=8$ mice per group).

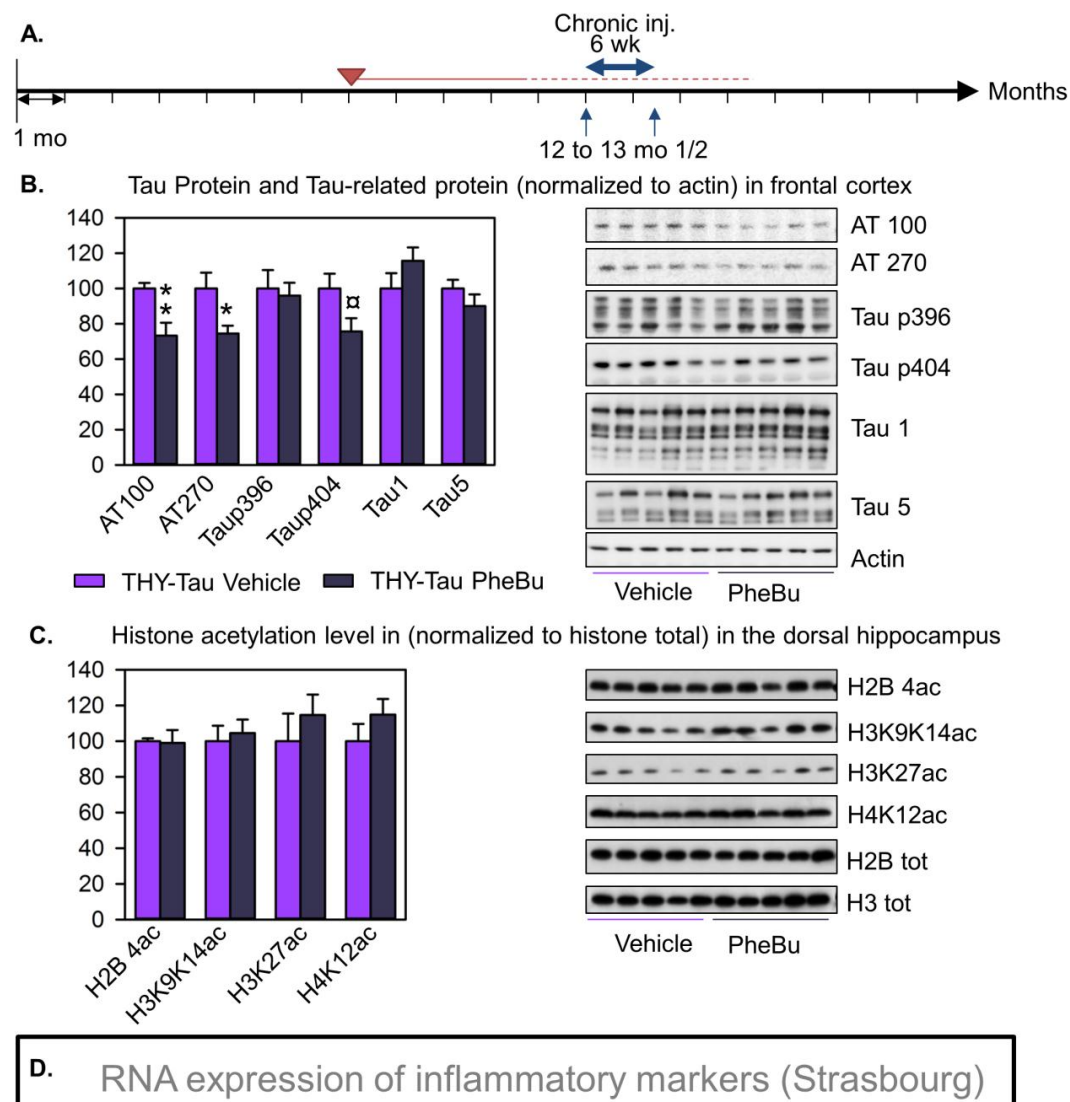
Figure3

Figure 3: Effect of a post-inflammation chronic treatment with PheBu on the pathological status of THY-Tau22 mice

A. Time line representation of the experiment. Chronic treatment was started when the mice were 12-months of age, performed 4 times a week during 6 weeks. Red triangle represents the onset of neuroinflammation (as described by Schindowski et al., 2006).

B. The influence of PheBu treatment on Tau protein expression level in the frontal cortex of THY-Tau22 mice is tested using a student t-test for independent group. PheBu treatment induces a significant decrease of tau hyperphosphorylation (AT100, AT270 and Taup404).

C. Acetylation level in dorsal hippocampus. PheBu treatment did not induce any significant modification.

D. RNA expression level depending on the treatment. (Currently under analysis in Strasbourg).

Results are expressed as means + SEM. α , $p=0.06$; *, $p<0.05$; **, $p<0.01$; ***, $p<0.001$, ANOVA one-way treatment effect ($n=5$ mice per group).

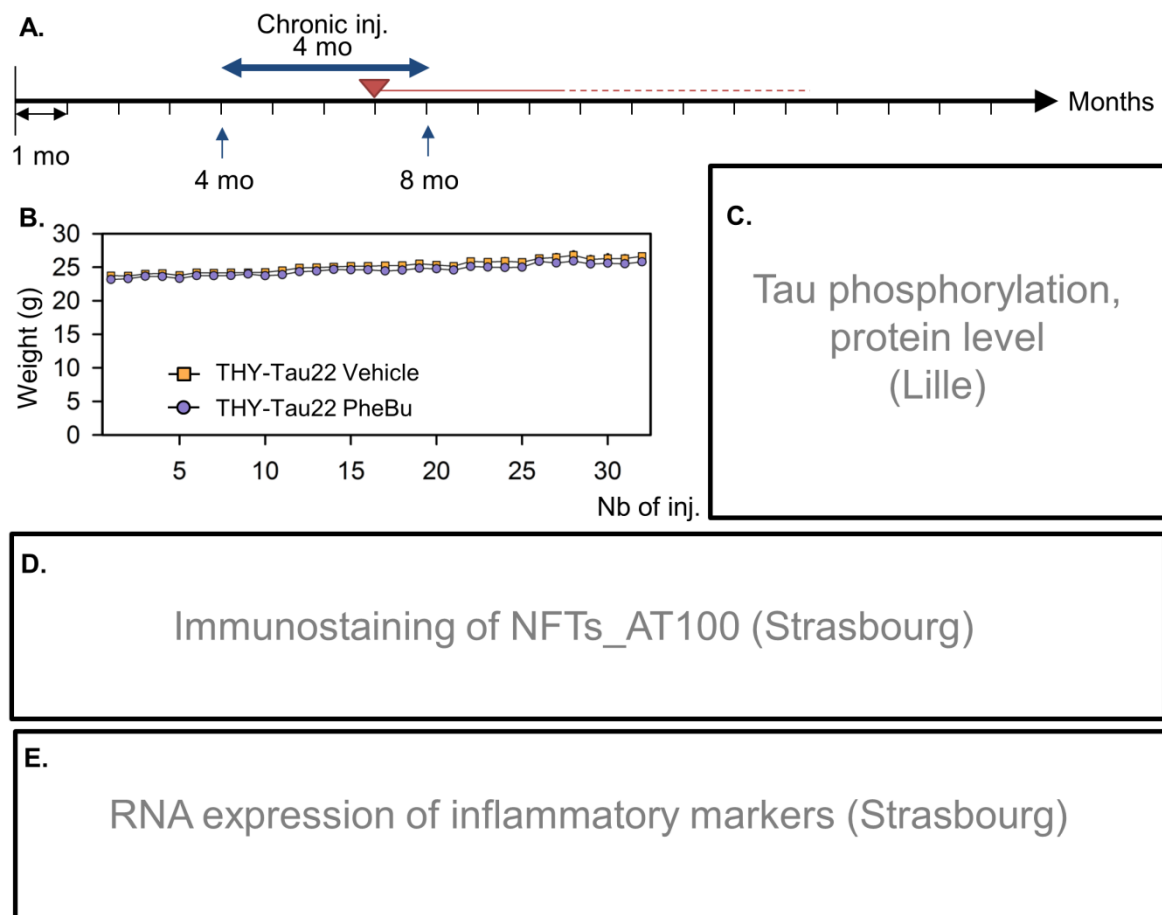
Figure 4

Figure 4: Effect of a chronic PheBu treatment on the pathological status of THY-Tau22 mice when administrated prior to inflammation.

A. Time line representation of the experiment. Chronic treatment has been performed during 4 months and a half, two times a week, (start and end of treatment are represented by the blue arrows). Red triangle represents the onset of neuroinflammation (as described by Schindowski et al., 2006).

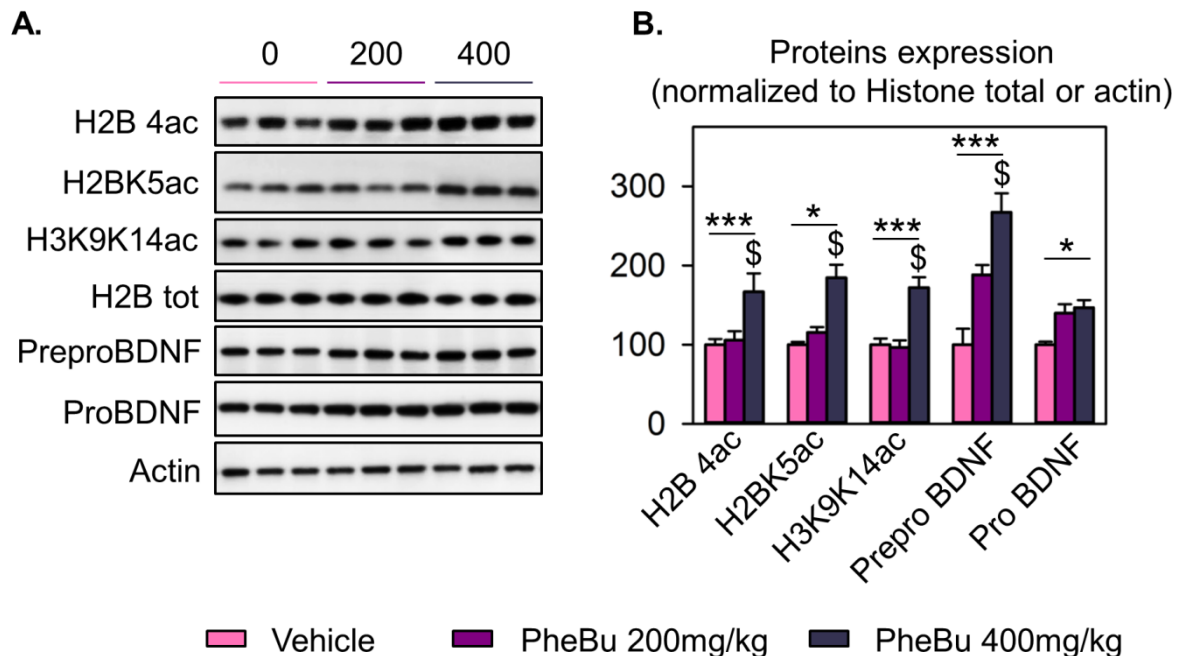
B. Mean weight of mice depending on the treatment during the 4 months of injection. The potential effect of chronic treatment on body weight was evaluated using a two-way ANOVA for repeated measures considering the factors “injection” and “treatment”. There is no significant effect of PheBu injections on body weight (n=11-12 mice per group).

C. Tau phosphorylation level in frontal cortex as in middle aged mice. (Will be made in Lille, August 2014).

D. Immunostaining of pathological tau phosphorylation with AT100 in dorsal hippocampus (Currently under analysis in Strasbourg).

E. RNA expression level of inflammatory markers in the dorsal hippocampus of Tg mice. (Currently under analysis in Strasbourg).

Suppl. Figure 1



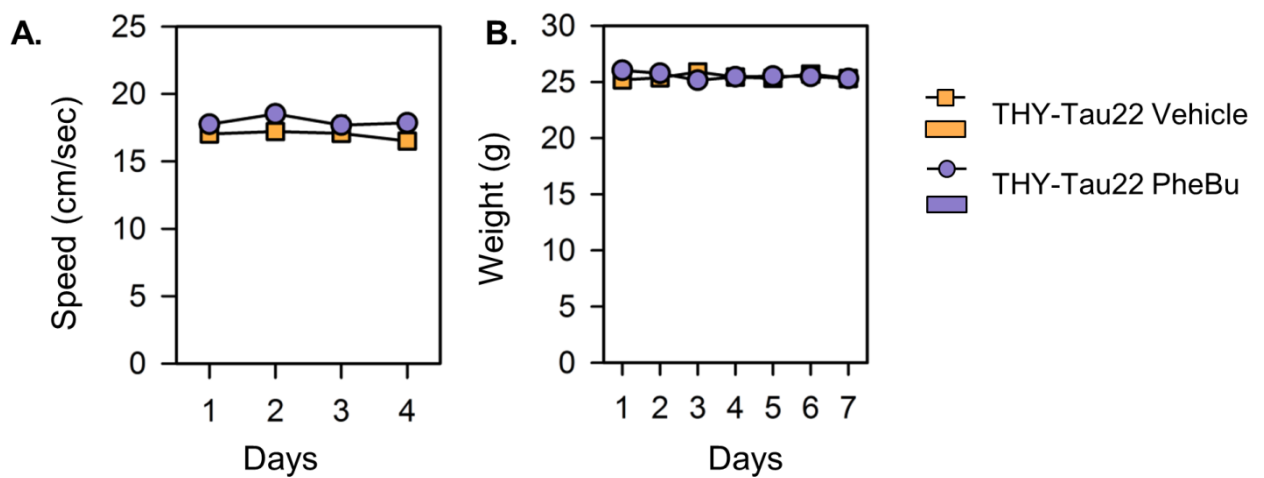
Suppl. Figure 1: Effect of a single injection of PheBu at two different doses in TH-Tau22 mice model

A. Representative western blot obtained in 3 mice. Veh: mice injected with Saline, dose 0, 200: single dose of PheBu (200mg/kg), 400: double dose of PheBu (400mg/kg).

B. Histone acetylation level and BDNF expression depending on the treatment and the dose used. A one-way ANOVA has been used to evaluate the effect of a single PheBu injection considering the factor “treatment” (Vehicle: 0, PheBu: 200mg/kg or 400mg/kg). The post-hoc Newman-Keuls was used to analyze the PheBu dose effect (200mg/kg or 400mg/kg). The PheBu treatment increases H2B tetra acetylation ($F(2,18)=5.58$, $p<0.001$; NK, $p<0.05$ for 400 vs. 0 and 400 vs. 200), H2BK5 acetylation ($F(2,18)=18.08$, $p<0.05$; NK, $p<0.01$ for 400 vs. 0 and 400 vs. 200) and H3K9K14 ($F(2,18)=17.85$, $p<0.001$; NK, $p<0.001$ for DD vs. Vehicle and DD vs. D) when injected at the 400mg/kg dose. PheBu was also able to increase the level of proBDNF and preproBDNF, ($F(2,18)=18.30$, $p<0.001$) with a dose effect, (NK: 400 vs. 200, $p<0.05$) and proBDNF ($F(2,18)=8.11$, $p<0.01$) but with no difference between 400 vs. 200.

Results are expressed as means + SEM. *, $p<0.05$; ***, $p<0.001$ ANOVA one-way treatment effect; \$, $p<0.05$ 200mg/kg vs. 400 mg/kg ; n=7 mice per group)

Suppl. Figure 2

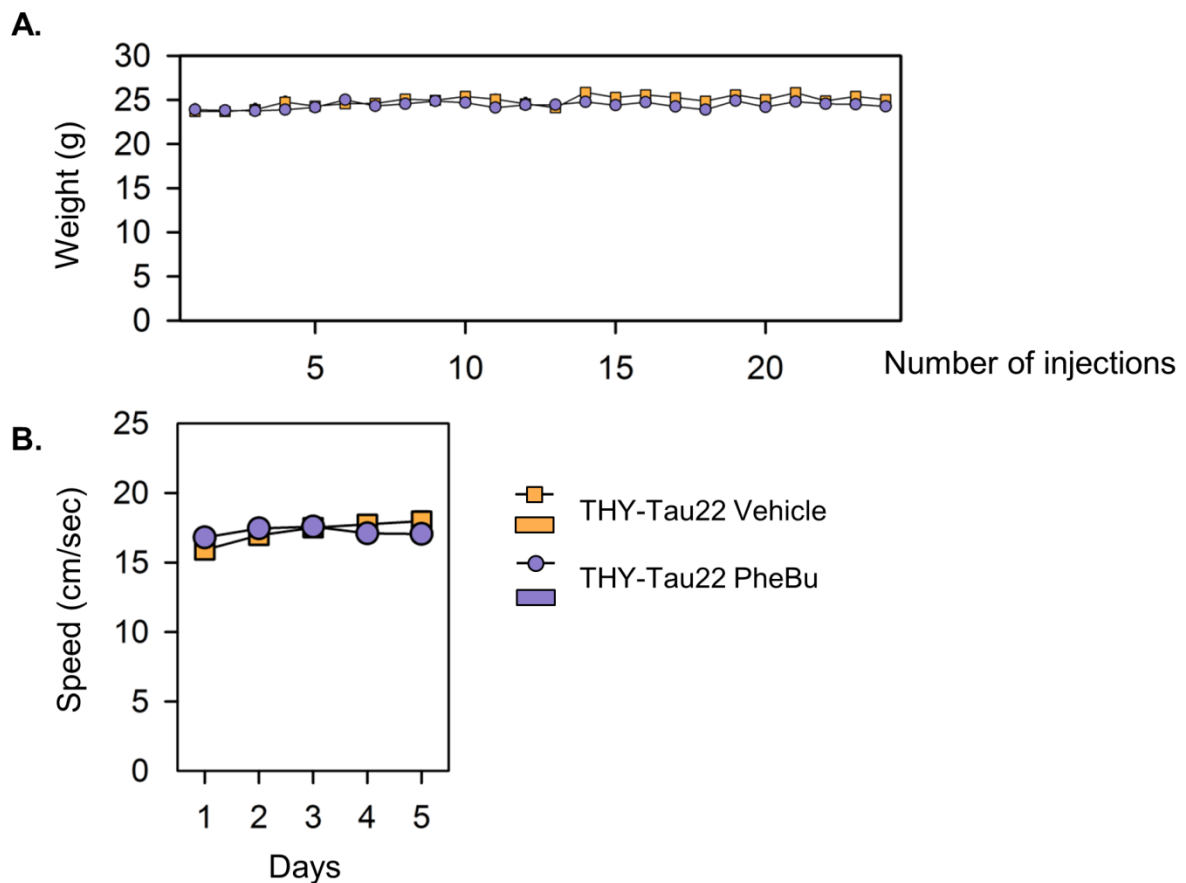


Suppl. Figure 2: Effect of acute PheBu administration in 12 month-old THY-Tau22 mice on swim speed and body weight upon the MWM experiment

A. Average swim speed depending on the acquisition day and the treatment. There is no significant effect of “treatment” or “genotype”.

B. Average weight of the mice all over the Morris water maze experiment. The acute PheBu injections did not affect the body weight of the mice (n=8-9 mice per group).

Suppl. Figure 3



Suppl. Figure 3: Effect of chronic PheBu administration in 12 month-old THY-Tau22 mice on body weight and swim speed during the MWM experiment.

A. Mean weight of mice depending on the number of injections. The influence of treatment on body weight was evaluated using a two-way ANOVA for repeated measures considering the factor “injection” (1-24) and treatment (Vehicle vs. PheBu; n=8 mice per group).

B. Average speed depending on the acquisition day and the treatment. There is no significant “treatment” effect on the average speed.

Suppl. Figure 4

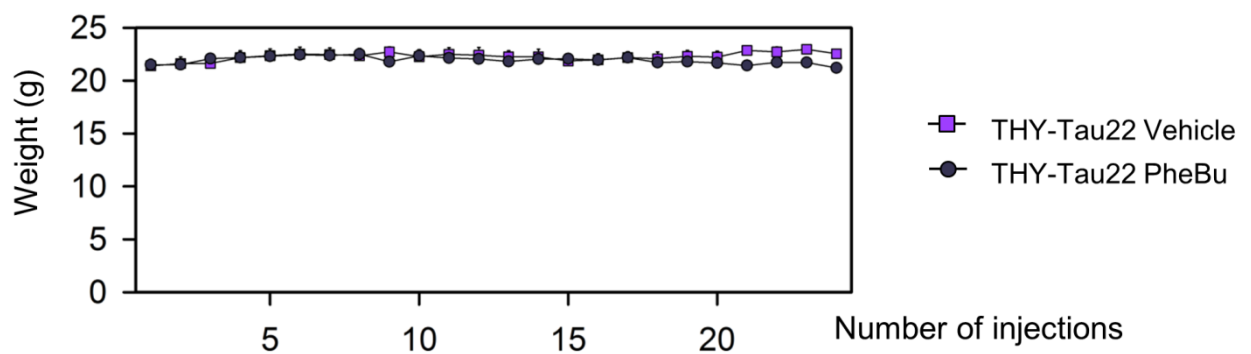


Figure Suppl. 4: Effect of chronic PheBu administration on body weight in THY-Tau22 mice at 12 months of age. Mean weight of mice depending on the number of injections. The influence of treatment on body weight was evaluated using a two-way ANOVA for repeated measures considering the factor “injection” and “genotype”. There is no effect of PheBu injections on body weight (n=5 mice per group).

DONNEES SUPPLEMENTAIRES

L'âge représente le facteur de risque le plus important de la MA (Castellani et coll., 2010) et est associé à des changements transcriptionnels qui peuvent expliquer la diminution des performances cognitives observée chez les personnes âgées (Huidobro et coll., 2013). Ces changements affectent notamment l'expression de gènes impliqués dans la mémoire, comme le *Bdnf* (Penner et coll., 2011). Nous nous sommes intéressés à l'impact d'un traitement aigu avec le PheBu sur les performances en mémoire spatiale de souris WT de 12 mois et de 18 mois.

1. MATERIEL ET METHODES COMPLEMENTAIRES

Jusqu'à leur passage en piscine de Morris, les souris sont entre 2 et 4 par cage (en fonction du nombre de souris dans la portée). Une semaine avant les expériences de comportement, les souris sont isolées dans des cages individuelles. Elles sont manipulées 1 à 2 minutes par jour durant les 5 jours précédents le début du test comportemental. Comme pour les expériences présentées dans la publication 2, le PheBu ou la solution saline (NaCl 0.9%) sont administrés par voie intrapéritonéale à une dose de 200 mg/kg (ou à volume égal pour la solution saline), directement à la fin du 4^{ème} essai de chaque jour d'acquisition.

Nous avons également évalué l'impact de l'administration chronique du PheBu durant 3 mois chez des souris WT de 8 mois (traitement effectué entre 5 et 8 mois à raison de 2 injections par semaine). Au vu de la durée du traitement et du stress lié à la contention au moment de l'injection, les souris sont en plus manipulées deux fois par semaine sans injection, et ce pendant toute la durée de l'expérience (*cf.* Figure 65).

Pour évaluer les performances mnésiques, nous avons utilisé le test de la piscine de Morris selon un protocole de mémoire spatiale de référence (la description du protocole est disponible dans les *Annexes*, partie Evaluation de la mémoire spatiale de référence avec le test de la piscine de Morris chez la Souris). Brièvement, les souris commencent par deux jours d'habituation au dispositif, suivis de 4 jours d'acquisition à raison de 4 essais par jour. A la fin du quatrième essai, les souris sont injectées avec le PheBu ou la solution saline. Le test

de rétention est effectué 3 jours (injections aiguës) ou 12 jours (injections chroniques) après le dernier jour d'acquisition.



Figure 65 : Photographie de l'injection intrapéritonéale d'une souris C57Bl6/J de notre élevage (source personnelle).

Nous avons effectué une ANOVA à mesures répétées (analyser les paramètres mesurés au cours de la phase d'acquisition) en étudiant les facteurs : « jours » (1 – 4), « traitement » (PheBu vs. Saline) et « âge » (12 vs. 18 mois). La comparaison du temps passé dans le quadrant cible par rapport au hasard (*i.e.* 15 sec : durée du test / nombre de quadrant = 60/4) au cours du test de rétention est évaluée grâce au test *t* de Student (comparaison à une constante). Une ANOVA à deux facteurs a été réalisée, en considérant les facteurs « Traitement » (PheBu vs. Saline) et « Age » (12 vs. 18 mois), pour évaluer l'impact de l'âge et du traitement sur le rappel de la mémoire. Les résultats sont exprimés en moyenne + SEM. Le seuil de significativité est placé à $p < 0,05$.

2. RESULTATS

Afin d'évaluer l'impact de l'administration aiguë du PheBu sur les performances mnésiques au cours du vieillissement, les capacités de mémoire spatiale des souris WT de 12 mois ($n=9$ par groupe) ou de 18 mois ($n=16$ par groupe) ont été testées dans le test de la piscine de Morris. Les injections aiguës sont réalisées à la fin de chaque jour d'acquisition (Figure 66A). La latence d'accès à la plate-forme (Figure 66B) diminue significativement pour l'ensemble des groupes (« traitement »: $F(1,46)=0,43$, *ns*), « jour »: $F(3,138)=21,35$, $p=0,000000$ et « âge » : $F(1,46)=0,72$, *ns*) indiquant que les souris apprennent sa localisation. Le traitement n'a pas d'effet sur la vitesse de nage (« traitement » : $F(1,46)=0,380$, *ns*). En

raison des troubles moteurs qui peuvent apparaître avec l'âge, nous avons vérifié que la vitesse de nage ne diffère pas en fonction de l'âge ($F(1,46)=0,729, ns$).

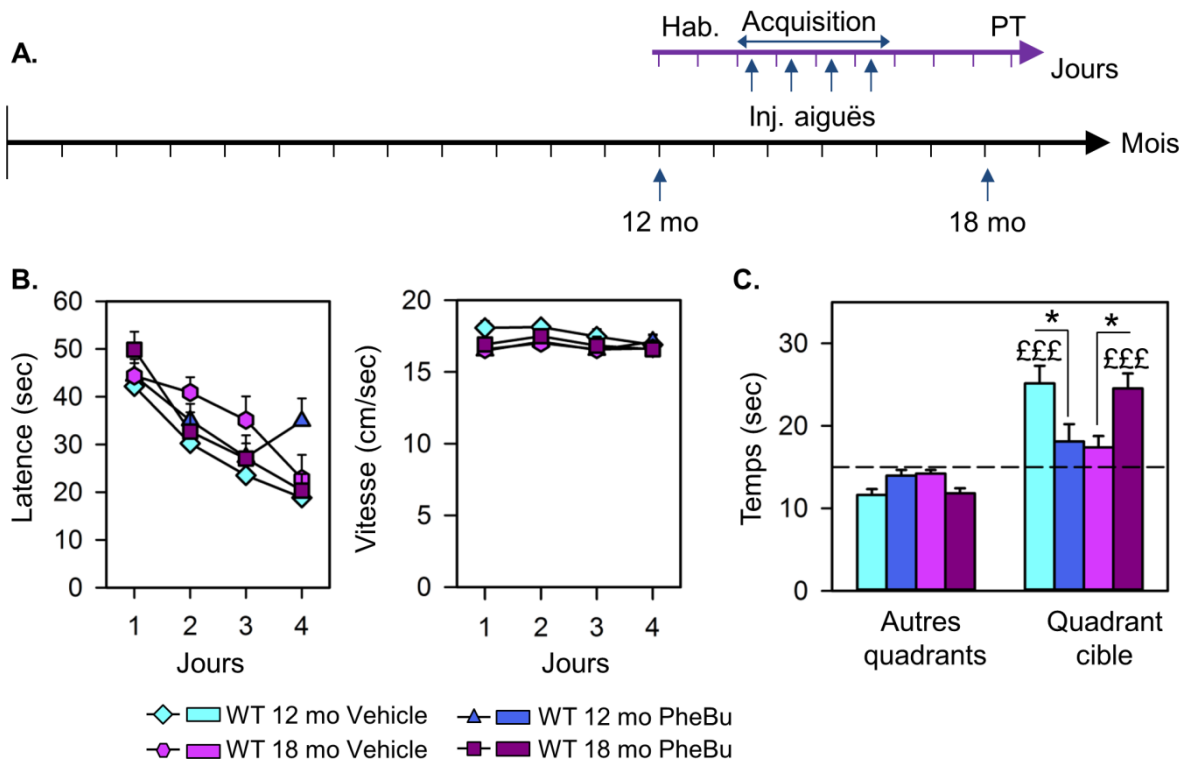


Figure 66 : Effet de l'administration aiguë de PheBu sur les performances d'acquisition et de rappel d'une mémoire spatiale en fonction de l'âge. **A.** Déroulement temporel de l'expérience. Les flèches bleues indiquent le moment des injections. **B.** Latence et vitesse moyenne d'accès à la plate-forme au cours de l'acquisition. **C.** Temps moyen passé à explorer les 3 autres quadrants par rapport au temps moyen passé dans le quadrant cible. La ligne en pointillée représente le niveau du hasard (*i.e.* 15 secondes). Symboles : $fff, p < 0,001$ test *t* de Student pour la comparaison au hasard; *, $p < 0,05$ ANOVA effet du traitement ($n=9-16$ souris par groupe).

Le test de rétention est réalisé 3 jours après la fin de l'acquisition, la plate-forme est retirée et le temps passé dans les différents quadrants de la piscine est analysé (Figure 66C). Il y a un effet significatif de l'interaction entre les facteurs « traitement » et « âge », ($F(1,46)=15,03, p=0,0003$), indiquant que le traitement n'a pas le même effet en fonction de l'âge des souris : tandis que les souris de 18 mois traitées avec le PheBu passent significativement plus de temps dans le quadrant cible que les souris du groupe Saline du même âge (NK : $p < 0,05$), on observe l'effet inverse chez les souris de 12 mois : les souris traitées avec le PheBu passent significativement moins de temps dans le quadrant cible que les souris du groupe Saline (NK : $p=0,01$). Ces résultats sont confirmés par la comparaison du

temps passé dans le quadrant cible par rapport au hasard : les souris de 12 mois du groupe Saline passent un temps supérieur au hasard dans le quadrant cible ($t(8)=5,35$, $p<0,001$), tout comme les souris du groupe PheBu de 18 mois ($t(15)=4,76$, $p<0,001$), tandis que les souris du groupe PheBu de 12 mois ($t(8)=1,48$, *ns*) passent un temps similaire à celui du hasard dans le quadrant cible tout comme les souris du groupe Saline de 18 mois ($t(15)=1,76$, *ns*). L'administration du PheBu semble donc avoir des effets bénéfiques sur les performances de rappel d'une mémoire récente chez les souris âgées (18 mois), mais altérer le rappel chez des souris de 12 mois.

Nous avons voulu vérifier que l'administration chronique de PheBu (2 fois par semaine pendant 3 mois), n'induisait pas ce type d'effet chez des souris WT âgées de 8 mois (Figure 67A). Il n'y a pas d'effet du traitement sur les performances d'acquisition (Figure 67B) : la latence d'accès à la plate-forme est la même pour les deux groupes de souris (« traitement » : $F(1,16)=0,09$, *ns*). Le traitement n'influence pas non plus la vitesse de nage des souris (« traitement » : $F(1,16)=0,03$, *ns*). Concernant le test de rétention effectué 12 jours après le dernier jour d'acquisition (délai plus long en raison du jeune âge des souris), nous n'avons pas observé d'effet du traitement ($F(1,16)=0,32$, $p=0,57$). Les deux groupes passent significativement plus de temps dans le quadrant cible par rapport au hasard (PheBu : $t(8)=3,31$, $p<0,01$ et Saline : $t(8)=4,42$, $p<0,01$; Figure 67C). Ceci nous indique que le PheBu n'a pas d'effet sur le rappel d'une mémoire ancienne chez les souris WT de 8 mois. Nous avons pesé quotidiennement les animaux afin de s'assurer de leur état de santé, le traitement s'étalant sur trois mois. Nous avons pu constater que le PheBu n'influence pas le poids des animaux (effet « injection » (1-24) et « traitement » (Saline vs. PheBu) : $F(1,16)=2,91$, $p=0,88$, Figure 67D).

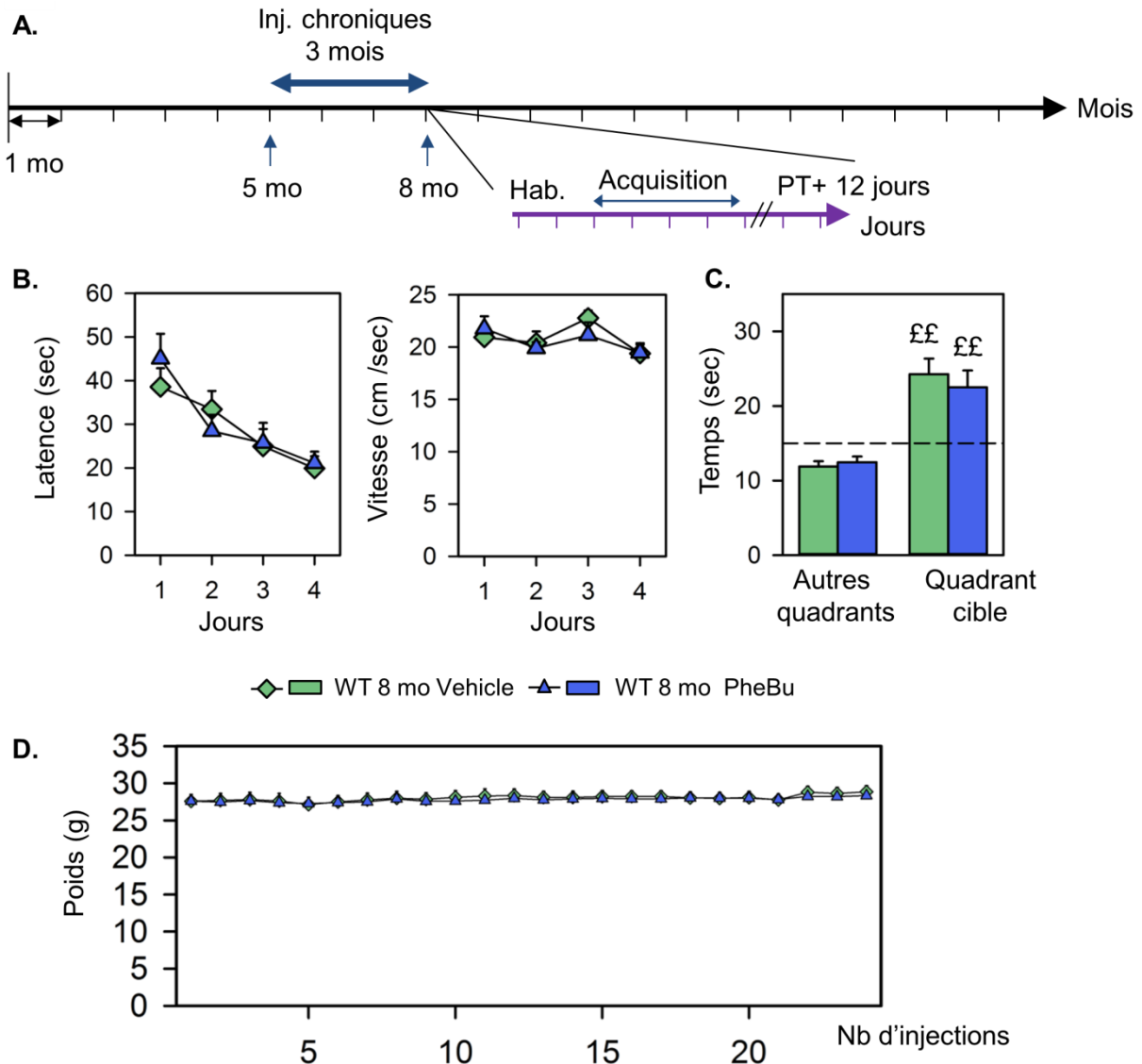


Figure 67 : Effet de l'administration chronique du PheBu à des souris WT entre 5 mois et 8 mois. A. Décours temporel de l'expérience. Les injections sont réalisées 2 fois par semaine, les mardis et vendredis vers 17h. **B.** Acquisition : Temps d'accès à la plate-forme et vitesse de nage en fonction des jours et du traitement. **C.** Test de rétention : Temps passé dans les 3 autres quadrants par rapport au temps passé dans le quadrant cible. La ligne en pointillée représente le niveau du hasard (*i.e.* 15 secondes). **D.** Suivi du poids des animaux au cours de l'expérience. Symboles: ££, $p < 0,01$, test t de Student pour la comparaison au hasard ($n=9$ souris pas groupe).

Tandis que l'administration aiguë de PheBu améliore les performances de mémoire récente chez les souris âgées, elle les altère chez les souris de 12 mois. Par contre, l'injection chronique de PheBu à des souris jeunes (8 mois) n'influence pas les capacités de rappel d'une mémoire ancienne.

DISCUSSION

Nos résultats mettent en évidence qu'il est possible de restaurer les performances mnésiques chez des souris modélisant la MA grâce à l'administration aiguë ou chronique d'un iHDACs. L'administration chronique du phénylbutyrate (PheBu), même lorsque l'inflammation est déjà bien développée, a permis de rétablir les performances mnésiques des souris THY-Tau22 de 12 mois et de diminuer la phosphorylation anormale de la protéine TAU dans le cortex frontal. Nous avons également constaté que l'administration aiguë de PheBu permet de limiter les déficits mnésiques observés chez des souris WT de 18 mois. De manière surprenante, l'injection aiguë de PheBu affecte la mémoire récente des souris WT de 12 mois alors que son administration chronique n'influence pas la mémoire ancienne de souris jeunes (8 mois).

1. RESTAURATION DES PERFORMANCES MNESIQUES CHEZ LES SOURIS THY-TAU22

Nos résultats mettent en évidence que l'administration aiguë comme chronique d'un iHDACs, le phénylbutyrate (PheBu), est capable d'améliorer les performances de rappel d'une trace mnésique dans un modèle murin de la MA. En effet, les souris THY-Tau22 présentent des troubles de rappel dans une tâche de mémoire spatiale de référence. Il est possible que nous ayons rétabli le niveau d'acétylation des histones grâce à l'administration du PheBu, ce qui aurait permis de restaurer les capacités mnésiques de ces souris en augmentant l'expression de gènes impliqués dans la mémoire. Mais il est également possible que le PheBu ait modulé l'acétylation de protéines non-histones impliquées dans la mémoire, comme CBP et p300 ou la RNA polymérase II (Lopez-Atalaya et coll., 2013). L'effet bénéfique du PheBu sur les performances mnésiques a déjà été observé mais la majorité des études sont réalisées sur des modèles murins amyloïdes de la MA (*i.e.* des souris qui développent des plaques séniles avec l'âge). Fischer et ses collaborateurs (2007) ont montré que l'instillation intra-cérébro-ventriculaire de NaBu à des souris CK-p25 restaure les capacités mnésiques de ces animaux ainsi que le nombre d'épines dendritiques présentes sur les neurones pyramidaux de l'hippocampe et du cortex cingulaire. Ricobaraza et collaborateurs (2009, 2011 et 2012) ont montré que l'administration de PheBu à des souris Tg2576 de 16 mois (exprimant l'APP humaine mutée) permet de rétablir les performances

de mémoire spatiale et de contrecarrer la diminution progressive de la densité d'épines dendritiques dans les neurones hippocampiques de ces souris. Wiley et collaborateurs (2011) ont ralenti le développement des troubles cognitifs chez des souris doubles transgéniques (expression de l'APP humaine et de PS1 mutée) suite à l'administration par voie orale de PheBu. Jusqu'alors l'impact de l'administration du PheBu n'avait jamais été étudié sur les performances en mémoire spatiale dans des modèles murins de tauopathies. Nos données mettent en évidence que l'administration chronique d'un inhibiteur des HDACs, le PheBu, permet de réduire l'hyperphosphorylation de la protéine TAU dans le cortex frontal des souris THY-Tau22. La phosphorylation pathologique de la protéine TAU a été associée à des troubles en mémoire spatiale chez des souris WT (Sergeant et coll., 2008 ; Leboucher et coll., 2013) et dans le modèle de souris THY-Tau22 (Burnouf et coll., 2012). En diminuant cette phosphorylation pathologique de la protéine Tau, nous avons probablement influencé les performances mnésiques de ces souris. Le PheBu a donc permis de restaurer les capacités de consolidation d'une mémoire spatiale chez les souris THY-Tau22.

2. IMPACT DE L'ADMINISTRATION CHRONIQUE DU PHEBU SUR LE DEVELOPPEMENT DE LA PATHOLOGIE

L'impact de l'administration du PheBu sur le développement des DNFs et des plaques séniles a déjà été étudié mais uniquement dans des modèles murin amyloïdes de la MA. Ricobaraza et collaborateurs (2009, 2011 et 2012) ont montré que l'administration chronique de PheBu entraîne une diminution de la GSK 3 β (une kinase responsable de la phosphorylation de la protéine TAU) et de la phosphorylation pathologique de la protéine TAU des souris Tg2576 de 16 mois. Ils n'ont observé aucun changement concernant les plaques séniles. Wiley et ses collaborateurs (2011) ont montré que l'administration systémique de PheBu à des souris APP/PS1 Δ 9 de 14 mois diminue la taille des plaques séniles mais sans pour autant en modifier le nombre. Enfin, en utilisant un inhibiteur spécifique de HDAC1 chez des souris APP/PS1-21, Zhang et Schluesener (2013) ont mis en évidence une réduction de l'activation microgliale et une diminution des dépôts amyloïdes dans le cortex et l'hippocampe de ces souris. Chez les souris THY-Tau22, il est possible qu'en diminuant la phosphorylation pathologique de la protéine TAU, nous ayons diminué les sites lésionnels et l'inflammation consécutifs à l'agrégation de la protéine TAU dans l'hippocampe et le cortex frontal, deux structures largement impliquées dans la mémoire. La propagation des DNFs étant associée à la survenue des troubles cognitifs (Giannakopoulos et coll., 2003 ;

Ingelsson et coll., 2004 ; Spires-Jones et Hyman, 2014), en retardant l'atteinte par les DNFs nous avons probablement retardé les troubles cognitifs. L'effet du traitement chronique avec le PheBu sur la formation des DNFs sera confirmé par immunomarquage de l'AT100 (phosphorylation pathologique de la protéine TAU retrouvée dans les DNFs) dans l'hippocampe et le cortex frontal (souris de 12 mois, injectées pendant 6 semaines).

Il manque une partie des résultats, notamment en termes de transcription des gènes reliés à l'inflammation (IL1-beta, TNF-alpha) suite à l'administration chronique du PheBu chez les souris THY-Tau22 de 12 mois et de 8 mois. Il manque également les données concernant l'impact de l'administration chronique du PheBu chez les souris THY-Tau de 8 mois sur la phosphorylation de la protéine TAU. Ces analyses seront réalisées dans les mois à venir.

3. RESTAURATION DES PERFORMANCES MNESIQUES CHEZ LES SOURIS AGEES

L'administration aiguë du PheBu a permis de rétablir les déficits mnésiques observés chez des souris WT âgées de 18 mois. Le vieillissement est généralement associé à une diminution des fonctions physiologiques des cellules (diminution de la plasticité et de la neurogenèse) et cognitives (diminution des fonctions mnésiques, Penner et coll., 2011). Penner et collaborateurs (2011) postulent que les troubles mnésiques observés sont consécutifs à des changements de l'expression de gènes impliqués dans les processus de consolidation et de plasticité synaptique (*Zlf268*, *Arc*, *Bdnf*). Il est intéressant de noter qu'une étude récente a mis en évidence que des souris WT âgées de 16 mois présentent des déficits d'acétylation sur H4K12, une marque épigénétique présente à la TSS (*Transcription Start Site*) de nombreux gènes associés à la plasticité synaptique (Peleg et coll., 2010). Le PheBu a pu influencer une ou plusieurs marques épigénétiques précises nécessaires à l'activation de ces programmes génétiques (comme H4K12ac). En augmentant le niveau d'acétylation des histones, le PheBu a éventuellement favorisé le passage de la chromatine à état d'euchromatine, favorisant les événements transcriptionnels, notamment ceux associés à la consolidation d'une mémoire spatiale chez les souris WT âgées.

4. L'EFFET NEFASTE DU PHENYLBUTYRATE EN INJECTIONS PONCTUELLES

Alors que nous avons observé un effet bénéfique de l'administration du PheBu sur les performances mnésiques des souris THY-Tau22 (de 12 mois) et des souris WT âgées de 18

mois, le PheBu a au contraire induit des troubles du rappel d'une mémoire récente chez des souris WT de 12 mois. De nombreux auteurs ont analysé l'effet de l'administration d'iHDACs à des souris WT et ont observé des effets positifs sur les performances mnésiques de ces souris. Cependant, ces données n'ont pas été obtenues dans des conditions expérimentales comparables aux nôtres. Ainsi, ni l'âge des souris (jeunes adultes), ni le paradigme expérimental (conditionnement de peur par Vecsey et coll., 2007, reconnaissance de la localisation spatiale d'objets par Haettig et coll., 2011), ni les traitements utilisés (TSA, NaBu) ne sont les mêmes. On peut imaginer que nous ayons induit un état d'hyperacétylation chez les souris de 12 mois qui n'a pas lieu à 3 mois en raison de la mise en place de mécanismes compensatoires à cet âge-là. Cette hyperacétylation n'aurait pas permis la régulation fine nécessaire à l'expression des programmes transcriptionnels au cours d'une tâche mnésique. A noter que les souris du groupe PheBu de 12 mois mettent significativement plus de temps à atteindre la plate-forme au cours du dernier jour d'acquisition que les trois autres groupes (souris de 18 mois PheBu et contrôle ; souris de 12 mois contrôle). Au vu de la diminution significative de la latence d'accès à la plate-forme au cours des trois premiers jours pour ce groupe, on ne peut pas dire que ces souris n'aient pas appris la tâche.

Finalement, ces données montrent que l'administration aiguë du PheBu permet d'améliorer les performances mnésiques chez les THY-Tau22 comme chez les souris âgées, mais qu'elle est néfaste chez des souris WT de 12 mois. On peut envisager que ce traitement ait permis de rétablir le niveau d'acétylation de marques épigénétiques précises et nécessaires à l'expression des programmes transcriptionnels liés à la plasticité synaptique qui peuvent être altérées à cause de la pathologie (Gräff et coll., 2012) et/ou du vieillissement (e. g. H4K12ac, Peleg et coll., 2010). Les souris de 12 mois ne présentant à priori aucune diminution de l'acétylation des histones, l'administration de PheBu a pu induire un état d'hyperacétylation empêchant la régulation transcriptionnelle fine nécessaire au processus de mémorisation de se mettre en place efficacement. Il est possible que le PheBu permette de rééquilibrer l'état d'acétylation des protéines histones et/ou de limiter la phosphorylation de la protéine TAU et donc son agrégation, rétablissant de ce fait les performances de rappel d'une mémoire récente. En raison de son action sur les performances mnésiques et le développement de la tauopathie, le PheBu apparaît comme un traitement thérapeutique pertinent dans la MA.

PERSPECTIVES

Nous sommes dans l'attente de certains résultats qui nous permettraient de conclure sur l'impact de l'administration chronique du PheBu sur les processus inflammatoires.

Plusieurs expériences semblent nécessaires pour approfondir les résultats concernant l'effet néfaste du PheBu chez les souris WT de 12 mois. Il faudrait observer l'impact d'un traitement aigu avec le PheBu sur les performances mnésiques de souris WT de 3 mois / 6 mois / 9 mois et 15 mois afin de valider l'hypothèse des troubles de compensation liés à l'âge. Il faudrait également réaliser des analyses protéiques par western blot afin d'évaluer l'évolution de l'acétylation des histones suite à l'administration du PheBu en condition basale et en condition d'apprentissage aux différents âges (3 mois, 6 mois, 9 mois, 12 mois et 15 mois) afin de confirmer ou d'infirmer la présence d'un état d'hyperacétylation.

Il faudrait aussi évaluer les performances mnésiques des souris THY-Tau22 de 8 mois suite à un traitement chronique avec le PheBu afin d'étudier l'impact de ce traitement sur la mémoire ancienne.

Enfin, il serait très intéressant de réaliser des injections chroniques de 4 mois à 12 mois, afin de vérifier si le PheBu en traitement préventif est capable de retarder l'apparition de l'inflammation.

PUBLICATION 3

**POTENTIAL THERAPEUTIC EFFECT OF A HAT ACTIVATOR MOLECULE
(CSP-TTK21) IN A MOUSE MODEL OF ALZHEIMER'S DISEASE**

Cassel R, Chatterjee S, Bousiges O, Schneider A, Hamm V, Goutagny R, Cosquer B, Stittmatter
C, Blum D, Buée L, Kundu TK, Cassel JC, Boutillier AL

En préparation

CONTEXTE SCIENTIFIQUE ET OBJECTIFS

La maladie d'Alzheimer (MA) est la démence la plus répandue et représente un problème de santé publique majeure (Cummings and Cole, 2002). Les traitements actuellement disponibles, qu'ils soient d'ordre symptomatologique ou neuroprotecteur, n'ont qu'un effet modéré. La MA est caractérisée par trois marqueurs neuropathologiques, les plaques séniles, les dégénérescences neurofibrillaires (DNFs) et l'atrophie corticale. Les DNFs sont des agrégats intraneuronaux formés de la protéine TAU anormalement phosphorylée (Brion et coll., 1985). Le développement et la propagation des DNFs suivent un schéma particulier défini par les stades de Braak (Braak et Braak, 1991), développement corrélé aux troubles cognitifs observés dans la MA (Braak et coll., 2006). Au laboratoire, nous disposons d'une lignée de souris transgéniques, les souris THY-Tau22 (sur fond C57bl6/J), qui expriment la protéine TAU humaine mutée au niveau de deux résidus : G272V et P301S. Ces deux mutations favorisent le développement et la propagation des DNFs (Goedert et Jakes, 2005 ; Brandt et coll., 2005). L'expression de la protéine TAU humaine mutée est sous le contrôle du promoteur Thy1.2, ce qui permet une expression neuronale de la mutation qui est majoritairement restreinte au parenchyme cérébral (Schindowski et coll., 2006). Les souris THY-Tau22 présentent les premières DNFs dans l'hippocampe et le cortex frontal à partir de 3 mois, ainsi qu'une augmentation de l'activité des cellules gliales avec l'âge (qui débute vers 7 mois).

De plus en plus de données convergent vers l'idée que des dérégulations épigénétiques, parmi lesquelles l'acétylation des histones, pourraient être à l'origine des troubles mnésiques observés dans la MA (Francis et coll., 2009 ; Mastroeni et coll., 2010 ; Kilgore et coll., 2010 ; Fischer, 2014). L'acétylation des histones est régulée par deux familles d'enzyme, les HATs et les HDACs, responsables respectivement de l'ajout ou du retrait d'un groupe acétyl sur les résidus lysines présents au sein des queues N- et C-terminale des protéines histones. Parmi les HATs impliquées dans les processus de mémorisation, CBP (*CREB Binding Protein*) a fait l'objet de multiples études (Alarcón et coll., 2004 ; Korzus et coll., 2004 ; Bousiges et coll., 2010 ; Haettig et coll., 2011). Des données obtenues au laboratoire ont mis en évidence que l'expression de CBP est augmentée dans l'hippocampe dorsal de Rat au cours d'un apprentissage spatial, et que les marques épigénétiques telles

que H2Bac (K5, K12, K15 et K20) et H4K12ac sont élevées lors d'un apprentissage hippocampo-dépendant (mémoire spatiale en piscine de Morris et conditionnement de peur au contexte) (Bousiges et coll., 2010, 2013).

Nous utilisons une nouvelle molécule (CSP-TTK21) capable d'activer les coactivateurs transcriptionnels CBP/p300 *in vitro* et de favoriser la transcription de gènes impliqués dans la mémoire *in vivo* (Publication 1, Chatterjee et coll., 2013). CBP/p300 possèdent toutes deux une activité acétyltransférase, elles sont donc également capables d'augmenter l'acétylation des histones. Les objectifs de cette étude sont 1) d'évaluer le niveau d'acétylation des histones chez les souris THY-Tau22 en condition basale, 2) d'observer les conséquences de l'augmentation de l'acétylation des histones par l'administration de CSP-TTK21 sur les performances mnésiques et sur la neurogenèse chez ces souris. Nos résultats indiquent que l'administration de CSP-TTK21 permet de rétablir les performances en mémoire spatiale chez les souris THY-Tau22.

MATERIELS ET METHODES

Animaux

Des souris mâles THY-Tau22 (C57Bl6/J) hétérozygotes sont utilisées (collaboration avec le Dr Buée, U837, Lille). Les souris sauvages (WT) de même fratrie sont utilisées comme souris contrôle. Les souris THY-Tau22 expriment la protéine TAU humaine mutée sous le contrôle du promoteur Thy1.2, ce qui permet une expression restreinte aux neurones qui commence 6 jours après la naissance (évite toute influence de la mutation sur l'embryogenèse). La protéine TAU humaine ainsi exprimée est mutée au niveau de deux résidus, G272V et P301S (mutations retrouvées dans les tauopathies humaines, Goedert et Jakes, 2005). La détermination du génotype des souris est réalisée à partir d'un petit morceau d'oreille. Les souris THY-Tau22 présentent des troubles en mémoire spatiale de référence, développent progressivement des DNFs dans l'hippocampe et le cortex frontal, et présentent une réaction gliale importante (Schindowski et coll., 2006). Les souris sont élevées dans des conditions standards et conformément aux normes d'élevage (cycle jour-nuit 12/12, température 22±2°C et humidité 55±5%) avec un accès *ad libitum* à l'eau et à la nourriture.

Toutes les procédures expérimentales ont été réalisées au cours de la phase de lumière, et quand cela était possible, entre 8h et 14h. Les protocoles expérimentaux et les conditions d'élevage des souris suivent les règles institutionnelles (Directive 87/848, du 19 octobre 1987 ; Ministère de l'agriculture et de la Forêt, Service Vétérinaire de la Santé et de la Protection Animale) et internationales (directive 2010/63/UE609, 13 février 2013, communauté européen) et les manipulations expérimentales sont réalisées par des personnes habilitées (#67-117 pour A.-L.B et #I-67UnivLouisPasteur-F1-04 pour R.C). Le projet a été évalué et approuvé par le comité d'éthique de Strasbourg (AL/100/107/02/13).

Traitement

La molécule CSP-TTK21 a été synthétisée dans le laboratoire du Pr. Kundu (JNCASR, Bangalore, Inde), comme précédemment décrit dans la Publication 1 (Chatterjee et coll., 2013). La molécule est remise en suspension (par sonication rapide) dans du NaCl 0,9% extemporanément. L'administration de la molécule est réalisée en injection systémique par voie intrapéritonéale à une dose de 500µg/souris (indépendamment du poids de l'animal).

Le BrdU (B5002, Sigma), ou bromodéoxyuridine, permet de marquer les cellules nouvelles synthétisées en s'incorporant dans le brin d'ADN néoformé. Il est dissous dans du NaCl 0,9% et la solution est ramenée à un pH de 7,4 par l'ajout de chlorure d'hydrogène afin de ne pas entraîner de lésions cutanées lors de l'administration. La solution est filtrée et injectée par voie intrapéritonéale à une dose de 100mg/kg 3 heures avant l'euthanasie des souris.

Test de la piscine de Morris

Nous avons utilisé trois groupes de souris : des souris WT traitées avec du NaCl 0,9% (n=15) et deux groupes de souris THY-Tau22, l'un traité avec la CSP et l'autre avec la CSP-TTK21 (n=12/13). Les souris sont isolées 1 semaine avant la première injection et manipulées pendant les 5 jours la précédant à raison de 1 à 2 minutes par jour, de manière à les habituer à l'expérimentateur. Nous avons récupéré les cerveaux et analysé le niveau d'acétylation des histones dans l'hippocampe dorsal de 10 souris THY-Tau22 (5 CSP et 5 CSP-TTK21), 5 jours après la fin du test comportemental, pour évaluer l'impact des trois administrations de CSP-TTK21 sur l'acétylation des histones.

Le test de la piscine de Morris permet d'évaluer les capacités de mémoire spatiale chez le Rongeur. Brièvement, la piscine (150 cm de diamètre), remplie d'eau à 22°C opacifiée par l'adjonction d'un colorant non toxique (blanc de Meudon), est placée dans une pièce comprenant des indices distaux aux murs. Une plate-forme représentant la seule échappatoire (10 cm de diamètre) est cachée, systématiquement au même emplacement, un centimètre sous la surface de l'eau. Après 2 jours d'habituation, les souris sont entraînées durant 5 jours consécutifs dans le test, à raison de 4 essais par jour. Les souris sont introduites dans la piscine à partir de points de départ différents à chaque essai. La latence d'accès à la plate-forme est mesurée. Le test de rétention est réalisé 10 jours après le dernier jour d'acquisition. Au cours de ce test, la plate-forme est retirée du dispositif et nous mesurons le temps passé dans les différents quadrants. Si la Souris se rappelle l'emplacement de la plate-forme, elle passera plus de temps dans le quadrant cible (celui qui contenait la plate-forme au cours de l'acquisition) que le niveau du hasard (60 secondes/4 quadrants = 15 secondes).

Analyses biochimiques

A la fin des expériences, les souris sont euthanasiées par élongation cervicale, le cerveau est rapidement extrait de la boîte crânienne et placé pendant 2 minutes dans du PBS à 4°C. Les tissus sont ensuite disséqués (récupération de l'hippocampe dorsal / hippocampe ventral / cortex frontal / cervelet / reste du cortex), congelés dans de l'azote liquide et conservés à -80°C jusqu'à leur utilisation. Pour évaluer l'acétylation des histones à l'état basal, nous avons utilisé 5 souris WT et 5 souris THY-Tau22 âgées de 12 mois.

Les tissus sont homogénéisés dans un tampon de Laemmli (#161-0747, Bio-Rad). Les échantillons sont ensuite soniqués pendant 10 secondes (ultrasonic processor, puissance 60%), chauffés 10 minutes à 70°C puis bouillis pendant 5 minutes. Ils sont ensuite centrifugés (20 000g, 5 minutes) et les surnageants sont récupérés et congelés à -20°C jusqu'à leur dosage. Pour évaluer la concentration de protéines, nous utilisons le kit de dosage RC-DC Protein Assay (Bio-Rad). Les western blots sont réalisés comme décrits précédemment (Bousiges et coll., 2010) avec les anticorps dirigés contre H2B tétra acétylés (K5, K12, K15 et K25 ; #07-373 ; Millipore), H2BK5 acétylé (#07-382 ; Millipore), H3K9K14 acétylé (#06-599 ; Millipore), H3K27 acétylé (#07-360 ; Millipore), H4K12 acétylé (39165 ;

Active motif), histone H3 (#ab1791 ; Abcam), histone H2B (#H2-28 ; Euromedex), CBP (sc-369 ; Santa Cruz Biotechnology) et actine (#ab16039 ; Abcam). Les anticorps secondaires HRP ont été obtenus chez Jackson ImmunoResearch (anti-souris : #115-035-003 ; anti-lapin : #111-035-003).

Marquages immunohistochimiques

Après administration intrapéritonéale d'une dose létale de pentobarbital sodique (60mg/kg), nous réalisons une perfusion lente intracardiaque de paraformaldéhyde (PFA) 4%, dilué dans du tampon phosphate 10mM perfusé à 4 °C (25 ml perfusés par minute pendant 6 minutes). Le cerveau est ensuite sorti de la boîte crânienne est placé durant 2 heures supplémentaires dans du PFA à 4%. Pour assurer une cryoprotection, les cerveaux sont placés 48 heures dans du saccharose 20 % avant d'être congelés par un passage rapide dans de l'isopentane amené à -40°C. Les cerveaux sont conservés à -80°C jusqu'à leur coupe au cryostat. Les coupes sont réalisées à une épaisseur de 20µm, placées dans un milieu cryoprotecteur puis conservées à -20°C en attendant les marquages immunohistochimiques.

Nous avons étudié deux conditions différentes : l'effet de l'injection unique de CSP ou de CSP-TTK21 chez les THY-Tau22 de 8 mois (NaCl pour les WT) avec 3 souris par groupe et l'effet de trois injections espacées d'une semaine. Pour cette deuxième condition, nous avons utilisé 8 souris THY-Tau22 âgées de 8 mois (3 injectée avec CSP et 5 avec CSP-TTK21) et 3 souris WT parmi celles passées en piscine de Morris. Les souris du groupe « injection unique » sont euthanasiées 3 jours après l'injection de la molécule et les souris du groupe « trois injections » 5 jours après le test de rétention.

Après plusieurs rinçages dans du PBST (PBS 0,1%/TritonX-100 0,3%), les coupes sont perméabilisées dans une solution PBS 0,1%/TritonX-100 2% pendant 15 minutes. Les peroxydases endogènes sont inhibées par un bain de 10 minutes dans de l'H₂O₂ 1 % puis 30 minutes à 37°C dans du citrate de sodium (pH 6,8 10 mM). Pour les coupes destinées au marquage BrdU, une étape supplémentaire de dénaturation est réalisée : les coupes sont laissées 2 heures dans de l'acide chlorhydrique (HCl 2 N), puis rapidement placées dans de l'eau déminéralisée (5 minutes). Elles sont ensuite rincées 4 fois dans du PBST avant de commencer l'étape de saturation. La saturation des sites aspécifiques consiste en une

incubation d'une durée d'une heure des coupes dans du PBST/sérum de cheval 5%. Les coupes sont laissées une nuit (environ 16h) sous agitation avec les anticorps primaires respectifs (doublecortin [DCX] ; #sc-8066, Santa Cruz Biotechnology et BrdU ; #ab6326, Abcam). Après 3 rinçages, les coupes sont incubées 1 heure avec l'anticorps secondaire biotinylé approprié (anti-lapin : #sc2004; Santa Cruz Biotechnology et anti-souris : #sc2031; Santa Cruz Biotechnology). Les coupes sont ensuite rincées puis incubées 45 minutes dans le complexe standard avidine-biotine-peroxydase (1:500, Vectastain Elite ABC, vector Laboratories), et la révélation s'effectue avec la diaminobenzidine (DAB 0,05%, 0.04 M Tris, pH 7.5, 0.03% H₂O₂, Peroxidase Substrat Kit DAB, vector laboratories). La révélation est arrêtée par rinçage à l'aide de PBS. Les coupes sont rincées trois fois dans du PBS, puis montées dans du Mowiol (4-88 ; 81381, Sigma-Aldrich), séchées et observées au microscope (Olympus AHB-T3). Pour le comptage des cellules marquées au BrdU et à la DCX, nous nous sommes toujours placés dans la même zone de l'hippocampe dorsal (entre les coordonnées stéréotaxiques bregma -1,82 et bregma -2,18). Le comptage est réalisé sur la couche granulaire du gyrus denté exclusivement (*cf.* Figures Suppl. 1 et 2). Concernant l'évaluation du nombre d'embranchement des neurones DCX+, nous avons systématiquement réalisé les comptages dans le gyrus denté, à des niveaux de coupe similaire chez toutes les souris (*cf.* Figure Suppl.1). Au vu du nombre restreint de neurones marqués par la DCX à l'âge de 8 mois, nous avons réalisé les comptages sur les 4 neurones les plus grands présents dans la zone d'intérêt sur la coupe (*cf.* Figures Suppl.2 ; ces 4 neurones représentaient en réalité la quasi-totalité des neurones entiers dans les coupes qu'il était possible de compter, c'est-à-dire avec un niveau de maturation suffisant). Grâce à l'utilisation du logiciel Image J (supplémenté du plug-in *Neuron J*) nous avons pu caractériser l'arborisation dendritique des neurones DCX+ dans le but d'observer l'impact de l'administration de CSP-TTK21 sur la neurogenèse. Pour ce faire, nous avons mesuré la longueur moyenne de la dendrite la plus longue, la longueur moyenne de l'arborisation dendritique par neurone et la longueur totale de l'arborisation dendritique.

Le comarquage CBP et AT100 a été réalisé par marquage immunofluorescent dans la région CA1 de souris THY-Tau22 de 12 mois (n=4). A la fin de l'incubation avec les anticorps primaires CBP (#sc-369 ; Santa Cruz Biotechnology) et AT100 (#MN1060, Thermo scientific), les coupes sont rincées 3 fois dans du PBST puis incubées pendant 1 heure à l'obscurité en

présence des anticorps secondaires liés à un fluorophore (âne anti souris, Alexa fluor 488 #A21202, Life technologies et âne anti lapin, Alexa fluor 594 #A21207, Life technologies). Les coupes sont ensuite rincées 2 fois dans du PBST, puis un marquage nucléaire au Hoechst est réalisé (1:1000), et enfin un dernier rinçage de 10 minutes (PBS 1X) est effectué. Les coupes sont montées dans du Mowiol, séchées à l'obscurité puis observées au microscope confocal (Laser Scanning system 510; Zeiss, Oberkochen, Germany).

Analyses statistiques

Les résultats sont exprimés en moyenne + SEM et les valeurs $p < 0,05$ sont considérées comme significatives. Lorsque la valeur p est supérieure à 0,05, l'annotation « ns » est ajoutée.

Analyses comportementales

Les données de l'acquisition sont analysées avec une analyse de la variance (ANOVA), à un facteur (« jour ») et à mesures répétées (1 – 5). L'ANOVA est suivie du *post hoc* Newman-Keuls pour les comparaisons multiples afin d'analyser les résultats du test de rétention (quand approprié). La comparaison du temps passé dans le quadrant cible par rapport au niveau du hasard est évalué avec un test t de Student (comparaison à une constante).

Analyses biochimiques et immunohistochimiques

Le test t de Student pour groupes indépendants a été utilisé pour les analyses biochimiques. Une analyse ANOVA suivi du *post hoc* Newman-Keuls a été effectuée pour évaluer les comptages de la prolifération cellulaire (BrdU) et de la maturation neuronale (DCX).

RESULTATS

1. NIVEAU D'ACÉTYLATION DES HISTONES CHEZ LES SOURIS THY-TAU22 DE 12 MOIS

Une des hypothèses actuelle pour expliquer les troubles mnésiques et le développement de la MA repose sur l'existence de dérégulations épigénétiques (Francis et coll., 2009 ; Mastroeni et coll., 2010 ; Kilgore et coll., 2010). Nous nous sommes intéressés au niveau d'acétylation des histones dans l'hippocampe dorsal des souris THY-Tau22 à l'âge de 12 mois

(Figure 1). Nous avons plus particulièrement évalué le niveau d'acétylation des résidus lysines sur les différentes histones dont l'augmentation a été associée à l'expression de gènes impliqués dans la mémoire. Nous n'avons observé aucune différence significative de l'acétylation de ces différents résidus (H2BK5ac : $t(8)=0,16$, *ns* ; H3K9K14ac : $t(8)=0,16$, *ns* ; H3K27ac : $t(8)=0,76$, *ns* ; H4K12ac : $t(8)=1,99$, *ns*) à l'exception de la forme tétra acétylée de H2B qui présente une diminution significative chez les souris transgéniques ($t(8)=5,18$, $p<0,001$).

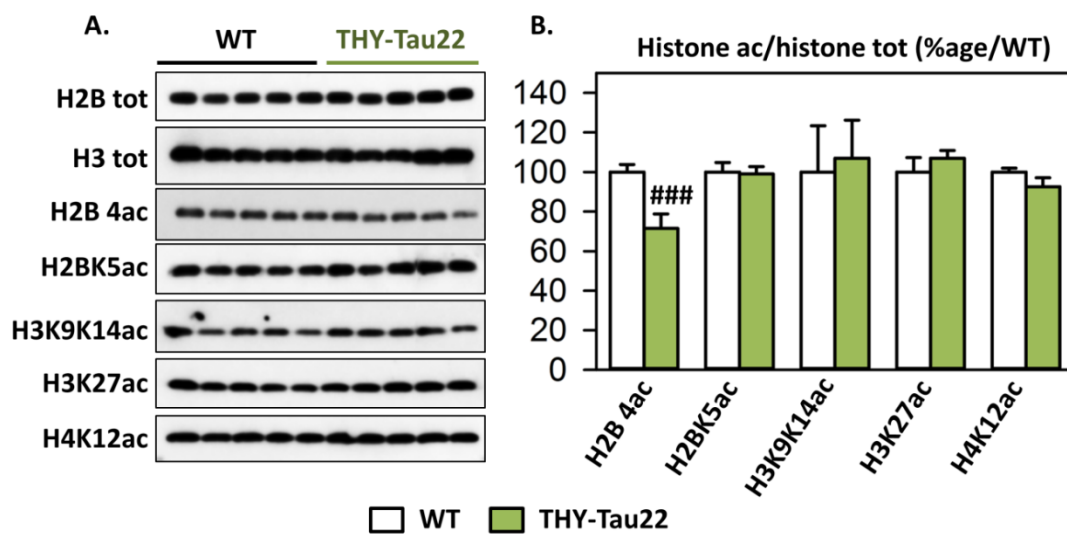


Figure 1 : Evaluation du niveau d'acétylation des histones dans l'hippocampe dorsal de souris THY-Tau 22 et de souris WT à l'âge de 12 mois. A. Western blots réalisés sur des extraits protéiques à partir de l'hippocampe dorsal d'animaux naïfs. B. Pourcentage d'expression de l'acétylation des histones sur les histones totales chez les souris THY-Tau22 par rapport aux souris WT (placées à 100%). Les résultats sont exprimés en moyenne + SEM. Symboles: ### $p < 0,001$, test *t* de Student pour groupes indépendants ($n=5$ souris par groupe).

Ces résultats nous indiquent que les souris THY-Tau22 présentent des dérégulations épigénétiques caractérisées par une diminution de 30 % du niveau d'acétylation de l'histone H2B.

2. NIVEAU D'EXPRESSION DE CBP

L'acétylation de la queue N-terminale des protéines histones H2B est en partie catalysée par CBP dans l'hippocampe (Alarcón et coll., 2004 ; Bousiges et coll., 2010 ; Chatterjee et coll., 2013). Nous nous sommes intéressés au niveau d'expression de la protéine CBP dans

l'hippocampe dorsal de souris THY-Tau22 de 12 mois (Figure 2A). Nous avons observé, par western blot, une diminution significative de la quantité globale de CBP dans l'hippocampe dorsal des souris THY-Tau22 par rapport aux souris WT ($t(8)=2,23$, $p<0,05$). Afin d'analyser si cette diminution pouvait être reliée à la phosphorylation pathologique de la protéine TAU, nous avons réalisé une expérience de comarquage de CBP et de l'AT100 (qui reconnaît les phosphorylations anormales de la protéine TAU sur les résidus thréonine 212 et sérine 214 retrouvées dans les neurones atteints de DNFs, Figure 2B). Nous avons constaté que le niveau de CBP est diminué (voire indétectable) dans 47 % des neurones présentant des DNFs, qu'il est plus bas dans 44 % des neurones atteints de DNFs et que seul 9 % des neurones AT100+ présentent une expression normale de CBP.

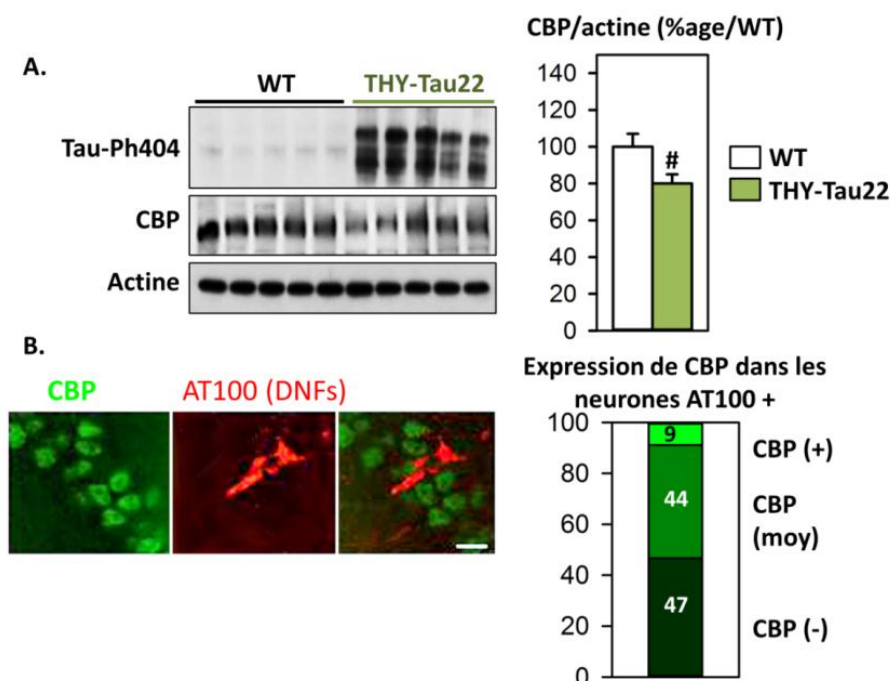


Figure 2 : Niveau d'expression de la protéine CBP par rapport aux souris WT. **A.** Western blots réalisés sur des extraits protéiques de l'hippocampe dorsal de souris de 12 mois THY-Tau22 et WT (placées à 100%). Les résultats sont exprimés en moyenne + SEM. Symboles : # $p<0,05$, test t de Student pour groupes indépendants ($n=5$ souris par groupe). **B.** Niveau d'expression de CBP lorsque le neurone est atteint par des DNFs dans la région CA1 de l'hippocampe [(-) : aucun marquage CBP, (moy) : intensité faible, (+) marquage CBP comparable à celui observé dans des neurones AT100 négatifs] ($n=4$ souris).

Ces analyses nous indiquent que le niveau d'expression de CBP est significativement réduit dans l'hippocampe dorsal de souris THY-Tau22 de 12 mois et que ceci pouvait être la conséquence du développement des DNFs puisque 91% des neurones présentant des DNFs expriment moins, ou pas, la protéine CBP.

3. IMPACT DE CSP-TTK21 SUR LA MEMOIRE SPATIALE DES SOURIS THY-TAU22

Des études antérieures menées au laboratoire montrent que l'apprentissage d'une mémoire spatiale est associé à l'acétylation des histones (H2B notamment) et à une augmentation de CBP (Bousiges et coll., 2010, 2013). Par ailleurs, l'administration de CSP-TTK21, capable d'activer CBP et p300 *in vitro*, permet d'améliorer la persistance d'une mémoire à long terme chez des souris WT de 3 mois (Chatterjee et coll., 2013). Les souris THY-Tau22 présentent des déficits en terme d'acétylation des histones H2B (Figure 1), une diminution de l'expression de CBP (Figure 2) et des déficits des mémoires dépendantes de l'hippocampe (Van der Jeugd et coll., 2013). Nous avons donc décidé d'évaluer l'impact de l'administration de CSP-TTK21 sur le rappel d'une mémoire spatiale ancienne des souris THY-Tau22 de 8 mois (Figure 3), en espérant ainsi rétablir le niveau d'acétylation des histones.

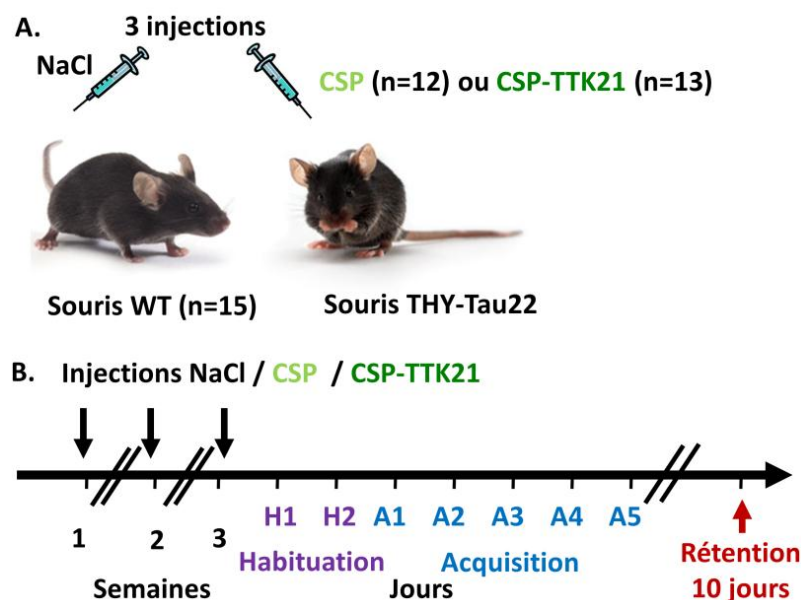


Figure 3 : L'expérience de piscine de Morris. **A.** Nous avons utilisé trois groupes de souris : 15 souris WT injectées avec de la solution saline, 12 souris THY-Tau22 avec la CSP et 13 souris THY-Tau22 avec la CSP-TTK21. **B.** Les souris sont injectées une fois par semaine pendant 3 semaines. Le test de la piscine de Morris commence un jour après la dernière injection.

Nous avons observé que l'ensemble des souris présentent une diminution significative de la latence d'accès à la plate-forme en fonction des jours ($F(4,148)=26,45$, $p=0,000000$). Les souris THY-Tau22 ne présentent ainsi aucune altération de l'acquisition d'une mémoire spatiale (performances des souris THY-Tau22 CSP sont identiques à celles des WT).

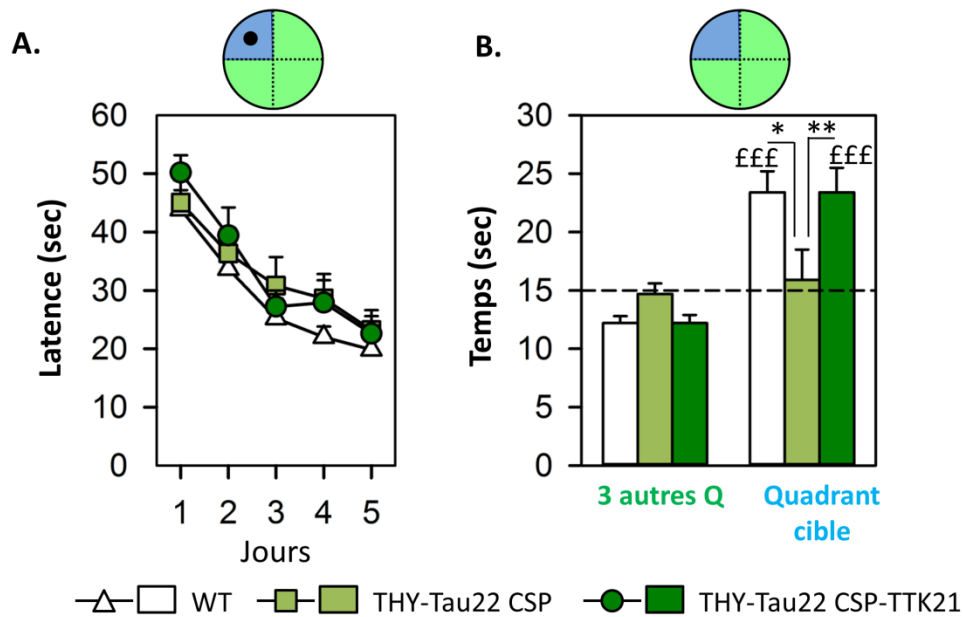


Figure 4 : Impact de l'administration de CSP-TTK21 sur la mémoire spatiale des souris THY-Tau22. **A.** Latence d'accès à la plate-forme (représentée par le rond noir sur le schéma miniature de la piscine de Morris) **B.** Temps moyen passé dans les 3 autres quadrants et dans le quadrant cible (représentés respectivement en vert pomme et en bleu) en fonction du groupe. La ligne pointillée représente le niveau du hasard (15 secondes). Les résultats sont exprimés en moyenne + SEM. Symboles : £££, $p < 0,001$, test t de Student pour la comparaison à une constante, *, $p < 0,05$; **, $p < 0,01$ différence significative évaluée grâce au *post hoc* Newman-Keuls pour comparaisons multiples ($n=15/12/13$ souris par groupe respectivement).

Nous avons montré en 2013 (Chatterjee et coll., 2013) que l'administration de CSP-TTK21 augmente les capacités de rappel d'une mémoire ancienne (16 jours), et n'a pas d'influence sur le rappel d'une mémoire récente (48 heures). Nous avons décidé de réaliser le test de rétention 10 jours après le dernier jour d'acquisition, et non à 16 jours comme nous l'avions réalisé chez les souris WT jeunes adultes, car les souris THY-Tau22 présentent d'ores et déjà une quantité importante de DNFs dans l'hippocampe à 8 mois (Schindowski et coll., 2006). Les souris transgéniques traitées avec CSP-TTK21 présentent des performances similaires à celles des WT (WT vs. CSP-TTK21 : $p=0,98$, *ns*), alors que les souris transgéniques contrôles (CSP) diffèrent significativement de ces deux groupes (CSP vs. CSP-TTK21 : $p < 0,01$ et WT vs. CSP : $p < 0,05$, Figure 4B). Les souris THY-Tau22 du groupe CSP ne présentent pas de biais de recherche pour le quadrant cible puisqu'elles y passent un temps similaire au hasard ($t(9)=0,36$, *ns*). Ce n'est pas le cas des souris THY-Tau22 injectées avec CSP-TTK21 ($t(9)=3,94$, $p < 0,001$) et des souris WT injectées avec du NaCl ($t(15)=4,63$, $p < 0,001$) (Figure 4B).

Ces résultats nous indiquent que les souris THY-Tau22 présentent des troubles du rappel d'une mémoire spatiale ancienne (WT vs. THY-Tau22 CSP) et que l'administration de CSP-TTK21 permet de les rétablir (CSP vs. CSP-TTK21). Les souris transgéniques traitées atteignent ainsi des performances comparables à celles de souris WT (THY-Tau22 CSP-TTK21 vs. WT).

4. EFFET DE CSP-TTK21 SUR LA NEUROGENESE ADULTE DES SOURIS THY-TAU 22

Nous avons montré en 2013 (Publication 1, Chatterjee et coll., 2013) que l'administration de CSP-TTK21 est capable d'augmenter la maturation des neurones nouvellement formés au sein du gyrus denté de l'hippocampe et que cet effet est associé à un enrichissement de l'acétylation des histones H2B au niveau des promoteurs de gènes impliqués dans la maturation neuronale (*NeuroD1*, *Bdnf*). Dans la présente étude, nous nous sommes intéressés à l'impact de l'administration de CSP-TTK21 sur la neurogenèse des souris THY-Tau22 âgées de 8 mois suite à l'administration unique de la molécule (*cf.* Figure 5A) ou chez les animaux ayant participé à l'expérience de la piscine de Morris qui ont donc reçu 3 injections de CSP-TTK21 (*cf.* Figure 5B). Nous n'avons pas observé d'effet de l'injection unique de CSP-TTK21 ni sur le nombre de cellules BrdU positives (CSP vs. WT : $p=0,815$, *ns* ; CSP-TTK vs. WT : $p=0,79$, *ns* ; CSP vs. CSP-TTK21 : $p=0,80$, *ns*) (Figure Suppl. 2) ni sur le nombre de neurones DCX+ (CSP vs. WT : $p=0,46$, *ns* ; CSP-TTK21 vs. WT : $p=0,17$, *ns* ; CSP vs. CSP-TTK21 : $p=0,24$, *ns*) 3 jours après son administration. L'injection de CSP-TTK21 n'a pas permis d'augmenter la complexité de l'arborisation dendritique chez les souris THY-Tau22 (CSP vs. WT : $p=0,17$, *ns* ; CSP-TTK21 vs WT : $p=0,61$, *ns* ; CSP vs. CSP-TTK21 : $p=0,17$, *ns*) (Figure Suppl. 1). Nous n'avons observé aucune différence (résultats non illustrés) de la longueur moyenne de la dendrite la plus longue (CSP : $191,7\pm 33$ μm ; CSP-TTK21 : $151,9\pm 25$ μm et WT : $212,8\pm 37$ μm), de la longueur totale de l'arborisation dendritique (CSP : $322,9\pm 106$ μm ; CSP-TTK21 : $336,3\pm 85$ μm et WT : $471,4\pm 104$ μm) ou de la longueur moyenne de l'arborisation dendritique par neurone (CSP : $149,92\pm 37$ μm ; CSP-TTK21 : 90 ± 24 μm et WT : 132 ± 37 μm).

Nous avons également observé ces différents paramètres suite à trois injections de CSP-TTK21 (*cf.* Figure 5B). En accord avec nos résultats obtenus chez les souris WT de 3 mois, CSP-TTK21 n'a pas augmenté le nombre de neurones DCX+ (CSP vs. WT : $p=0,39$, *ns* ; CSP-

TTK21 vs. WT : $p=0,87$, *ns* ; CSP vs. CSP-TTK21 : $p=0,26$, *ns*). Par contre, nous avons remarqué que les souris THY-Tau22, quel que soit le traitement, présentent un nombre moins important d'embranchements sur les neurones DCX+ que les souris WT (CSP vs. WT : $p<0,01$; CSP-TTK21 vs. WT : $p<0,01$). CSP-TTK21 ne permet pas de rétablir le nombre d'embranchements des neurones DCX+ (CSP vs. CSP-TTK21 : $p=0,17$, *ns*). Nous n'avons observé aucune différence (résultats non illustrés) de la longueur moyenne de la dendrite la plus longue (CSP : $138,7\pm 35$ μm ; CSP-TTK21 : $183,8\pm 17$ μm et WT : $192,9\pm 27$ μm), de la longueur totale de l'arborisation dendritique (CSP : 214 ± 37 μm ; CSP-TTK21 : $383,9\pm 77$ μm et WT : $394,5\pm 120$ μm) ou de la longueur moyenne de l'arborisation dendritique par neurone (CSP : $84,2\pm 28$ μm ; CSP-TTK21 : $91,9\pm 16$ μm et WT : $126,4\pm 30$ μm).

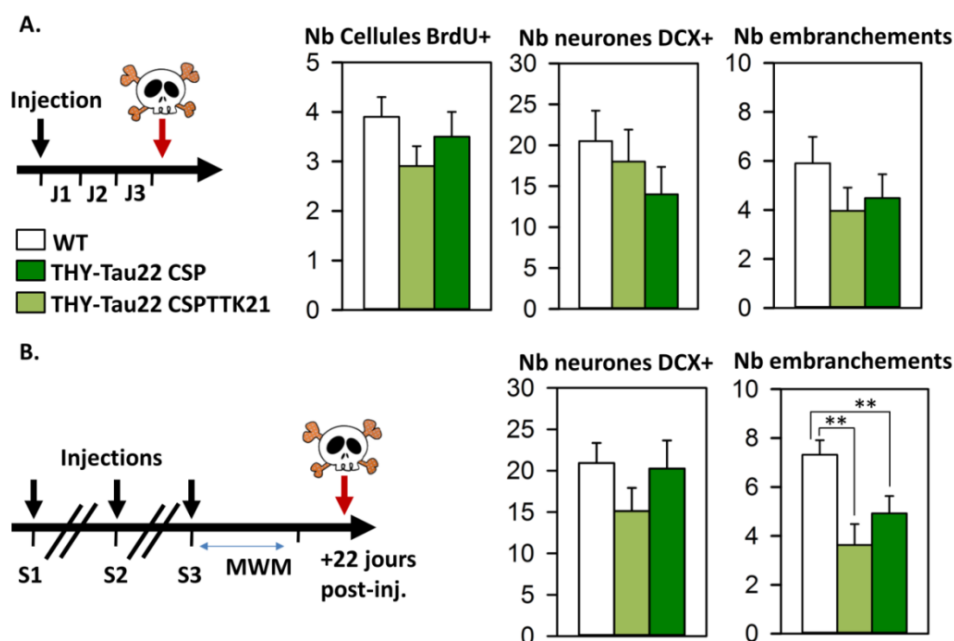


Figure 5 : Impact de l'administration aiguë de CSP-TTK21 sur la neurogenèse adulte des souris THY-Tau22 de 8 mois. A. Impact d'une seule injection sur le nombre de cellules marquées au BrdU et sur le nombre de neurones DCX positifs dans l'hippocampe, ainsi que le nombre moyen d'embranchements par arborisation dendritique (par neurone analysé dans le gyrus denté). **B.** Effet de 3 injections de CSP-TTK21 sur le nombre de neurones DCX positifs dans l'hippocampe et le nombre moyen d'embranchements sur l'arborisation dendritique (par neurone analysé dans le gyrus denté). Les résultats sont exprimés en moyenne + SEM. Symboles : **, $p<0,01$ différence significative évaluée grâce au *post hoc* Newman-Keuls pour comparaisons multiples.

Pour conclure, nous n'avons pas observé d'effet de CSP-TTK21 sur la neurogenèse adulte chez les souris THY-Tau22, que la molécule soit administrée une fois ou trois fois.

5. ADMINISTRATION DE CSP-TTK21 ET ACÉTYLATION DES HISTONES DES THY-TAU22

Puisque c'est la première fois que CSP-TTK21 est utilisée chez les souris THY-Tau22, nous avons évalué l'impact de son administration sur l'acétylation des histones dans l'hippocampe dorsal des souris THY-Tau22 testées en piscine de Morris (*cf.* Figure 6A). Nous avons constaté que l'administration de CSP-TTK21 entraîne une augmentation de l'acétylation des histones (au niveau de différents résidus lysine) dans l'hippocampe dorsal (*cf.* Figure 6B). Cependant, nous n'avons trouvé aucune différence significative (*cf.* Figure 6C) mais seulement des tendances (H2B 4ac: $t(8)=2,09$, $p=0,06$; H2BK5ac: $t(8)=2,13$, $p=0,06$; H3K9K14ac: $t(8)=2,12$, *ns* ; H3K27ac: $t(8)=2,12$, $p=0,06$), probablement en raison du délai entre la dernière injection et la récupération des tissus (22 jours).

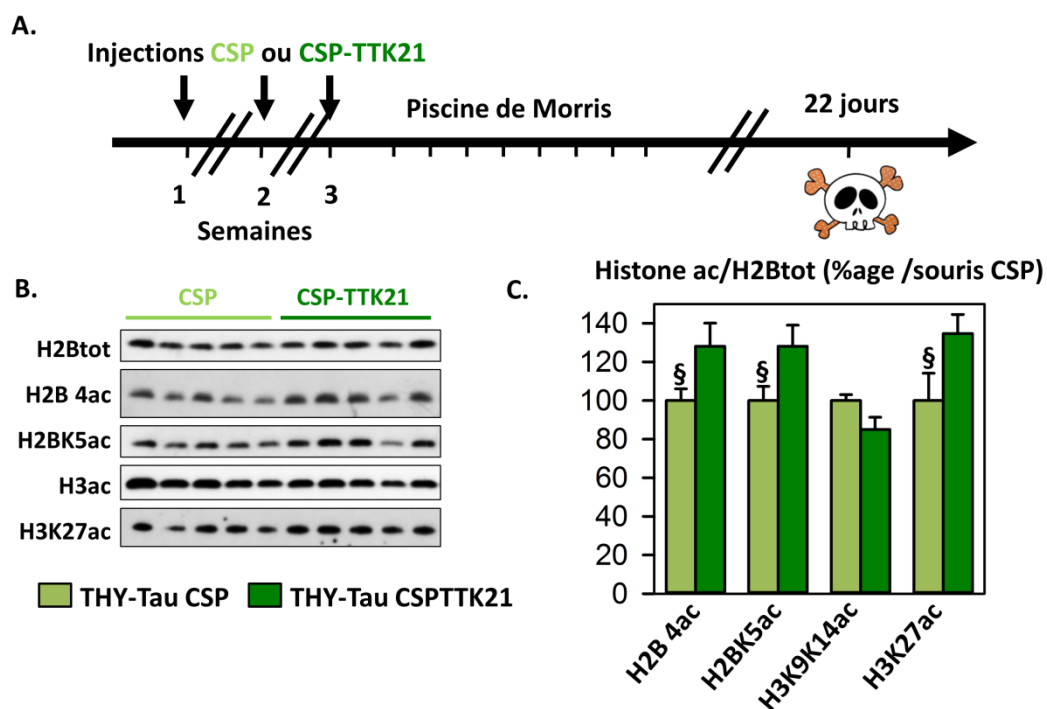


Figure 6 : Effet de trois injections de CSP-TTK21 sur le niveau d'acétylation des histones dans l'hippocampe dorsale des souris THY-Tau22 de 8 mois. **A.** Déroulement temporel de l'expérience. Les tissus sont récupérés 5 jours après le test de rétention. La dernière injection a eu lieu 22 jours avant la récupération des tissus. **B.** Western blots des différents résidus analysés. **C.** Niveau d'acétylation des histones remis sur la quantité d'histone totale. Les résultats sont exprimés en pourcentage d'induction par rapport aux souris THY-Tau22 CSP. Symboles : §, $p \leq 0,06$, test *t* de Student pour groupes indépendants. $n=5$ /groupe.

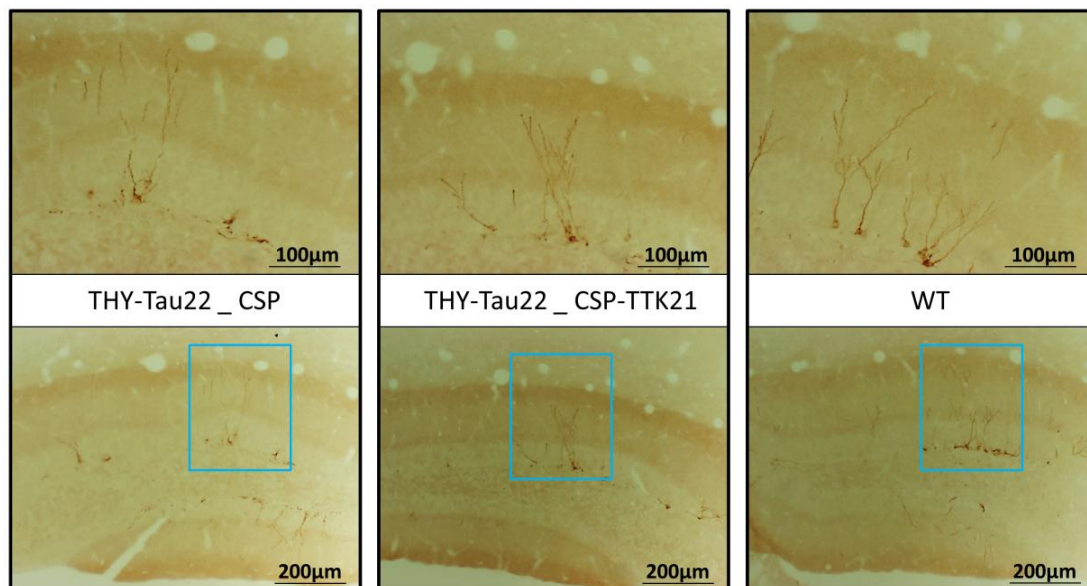


Figure Suppl. 1. Photographies représentatives de l'immunomarquage de la protéine DCX réalisé sur les souris de 8 mois n'ayant reçu qu'une seule injection. Les photographies de la partie supérieure ont été réalisées au grossissement x20 et celles du bas au x10. Sont représentées de gauche à droite, deux photographies à chacun des grossissements, d'une souris THY-Tau22 injectée CSP, d'une souris THY-Tau22 injectée CSP-TTK21 et d'une souris WT injectée NaCl. Les cadres bleus représentent la zone dans laquelle l'évaluation de l'arborisation dendritique des neurones (nombre d'embranchements, longueur moyenne, longueur de la plus longue et longueur totale) a été réalisée. Les comptages ne sont réalisés que lorsque le neurone est entièrement visible.

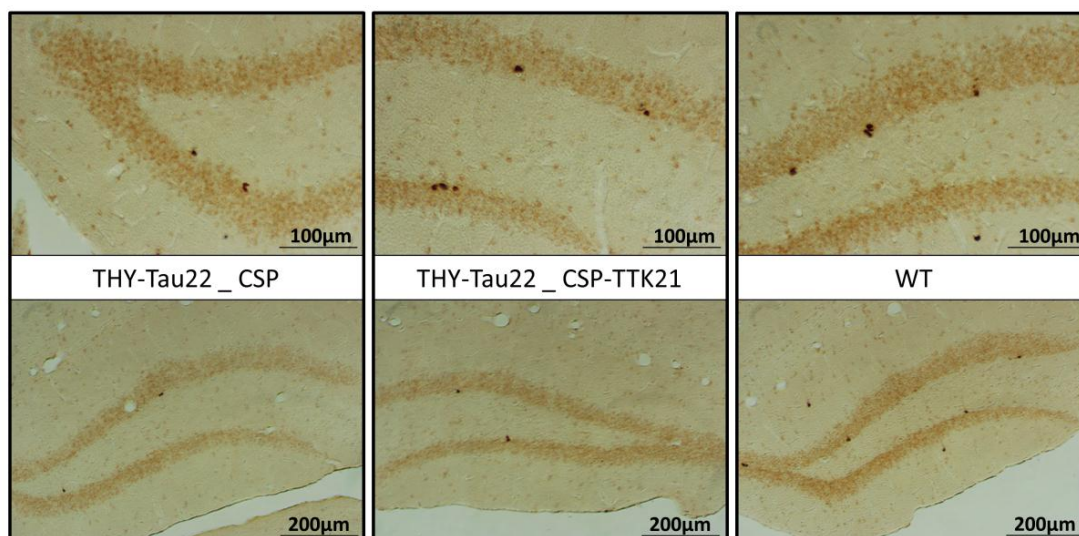


Figure Suppl. 2. Photographies représentatives de l'immunomarquage BrdU permettant de compter le nombre de neurones nouvellement formés dans les 3 heures suivants l'injection de BrdU et exactement 3 jours après l'injection de CSP-TTK21, moment auquel la molécule est la plus concentrée dans le cerveau (Chatterjee et coll., 2013). Les photographies de la ligne du haut ont été réalisées au grossissement x20 et celles du bas au x10.

DISCUSSION

Les résultats de cette étude mettent en évidence que l'administration d'une molécule capable d'activer CBP/p300 *in vitro* et de favoriser la transcription de gènes impliqués dans la mémoire et la plasticité synaptique *in vivo* (Publication 1, Chatterjee et coll., 2013), permet de restaurer les performances de mémoire spatiale dans un modèle murin de la MA.

Les souris THY-Tau22 présentent un déficit du niveau d'acétylation des histones H2B (Figure 1) dans l'hippocampe dorsal probablement en lien avec le déficit du niveau protéique de CBP (Figure 2), déficit d'autant plus marqué dans les neurones atteints par les DNFs. L'administration de CSP-TTK21, la seule molécule capable à ce jour d'activer les HATs CBP et p300 *in vitro* et d'atteindre le cerveau de souris WT de 3 mois suite à une injection systémique (Publication 1, Chatterjee et coll., 2013), permet de restaurer les troubles en mémoire spatiale de référence chez les souris THY-Tau22 de 8 mois (Figures 3 et 4). CSP-TTK21 n'influence pas la maturation des neurones nouvellement formés chez les souris transgéniques (Figures 5 et Suppl.1 et 2).

1. DEREGULATIONS EPIGENETIQUES CHEZ LES SOURIS THY-TAU22

Nous avons montré que les souris THY-Tau22 présentent une diminution significative du niveau d'acétylation des histones H2B (tétra acétylation, Figure 1), acétylations importantes dans les processus de mémorisation (Bousiges et coll., 2010, 2013). Cette diminution pourrait s'expliquer par la diminution de 30% de l'expression globale de CBP dans l'hippocampe dorsal (Figure 2). En effet, une mesure des différentes formes d'histones acétylés (H3, H4, H2A et H2B) réalisée dans l'hippocampe de souris ne présentant qu'un allèle de *Cbp* (*Cbp*^{+/-}) révèle que seule l'acétylation de H2B est diminuée, indiquant que H2B est une cible privilégiée (par rapport aux autres histones) de CBP dans l'hippocampe (Alarcón et coll., 2004). Chez des souris présentant une sous régulation de CBP (de façon conditionnelle, *CBP*^{CKO}), la baisse d'acétylation s'étend à H2A et touche également, mais en moindre mesure, H3 et H4 (Valor et coll., 2011). C'est donc probablement parce que le niveau protéique de CBP est diminué que la tétra acétylation de H2B l'est également chez les souris THY-Tau22. On aurait pu s'attendre à observer une diminution de H3K27ac et de H2BK5ac, également acétylées par CBP (Tie et coll., 2009 ; Jin et coll., 2011). Il est possible que d'autres HATs soient intervenues pour assurer l'acétylation de ces deux résidus. La

diminution de CBP est d'autant plus importante que les neurones présentent des DNFs. En effet, 47% des neurones présentant des DNFs n'expriment plus (ou peu) CBP. Cette diminution de CBP va influencer l'acétylation de « ses » résidus histones-cibles, mais également les régulations épigénétiques et génétiques associées. Il est intéressant de noter que Liu et collègues (2012) ont découvert la présence en quantité anormalement élevée d'une protéine capable d'inhiber p300 et de CBP, la EID1 (*EP300 interacting inhibitor of differentiation*), dans le cerveau de patients atteints de la MA. Ces auteurs postulent qu'EID1 jouerait un rôle dans la pathogenèse de la MA en provoquant une perte d'activité de CBP/p300. Nos résultats montrant que la présence de DNFs est associée à une perte de CBP suggèrent un nouveau mécanisme par lequel l'activité de ces HATs se trouve diminuée dans un modèle murin de MA.

2. RESTAURATION DES PERFORMANCES EN MEMOIRE SPATIALE CHEZ LES SOURIS THY-TAU22

Les études antérieures menées au laboratoire indiquent que l'apprentissage d'une mémoire spatiale est associé à l'acétylation des histones (H2B notamment) et une augmentation de CBP (Bousiges et coll., 2010, 2013). Au vu de la diminution des niveaux de CBP et de l'acétylation de H2B dans l'hippocampe dorsal des souris THY-Tau22, l'injection de CSP-TTK21 pourrait permettre de restaurer les fonctions mnésiques de ces souris. Dans la Publication 1 (Chatterjee et coll., 2013), nous avons montré que l'administration de CSP-TTK21 permet d'augmenter la persistance d'une mémoire à long terme chez des souris jeunes adultes (3 mois). Contrairement à ce que nous avons fait pour les souris WT jeunes adultes dans la publication 1 (Chatterjee et coll., 2013), nous avons décidé d'évaluer les capacités de rétention des souris THY-Tau22 de 8 mois à un délai de 10 jours, en raison de la quantité déjà importante de DNFs mesurée dans l'hippocampe des souris THY-Tau22 à 8 mois (Schindowski et coll., 2006). Nous n'avons pas observé d'effet de CSP-TTK21 (trois injections, 1 par semaine) sur les performances d'acquisition des souris transgéniques, qui ne montrent d'ailleurs pas de déficiences à 8 mois comparées aux souris WT (Figure 5A). Par contre, CSP-TTK21 a permis de rétablir les capacités de rappel d'une mémoire ancienne des souris transgéniques THY-Tau22 (CSP vs. CSP-TTK21) qui atteignent alors des performances comparables à celles de souris WT (THY-Tau22 CSP-TTK21 vs. WT). Il est possible que CSP-TTK21 ait augmenté la transcription de gènes impliqués dans la mémoire, comme chez les souris WT de 3 mois (Publication 1, Chatterjee et coll., 2013), augmentation qui fait défaut

chez les souris contrôle en raison de la baisse de CBP et de l'acétylation de H2B. De façon intéressante, l'instillation intra-hippocampique de virus permettant la surexpression de CBP dans un modèle murin de la MA (3Xtg-AD) rétablit l'acquisition et le rappel (évaluée à 24 heures) dans le test de la piscine de Morris (Caccamo et coll. en 2010). Nous n'avons pas testé l'impact de la molécule sur la mémoire récente mais ceci fait partie de nos perspectives.

3. CSP-TTK21 ET LA NEUROGENESE ADULTE CHEZ LES SOURIS THY-TAU22

CSP-TTK21 n'a pas d'influence sur la neurogenèse des souris THY-Tau22, contrairement à ce que nous avons observé chez les souris WT de 3 mois. Cette différence peut notamment s'expliquer par l'âge des souris. Si à 3 mois la zone sous granulaire de l'hippocampe est une zone de neurogenèse très active, une diminution drastique de ce processus semble s'opérer dès 8 mois ce que nous pouvons suggérer au vu du nombre de neurones DCX+ comptés à 3 mois (Publication 1, Chatterjee et coll., 2013) par rapport à celui compté à 8 mois (environ 70 vs. 20 neurones DCX+ en moyenne par hippocampe) chez les souris WT. Nous avons compté le nombre de neurones DCX+ chez des souris THY-tau22 de 3 mois et de 8 mois, et comme chez les souris WT, nous avons observé une diminution drastique du nombre de neurones DCX+ (60 vs. 15 en moyenne par hippocampe). Le même constat est applicable aux cellules BrdU+ (THY-Tau22 : 8 vs. 3 et WT : 11 vs. 4 par hippocampe respectivement à 3 mois vs. 8 mois). La différence significative en termes de nombre d'embranchement des neurones DCX+, constatée chez les souris WT (injectées avec de la solution saline) par rapport aux deux groupes de souris THY-Tau22 (quel que soit le traitement Figure 5 B) pourrait être la conséquence du passage en piscine de Morris. Lors d'un apprentissage spatial, les nouveaux neurones sont intégrés dans les réseaux neuronaux préexistants, et plus ils sont stimulés, plus ils auront une chance de survivre et d'apporter une contribution fonctionnelle au réseau (Trouche et coll., 2009). On peut imaginer que la stimulation des nouveaux neurones, liée à l'apprentissage en piscine de Morris, a permis d'augmenter leur maturation chez les souris WT, tandis que ce mécanisme ne serait pas efficace chez les souris THY-Tau22.

Par ailleurs, la diminution de la neurogenèse en fonction de l'âge que nous avons observé chez les souris THY-Tau22 n'est pas en accord avec ce que Schindowski et collaborateurs ont publié en 2008. En effet, ces auteurs ont trouvé que les souris THY-Tau22

présentent une augmentation de la neurogenèse, à savoir une augmentation du nombre de neurones DCX+ et BrdU+ entre l'âge de 3 mois et celui de 6 mois, et indiquent que certains marqueurs de la neurogenèse, comme TUC4, sont toujours élevés à 12 mois. Cependant, bien que dans leur étude, le nombre de nouveaux neurones formés (BrdU+) augmente dans l'hippocampe entre 3 et 12 mois, ceux-ci n'arrivent pas à maturation (expression de NeuroD altérée), et meurent par apoptose (augmentation des caspases 3). Les auteurs proposent que cette augmentation de la neurogenèse soit un mécanisme compensatoire consécutif à la mort neuronale inhérente au développement des DNFs. Ils ont ainsi mesuré une diminution significative du poids du cerveau chez des souris THY-Tau22 de 13 mois ($p=0,014$). Nous n'avons pas observé une telle diminution du poids du cerveau chez des souris du même âge ($p=0,17$).

D'après notre étude antérieure (Chatterjee et coll., 2013), nous avons envisagé au moins deux hypothèses pour expliquer l'effet pro-mnésique de CSP-TTK21 : 1) que cet effet soit lié à une augmentation de la maturation des nouveaux neurones formés et de leur recrutement préférentiel dans les processus de consolidations mnésiques 2) que CSP-TTK21 induise la transcription de gènes impliqués dans les processus de mémorisation et de plasticité synaptique suite à l'augmentation de l'acétylation des histones. Nous n'avons observé aucun effet de la molécule sur la neurogenèse adulte chez les souris THY-Tau22 mais nous avons observé une augmentation de l'acétylation des histones dans l'hippocampe dorsal. Ces résultats indiquent que l'effet pro-mnésique de CSP-TTK21 serait plutôt lié à l'augmentation de l'acétylation des histones dans diverses régions du cerveau (dont l'hippocampe), invalidant de ce fait la première hypothèse, tout du moins chez les souris THY-Tau22. Ainsi, puisque le niveau d'acétylation de H2B, dont l'augmentation est associée à l'apprentissage d'une mémoire spatiale (Bousiges et coll., 2010, 2013), est anormalement bas chez les souris THY-Tau22 et que l'administration de CSP-TTK21 permet d'augmenter l'acétylation de H2B, nous pouvons suggérer que CSP-TTK21 a permis de rétablir le niveau d'acétylation au niveau des histones, ce qui a eu comme conséquence de restaurer les performances mnésiques des souris THY-Tau22. A l'heure actuelle, nous n'avons pas évalué l'impact de l'administration de CSP-TTK21 sur l'acétylation des histones dans le cortex frontal des souris THY-Tau22, mais nous savons que CSP-TTK21 induit l'acétylation de H2B et de H3 dans cette structure chez les animaux WT (Publication 1, Chatterjee et coll., 2013). Nous avons pu favoriser le « tagging »

des neurones du cortex frontal grâce à l'injection de CSP-TTK21, et favorisait de ce fait les processus de consolidation systémique nécessaires à la mise en place d'une mémoire ancienne (*cf.* discussion publication 1, 2. Activation de CBP/p300 et mémoire).

Pour conclure, nous avons mis en évidence que les souris THY-tau22, lignée de souris transgéniques modélisant le développement des DNFs observées dans la MA, présentent des dérégulations épigénétiques (diminution de CBP et du niveau de l'acétylation de l'histone H2B dans l'hippocampe dorsal) et des déficits de rappel d'une mémoire ancienne. Grâce à l'administration de CSP-TTK21, la seule molécule actuellement disponible capable d'activer CBP et p300 *in vitro* et d'augmenter la transcription de gènes impliqués dans la mémoire *in vivo*, nous avons rétabli les performances mnésiques des souris THY-tau22. Ces résultats suggèrent l'importance des régulations épigénétiques – et notamment de l'acétylation des histones – dans le développement de la MA.

PERSPECTIVES

D'autres expériences sont en cours ou planifiées pour les mois à venir. Tout d'abord, nous aimerions mesurer si l'activation des HATs avec la molécule CSP-TTK21 peut directement influencer les processus fonctionnels impliqués dans la mise en place d'une MLT, tels que la potentialisation à long terme (PLT) ou la formation d'épines dendritiques, chez les souris THY-Tau22. Les souris THY-Tau22 ne présentent pas de troubles de la PLT mais les neurones de la région CA1 de l'hippocampe présentent cependant une excitabilité amoindrie par rapport aux souris WT (Schindowski et coll., 2006). Par contre, les souris THY-Tau22 présentent une dépression à long terme (DLT) anormalement courte (Van der Jeugd et coll., 2011). Nous sommes en train de réaliser des enregistrements électrophysiologiques visant à analyser l'impact de CSP-TTK21 (3 injections à la suite comme dans cette étude) sur la PLT et la DLT de souris THY-Tau22 de 8 mois, ainsi que sur les souris WT de même fratrie.

Il apparaît primordial d'analyser l'impact d'une injection aiguë (unique) de CSP ou CSP-TTK21 à des souris WT et THY-Tau22 de 8 mois (4 groupes : WT CSP, WT CSP-TTK21, THY-Tau22 CSP, et THY-Tau22 CSP-TTK21) au niveau transcriptomique par séquençage haut-débit des ARNm (séquençage de l'ARN à l'échelle du génome). Ces analyses sont couplées à une cartographie de la chromatine associée à la marque épigénétique H2Bac, à l'échelle du

génomique et à haute résolution, grâce à la technique d'immunoprécipitation de la chromatine et à un séquençage haut débit (ChIP-sequencing), chez les souris WT et THY-Tau22 traitées avec CSP ou CSP-TTK21 (8 mois). Nous espérons mettre en évidence une signature épigénétique de la pathologie à l'origine des dysfonctionnements génétiques qui seront obtenus par l'analyse de séquençage de l'ARN. Nous évaluerons si cette signature peut être modifiée par l'activation de CBP/p300 à la suite de l'administration de CSP-TTK21.

Enfin, il a été montré que l'administration d'iHDACs a des effets neuroprotecteurs dans un grand nombre de pathologies du système nerveux central comme la maladie d'Huntington (Gardian et coll., 2005), la maladie de Parkinson (Harrison et Dexter, 2013) ou encore la sclérose latérale amyotrophique (Ryu et coll., 2005), mais aussi dans la MA (Xu et coll., 2011 ; Fischer et coll., 2014 et [publication 2]). Etant donné l'effet bénéfique de CSP-TTK21 sur les performances mnésiques des souris THY-Tau22, effet qui pourrait être lié à l'activation de CBP, et l'implication de CBP dans la régulation de la transcription de gènes, nous aimerions évaluer l'impact de l'administration chronique de CSP-TTK21 chez les souris THY-Tau22. Des injections sont actuellement réalisées toutes les deux semaines : la clairance de CSP-TTK21 au niveau du cerveau est supérieure à 7 jours après une injection systémique, (publication 1). Les souris THY-Tau22 sont injectées depuis l'âge de 3 mois et sur une période de 5 mois. Différents critères seront évalués lorsque les souris auront 8 mois : les performances en mémoire spatiale (test de rétention à 10 jours comme dans cette étude), la neuroinflammation, la présence de DNFs et le niveau de phosphorylation de la protéine Tau dans l'hippocampe dorsal et le cortex préfrontal.

La MA n'est pas la seule maladie neurodégénérative dans laquelle des perturbations épigénétiques ont été détectées. Il serait intéressant de tester l'efficacité de CSP-TTK21 dans des modèles murins de maladies neurodégénératives associées à des dérégulations épigénétiques (notamment la maladie de Huntington, la maladie de Parkinson et la sclérose latérale amyotrophique). L'ensemble de ces études devrait nous permettre de déterminer si l'activation des HATs CBP/p300 est une bonne stratégie thérapeutique.

PARTIE 3 :
DISCUSSION GENERALE ET
PERSPECTIVES

DISCUSSION GENERALE

La dernière partie de mon manuscrit de thèse se compose d'une discussion générale en 3 points, et des perspectives qui s'en dégagent. Dans la mesure où nous avons utilisé un modèle transgénique murin, il me paraissait pertinent de discuter de sa validité au regard des trois critères de validité que sont l'isomorphie, la construction et la prédictibilité. La seconde partie aura pour objet les limites que présentent les deux composés pharmacologiques que nous avons utilisés. J'aborderai ensuite dans une troisième partie les principaux résultats obtenus au regard des données disponibles dans la littérature, en discutant tout particulièrement l'intérêt d'employer l'une ou l'autre des stratégies thérapeutiques que nous avons mises en œuvre (inhiber les HDACs ou activer les HATs). Je terminerai sur les perspectives de recherches qu'ouvre ce projet de thèse.

1. VALIDITE DU MODELE DES SOURIS THY-TAU22

La majeure partie des expériences présentées dans cette thèse a été réalisée sur les souris transgéniques THY-Tau22, décrites comme un modèle murin des tauopathies. Les tauopathies sont des neuropathologies caractérisées par le développement progressif d'agrégats intracérébraux de la protéine TAU. Il en existe plus d'une vingtaine, dont la MA et les démences frontotemporales avec syndrome parkinsonien liée au chromosome 17 (FTDP-17) font parties. Le modèle de souris THY-Tau22, qui se caractérise par l'expression de la protéine TAU humaine mutée, est utilisé pour modéliser les troubles cognitifs et le développement progressif des DNFs qui interviennent dans la MA, mais également comme modèle des démences frontotemporales avec syndrome parkinsonien liées au chromosome 17, en raison des DNFs et des mutations qui caractérisent les souris ThyTau22 (G272V et P301S) et qui sont retrouvées chez certains patients FTDP-17. Dans les quelques pages qui suivent, je vais discuter des différents critères de validité d'un modèle animal au regard de ces deux pathologies. La pertinence du modèle THY-Tau22 comme modèle murin de la MA ou des DFTs sera discutée à la fin de cette partie.

Mais tout d'abord, à quoi servent les modèles ? Ils permettent de tester différentes hypothèses portant sur divers aspects de la maladie. L'idée est d'isoler un aspect de la maladie et de le reproduire dans le modèle utilisé afin de mieux connaître les mécanismes

aboutissants à l'apparition de la maladie étudiée et donc de mieux la comprendre. Le second but est d'évaluer le potentiel thérapeutique de molécules pharmacologiques avant de les tester chez l'Homme (Wilk et Grune-Wolff, 1990 ; Langley, 2009).

La validité d'un modèle s'évalue à trois niveaux (Varga et coll., 2010) : la validité d'isomorphie (similitude des symptômes), la validité de construction (même étiologie) et la validité de prédiction (effet similaires des traitements).

La validité d'isomorphie

Le premier niveau est la **validité d'isomorphie** (*face validity*) : les symptômes observés dans le modèle animal doivent être les mêmes que ceux observés dans la maladie modélisée (Varga et coll., 2010). Pour évaluer ces symptômes, l'idéal est de réaliser des tests comportementaux semblables à ceux réalisés chez l'Homme. Dès lors, se pose la question de l'évaluation des troubles mnésiques chez l'animal : celui-ci ne pouvant s'exprimer par la parole, cette évaluation se fait sur la base des réponses comportementales de l'animal. Dans notre cas, nous évaluons la mémoire spatiale car elle modélise la mémoire épisodique chez l'Homme, dans le sens où elle repose sur les mêmes substrats neuroanatomiques et qu'elle forme le contexte spatial dans lequel s'inscrivent les souvenirs épisodiques.

Sur le plan neuropsychologique, la MA est caractérisée par l'apparition précoce de troubles de la mémoire épisodique (Storey et coll., 2002) accompagnés d'une désorientation spatio-temporelle (Pai et Jacobs, 2004 ; Delpolyi et coll., 2007). Un isolement social et une anhédonie (incapacité à éprouver du plaisir) sont également retrouvés chez 50% des patients atteints de la MA (Mizukami, 2013 ; Spalletta et coll., 2014). Les souris Thy-Tau22 présentent des troubles en mémoire spatiale (Articles 2 et 3), des comportements de type dépressif ainsi qu'un déficit dans un paradigme d'interactions sociales (Van der Jeugd et coll., 2013). Par ailleurs, les performances des souris THY-Tau22 dans diverses tâches (e. g. labyrinthe radial à 8 bras, transmission sociale de préférence alimentaire), dont la réussite dépend de l'intégrité de l'hippocampe, sont altérées (Van der Jeugd et coll., 2013). D'un point de vue anatomique, la MA est caractérisée par trois marqueurs principaux : les plaques séniles, les DNFs et l'atrophie corticale. Le modèle de souris THY-Tau22 exprime principalement un de ces marqueurs physiopathologiques : les DNFs, qui se développent progressivement avec l'âge comme ce qui est observé dans la MA. Cependant, la progression

des DNFs ne suit pas la même distribution spatiale chez les souris THY-Tau22 que chez les patients MA. Tandis que l'atteinte commence dans le cortex entorhinal avant de s'étendre à la région CA1 et au gyrus denté (GD) puis au reste du cortex (frontal notamment) chez les patients Alzheimer, les souris THY-Tau22 présentent une atteinte initiale dans la région CA1 de l'hippocampe. Nous avons pu observer que le GD n'est atteint qu'à un stade avancé chez ces souris (observation de DNFs éparses au sein du GD chez des souris de 12 mois). Concernant les deux autres marqueurs physiopathologiques, les souris THY-Tau22 ne présentent pas de plaques séniles et les données concernant l'atrophie corticale divergent : Schindowski et ses collaborateurs (2006) ont mesuré une diminution significative ($p=0,014$) du poids du cerveau chez des souris THY-Tau22 de 13 mois, mais nous n'avons pas retrouvé cette diminution chez des souris du même âge ($p=0,17$), en accord avec les résultats de Van der Jeugd et collaborateurs (2011) portant sur la même lignée THY-Tau22 et ne faisant pas état d'une atrophie corticale chez ces souris. D'autres perturbations, comme l'altération du système de neurotransmission cholinergique, les troubles du transport axonal ou la réaction gliale importante que l'on observe chez les patients Alzheimer sont retrouvées chez les souris THY-Tau22 (Schindowski et coll., 2006 ; Belarbi et coll., 2009 et Belarbi et coll., 2011).

Concernant les déficits en mémoire spatiale de référence chez les souris THY-Tau22, toutes les publications les mettent en évidence (e. g. Schindowski et coll., 2006 ; Van der Jeugd et coll., 2011 ; Laurent et coll., 2014), mais le délai auquel les troubles apparaissent passe du simple (Schindowski et coll., 2006) au double (Van der Jeugd et coll., 2011). Schindowski et ses collaborateurs (2006) ont ainsi montré que les souris THY-Tau22 présentent des troubles d'acquisition et de rappel d'une mémoire spatiale dès 3 mois, et qu'à l'âge de 9 mois, elles passent moins de temps dans le quadrant cible que les souris WT. Nous n'avons pas observé de déficits d'acquisition même chez des souris THY-Tau22 de 14 mois. Dans nos conditions expérimentales, les souris THY-Tau22 de 8 mois ne sont déficitaires que lorsque nous réalisons le test de rétention à un délai long (10 jours). Ces résultats divergents peuvent s'expliquer par le dispositif expérimental utilisé. Dans les conditions de Schindowski et collaborateurs (2006), le temps passé dans le quadrant cible par les souris WT est très faible au cours du test de rétention à 5 jours (environ 20 secondes sur 60). L'analyse statistique concernant le temps passé dans le quadrant cible par rapport au hasard n'est pas indiquée. Pourtant, cette comparaison permet la mise en évidence d'une

préférence de place pour le quadrant cible, signe d'une rétention et d'un rappel de l'information spatiale. Il se pourrait que les conditions expérimentales utilisées dans l'étude Schindowski et collaborateurs (2006), ne permettent pas aux souris, même WT, de se forger une carte spatiale robuste de l'environnement, et d'exprimer une préférence de place nette pour le quadrant cible au cours du test de rappel. Il est possible que ce résultat soit lié au dispositif utilisé : la piscine est d'un diamètre inférieur (90 cm) à celle que nous utilisons (150 cm), et les indices spatiaux sont disposés plus près (à environ 50 cm de l'animal, directement sur des rideaux autour de la piscine). Ces conditions favorisent l'utilisation d'une approche « orientée vers l'objet » de la tâche (stratégie de guidance), et non la mémoire spatiale allocentrique. A l'opposé, nos conditions (piscine de grande taille et indices spatiaux distaux) favorisent la mise en place d'une mémoire spatiale allocentrique basée sur une carte spatiale de l'environnement. Ceci est notamment favorisé par l'utilisation d'une piscine d'un grand diamètre ; Morris RG, l'inventeur de ce test, étudie actuellement la mémoire spatiale chez le Rat et chez la Souris à l'aide d'une piscine de 2 m de diamètre (Morris et coll., 2012). Les résultats de l'étude de Schindowski et collaborateurs (2006) ne peuvent donc pas être strictement comparés aux nôtres (publications 2 et 3). Van der Jeugd et collaborateurs en 2011 ont montré que les souris THY-Tau22 de 9 mois présentent un retard massif au cours de la phase d'acquisition, ce qui se traduit par une diminution des performances lors du test de rétention. Les auteurs ont utilisé une piscine de 150 cm de diamètre, similaire à la nôtre. Cependant, l'eau normalement fraîche (22°C) afin d'induire une situation aversive dont l'animal tente de s'échapper, était maintenue à 26°C dans cette expérience. Les souris THY-Tau22 présentent un niveau d'anxiété moindre que les souris WT, et sont sensibles aux aspects motivationnels (Van der Jeugd et coll., 2013). On peut donc faire l'hypothèse que ces souris n'étaient pas aussi motivées à réaliser la tâche que dans nos conditions expérimentales (publications 2 et 3). Ceci expliquerait également que les souris THY-Tau22 expriment significativement plus de comportements thigmotaxiques que les souris WT dans leur expérience, ce qui n'est pas le cas dans nos conditions expérimentales (données non publiées).

Ainsi, les marqueurs physiopathologiques et les troubles mnésiques observés chez les patients Alzheimer sont donc en partie retrouvés dans le modèle de souris THY-Tau22, ce qui

confère, dans l'ensemble, une bonne validité d'isomorphie à ce modèle murin vis-à-vis de la MA.

La démence fronto-temporale (DFT) est une maladie neurodégénérative caractérisée par des troubles du comportement, du langage, et une détérioration intellectuelle marquée. Elle survient généralement entre 50 et 60 ans (Roberson, 2006 et 2012). On distingue globalement 3 tableaux cliniques différents : la démence fronto-temporale (75 % des patients, atteinte bilatérale et symétrique des lobes frontaux et temporaux), l'aphasie primaire progressive (atteinte du lobe temporal gauche) et la démence sémantique (atteinte bilatérale des lobes temporaux antérieurs et externes). Je ne développerai que la première de ces trois formes car c'est celle qui touche le plus de patients. D'un point de vue histologique, on retrouve une atrophie sélective du cortex fronto-temporal, une perte neuronale et une gliose réactionnelle importantes ainsi qu'une spongiose des couches corticales supérieures des cortex frontaux et temporaux (Pelicano Paulos et Massano, 2013). Il existe plusieurs formes de DFTs en fonction du composant physiopathologique principal (nature des protéines agrégées): la protéine TAU (FTD-tau ou FTDP-17), la protéine TDP-43 (FTD-TDP) ou la protéine Fus (FTD-Fus). Grâce à l'étude de patients de quatre familles présentant une mutation sur le chromosome 17 au niveau du gène codant pour la protéine TAU (17q21), le lien entre les lésions neurofibrillaires et l'accumulation anormale de la protéine TAU a été établi (Hooten et Lyketsos, 1996). Les souris THY-Tau22 expriment la protéine TAU humaine mutée sur des résidus comme ceux observés chez les patients atteints de FTDP-17 (G272V et P301S), par conséquent, je n'évaluerai la validité du modèle des souris THY-Tau22 qu'en comparaison de la forme génétique FTDP-17. Les souris THY-Tau22 ne présentent pas d'atrophie corticale marquée mais des dépôts neurofibrillaires sont retrouvés dans le cortex frontal et dans l'hippocampe. Contrairement aux patients atteints de FTDP-17, les souris THY-Tau22 ne présentent pas d'atteinte étendue du lobe temporal mais une atteinte plus restreinte à l'hippocampe (région CA1). D'un point de vue neuropsychologique, la FTDP-17 est caractérisée chez l'Homme par des troubles du comportement (désinhibition comportementale, comportements agressifs, hypocondrie), et par des troubles du langage (chez certains patients dès le début de la maladie pouvant aller jusqu'au mutisme dans le stade ultime). Dans certains cas, il y a aussi des troubles des mouvements (rigidité des mouvements et troubles de la marche) qui surviennent à un stade

avancé de la maladie (Pelicano Paulos et Massano, 2013). Dans 16% des cas, des troubles mnésiques sont observés dans les stades avancés. Les dysfonctionnements mnésiques observés chez les patients sont liés à des troubles du rappel de l'information et non de son encodage ou de sa consolidation puisque l'indiçage permet d'améliorer les performances de rappel (Harciarek et Cosentino, 2013). Les souris THY-Tau22 ne présentent aucun trouble moteur, et d'après nos observations, aucune agressivité particulière. Pour ce qui est de la désinhibition comportementale, ce trait n'est pas facile à évaluer chez le rongeur. Ceci dit, dans le test du labyrinthe en croix surélevé, on peut considérer que les visites des bras ouverts peuvent être rattachées à une désinhibition comportementale, les souris ne présentant pas l'inhibition normalement observée lors de l'exploration d'un environnement nouveau (situation anxiogène). Brièvement, les souris sont placées pendant 10 minutes dans une enceinte en forme de croix (4 bras et un espace central) surélevée à 1 mètre d'un sol. Deux bras sont ouverts et donc éclairés tandis que les deux autres sont entourés de parois et sont donc moins lumineux. Dans ce test, les souris THY-Tau22 visitent plus souvent les bras ouverts que les souris WT, indiquant qu'elles sont moins anxieuses (Schindowski et coll., 2006). Lors d'un apprentissage spatial, les souris THY-Tau22 ne présentent pas de troubles de l'encodage (amélioration des performances mnésiques au cours des jours dans nos conditions expérimentales) mais plutôt de consolidation. Ceci est en désaccord avec ce que l'on observe chez les patients FTDP-17. Les souris THY-tau22 présentent une désorientation spatiale, trait pathologique qui n'est jamais observé chez les patients FTDP-17 (Harciarek et Cosentino, 2013).

Au regard de ces différents critères, les souris THY-Tau22 présentent une meilleure validité d'isomorphie pour la MA que pour les FTDP-17, notamment en raison des troubles mnésiques systématiquement observés chez les patients Alzheimer alors qu'ils sont minoritaires dans le cas de FTDP-17.

La validité de construction

Le deuxième critère d'évaluation d'un modèle animal concerne la **validité de construction** (*construct validity*), ou homologie du modèle. L'étiologie, c'est-à-dire l'origine de la pathologie doit être la même (Henderson et coll., 2013). Au sens large du terme, cela signifie qu'il est possible d'appliquer une mutation génétique différente de celle observée

chez l'Homme dans le but d'induire les mêmes conséquences, les mêmes traits physiopathologiques que ceux observés chez l'Homme (Wall et Shani, 2008).

Dans le cadre de la MA, seuls les modèles portant des mutations génétiques comme celles observées chez l'Homme (dans les cas familiaux de la MA, qui représentent 1% des patients, Lambert et Amouyel, 2007) possèdent une bonne validité de construction pour la MA. Dans le cadre de la modélisation de la MA avec les souris THY-Tau22, ces souris présentent une mauvaise validité de construction au sens strict du terme puisqu'elles ne portent aucune mutation retrouvée chez les patients MA. Cependant, 99% des cas de MA sont d'origine sporadique, c'est-à-dire qu'elles sont le fait de l'interaction entre susceptibilité génétique et facteurs de risque environnementaux (âge, isolement social, niveau académique etc.). De plus, les DNFs retrouvées dans ce modèle murin, consécutives à l'intégration de la protéine TAU humaine mutée, sont très proches de celles retrouvées chez les patients Alzheimer. Au sens large du terme, les souris THY-Tau22 présentent une validité de construction correcte puisqu'elles développent des DNFs à l'origine des troubles cognitifs observés, comme c'est le cas chez les patients atteints de la MA (Giannakopoulos et coll., 2003 ; Ingelsson et coll., 2004 ; Spires-Jones et Hyman 2014).

Les souris THY-Tau22 possèdent une excellente validité de construction à l'égard des FTDP-17 puisqu'elles expriment la protéine TAU humaine mutée sur les résidus G272V et P301S, deux mutations retrouvées dans les formes familiales de la démence fronto-temporale (Goedert et Jakes, 2005 ; Brandt et coll., 2005). A noter qu'il existe de nombreuses formes de DFTs en raison des différents gènes sujets à mutation dans les formes familiales (MAPT, GRN, C9ORF72, VCP, FUS, CHMP2B, TARDBP). Les souris THY-Tau22 modélisent les formes familiales de DFT liées aux mutations de la MAPT (*Microtubule-Associated Protein Tau*), les FTDP-17.

La validité de prédiction

Le dernier niveau de validité d'un modèle concerne la **validité de prédiction** (*predictability*), c'est-à-dire la prédiction de l'efficacité thérapeutique (Shelley, 2010). Il s'agit d'une évaluation différentielle des conséquences de l'administration d'un traitement au sens large (d'un traitement thérapeutique au résultat d'une mutation génétique) chez l'Homme et dans le modèle utilisé. Un traitement qui fonctionne chez l'Homme doit avoir le même

effet dans le modèle animal utilisé et un traitement qui n'a pas aucun effet chez l'Homme ne doit pas fonctionner dans le modèle. Généralement, cette validité est difficile à évaluer car les modèles animaux sont justement utilisés pour mettre en place un traitement chez l'Homme. L'effet d'un tel traitement n'est donc pas encore connu.

Il y a principalement deux familles de traitements prescrits dans la MA : les anticholinestérasés et les antiglutamates. Les premiers permettent de diminuer la dégradation de l'acétylcholine, de manière à contrecarrer la baisse de ce neurotransmetteur chez les patients Alzheimer, d'améliorer les gestes du quotidien et le comportement du patient. Les anticholinestérasés ont un effet modéré sur les troubles mnésiques. Ces médicaments agissent sur l'ensemble de l'organisme et entraînent très fréquemment des effets indésirables au niveau digestif (nausées, perte d'appétit). Les antiglutamates est une classe apparue en 2002 qui ne comprend qu'un médicament, la mémantine (commercialisée sous le nom Ebixa®). Ce traitement a des effets positifs importants sur les activités quotidiennes et les troubles du comportement. Il retarde la perte des fonctions cognitives, et les contrecarre même dans certains cas. La mémantine est relativement bien tolérée par les malades. Aucun de ces traitements ne ralentit l'évolution de la MA, mais ils améliorent les conditions de vie du patient. Actuellement, des approches non-médicamenteuses sont également mises en place, visant une rééducation et une réhabilitation cognitive qui sont adaptées à chaque patient. Dans le cadre de ces approches, la famille (ou l'entourage) joue un rôle primordial.

Aucun traitement ne permet de guérir définitivement les DFTs ou même d'en ralentir la progression. Les traitements disponibles ont pour but de diminuer les symptômes comme c'est le cas du trazodone (un inhibiteur de la recapture de la sérotonine et antagoniste du récepteur 5-HT_{2A}), qui diminue les troubles de l'humeur. D'autres traitements sont prescrits pour calmer l'agitation (sédatifs), l'anxiété et l'agressivité (antipsychotique). Les médicaments prescrits dans le cadre de la MA ayant pour but de limiter la détérioration intellectuelle (anticholinestérasés) n'ont pas d'effet dans les DFTs et peuvent même dans certains cas aggraver les troubles du comportement.

Dans le cadre de ma thèse, nous avons utilisé les souris THY-Tau22 pour étudier de nouvelles stratégies thérapeutiques (touchant les modifications épigénétiques), à l'aide de

molécules qui n'ont encore jamais été utilisées chez l'Homme dans le cadre de la MA (PheBu et CSP-TTK21). Par ailleurs, les traitements utilisés chez l'Homme n'ont pas été testés chez les souris THY-Tau22. La validité de prédiction n'est donc pas analysable dans ce modèle de souris.

Souris THY-Tau22, modèle de la maladie d'Alzheimer ou de démence fronto-temporale liée à une mutation du chromosome 17 ?

Les souris THY-Tau22 présentent des DNFs dans l'hippocampe et le cortex frontal qui sont de même nature que celles observées chez les patients atteints de la MA, et dans ce sens, le modèle de souris THY-Tau22 se rapproche de la MA, avec notamment une évolution des symptômes mnésiques en fonction de l'atteinte par les DNFs, chez ces souris comme chez les patients (Van der Jeugd et coll., 2013). Tranfaglia et collaborateurs (2009) ont publié une étude comparative de la perfusion cérébrale (*SPECT: Single Photon Emission Computed Tomography*, soit la tomographie d'émission monophotonique) chez des patients atteints de la MA ou de FTDP-17. Ils ont montré que l'état d'hypoperfusion, c'est-à-dire une moindre perfusion (débit sanguin), touche principalement le cortex fronto-temporal chez les patients atteints de DFTs, alors que cette atteinte est plus spécifique de l'hippocampe chez les patients Alzheimer (Tranfaglia et coll., 2009). Chez les souris THY-Tau22, les DNFs sont majoritairement retrouvées dans l'hippocampe et le cortex frontal. L'atteinte de l'hippocampe est précoce chez les patients Alzheimer, tandis que le cortex frontal est touché beaucoup plus tardivement. Les souris THY-Tau22 ne correspondent pas strictement à l'une ou à l'autre de ces distributions anatomiques mais l'atteinte précoce de la région hippocampique caractéristique de la MA rapproche davantage le modèle de souris THY-Tau22 de la MA.

Enfin, contrairement à ce qu'on observe chez les patients atteints de la MA et chez les souris THY-Tau22, les patients atteints de DFT ne présentent pas systématiquement des troubles mnésiques (16% des cas, et uniquement à un stade avancé de la maladie). Les souris THY-Tau22 présentent des troubles mnésiques marqués dans les tâches dépendantes de l'hippocampe, avec des troubles de l'acquisition dans certaines d'entre elles (Van der Jeugd et coll., 2013), ce qui correspond aux troubles observés chez les patients atteints de la MA. Aussi, les souris THY-Tau22 présentent d'autres caractéristiques physiopathologiques

que l'on retrouve chez les patients Alzheimer, comme les troubles de la neurotransmission cholinergique ou du transport axonal (Belarbi et coll., 2009 et Belarbi et coll., 2011).

Il existe d'autres modèles murins de Tauopathies. Les souris Tg30tau par exemple, exprime la protéine TAU humaine mutée au niveau des mêmes résidus (P301S et G272V) que les souris THY-Tau22 (Schindowski et coll., 2006). Elles se différencient par l'expression du transgène qui est principalement restreint au cerveau chez les souris THY-Tau22 alors qu'il est également présent dans la moelle épinière chez les Tg30tau. Ces souris présentent également des DNFs, des troubles du transport axonal, des déficits en mémoire spatiale. La quantité de DNFs dans l'hippocampe est même plus importante chez les Tg30tau que chez les THY-Tau22 (Schindowski et coll., 2006). Les souris Tg30tau présentent une atrophie corticale importante à 11 mois (accompagnée d'une diminution du poids du cerveau) (Leroy et coll., 2007). Les souris Tg30tau présentent une quantité de DNFs importante dans la moelle épinière, ce qui a comme conséquences l'apparition de dystonies (contractions prolongées involontaires) des membres antérieurs et postérieurs et des troubles de la motricité (Leroy et coll., 2007). Les souris Tg30tau présentent des troubles moteurs importants dès 8 mois avec une aggravation marquée à 10 mois (test de Rotarod). Une analyse de la courbe de survie de Kaplan-Meier met en évidence une diminution importante de la survie des souris Tg30tau (15 mois vs. 20 mois pour les souris WT) (Leroy et coll., 2007).

Yoshiyama et collaborateurs (2007), ont étudié des souris présentant une des deux mutations exprimées par le modèle de souris THY-Tau22 : la lignée de souris PS19, qui exprime la protéine TAU humaine mutée au niveau du résidu P301S. Cette mutation entraîne une diminution de la liaison de la protéine TAU avec les MTs et une diminution progressive de la solubilité de la protéine TAU. Ils ont observé la présence de DNFs en quantité importante dès 6 mois dans l'hippocampe, l'amygdale et la moelle épinière. A 9 mois, les souris PS19 présentent une dilatation ventriculaire et une perte neuronale marquée dans l'hippocampe (diminution du volume de l'hippocampe de presque 50% à 12 mois). Des enregistrements électrophysiologiques réalisés sur des tranches d'hippocampe ont révélé des troubles de la transmission synaptique (excitabilité neuronale amoindrie) et du maintien de la PLT. Les auteurs ont observé une dystonie des membres inférieurs et postérieurs dès l'âge de 3 mois, une faiblesse musculaire à partir de 6 mois, et le développement d'une paralysie progressive sur l'ensemble du corps entre de 7 et 10 mois

jusqu'à atteindre un point où la souris devient incapable de se nourrir. Là encore, ces souris présentent une longévité amoindrie : 80% des souris meurent avant 12 mois.

Ramsden et collaborateurs (2005) ont utilisé des souris rTg(tau_{P301L})4510. Ces souris expriment la mutation P301L sur la protéine TAU, mutation retrouvée dans les FTDP-17. L'expression du transgène est sous le contrôle du promoteur de la CaMKII. Les auteurs ont observé une expression massive du transgène dans le néocortex et dans l'hippocampe (Ramsden et coll., 2005). Les DNFs se développent d'abord dans l'ensemble du néocortex avant d'atteindre l'hippocampe et les structures limbiques avec l'âge. Les auteurs ont montré que la protéine TAU ainsi mutée présente une augmentation de sa phosphorylation avec l'âge jusqu'à atteindre une forme insoluble. Le transgène est là aussi exprimé dans la moelle épinière à 10 mois, ce qui entraîne l'apparition de dystonies des membres antérieurs et postérieurs. Les souris rTg(tau_{P301L})4510 souffrent de troubles en mémoire spatiale (piscine de Morris) dès l'âge de 4 mois (Ramsden et coll., 2005). SantaCruz et collaborateurs (2005) ont montré que les premières DNFs étaient visibles dans le néocortex à 4 mois et à 5,5 mois dans l'hippocampe, accompagné d'une diminution de 60 % du nombre de neurones dans la région CA1 de l'hippocampe. Ils ont observé une perte significative du poids global du cerveau dès 5,5 mois.

En raison des troubles moteurs présents chez ces différents modèles de tauopathie, il paraît difficilement envisageable d'évaluer l'impact des traitements que nous avons utilisé dans des tests comportementaux tels que la piscine de Morris. Aussi, ces souris présentent une espérance de vie réduite, notamment en raison de l'atrophie musculaire qui réduit progressivement les capacités (y compris à se nourrir) de ces animaux, ce qui pose problème dans l'optique de tester des traitements à un âge avancé (comme c'est le cas chez les patients atteints de la MA). C'est pour ces différentes raisons que nous nous sommes dirigés vers le modèle THY-Tau 22.

Dans tous les cas, en travaillant sur des modèles animaux, nous réalisons une simplification incontournable de la maladie modélisée. Cette simplification permet de comprendre l'évolution de la maladie, d'envisager de nouveaux traitements et de faire des hypothèses sur les causes de la MA (Charbier, 2009). Je finirai par cette citation qui me paraît être un résumé pertinent de ce qu'est un modèle animal :

“Animal models are an excellent basic science tool but are less useful for the purpose most are used for, as a tool for biomedical predictions. Unfortunately, there is currently no better alternative, at least if the target animal is human” (Wall et Shani, 2008).

2. LIMITES DES MOLECULES UTILISEES

Dans le cadre de cette thèse, nous avons utilisé deux molécules différentes, la CSP-TTK21 et le phénylbutyrate (PheBu). Dans les prochains paragraphes, je discute des limites rencontrées au cours de ma thèse avec chacune de ces molécules.

CSP-TTK21

Nous avons rencontré des difficultés en termes de quantité fabriquée et de stabilité de la molécule CSP-TTK21. En raison du nombre important d'étapes de fabrication (Publication 1), dont certaines sont particulièrement délicates (la liaison covalente entre CSP et TTK21 est cruciale puisque si elle est mal réalisée, TTK21 n'est plus capable de passer les membranes), la stabilité de la molécule et surtout sa fiabilité n'étaient pas toujours correctes. De même, il n'est actuellement pas possible de synthétiser une grande quantité de cette molécule. Par conséquent, nous avons dû utiliser différents lots. Bien que chaque lot soit testé en termes d'efficacité à acétyler les histones sur des cultures cellulaires avant de nous être envoyé, nous avons observé que l'efficacité de la molécule, en termes de capacité à augmenter l'acétylation des histones, n'était pas systématiquement la même *in vivo*. Ainsi, à l'arrivée de chaque nouveau lot de molécule, nous avons réalisé des tests d'efficacité de la molécule préliminaires à toutes nos expériences (3 jours après l'injection intrapéritonéale de souris WT, les tissus étaient prélevés et analysés). Dans l'optique d'une application chez l'Homme, ce manque de stabilité d'un lot à l'autre pose problème. Il faudrait également trouver un moyen plus direct et rapide de tester l'efficacité de la molécule.

Aussi, CSP-TTK21 n'est pas une molécule facile à remettre en suspension. A son arrivée, ce composé est sous forme de poudre noire relativement collante. La remise en suspension est réalisée dans de l'eau pour solution injectable par sonication rapide. Il n'est pas possible de soniquer de manière trop importante de risque de désolidariser CSP et TTK21, ce qui compromettrait le caractère essentiel de perméabilité de la molécule, mais pour autant il faut soniquer suffisamment pour solubiliser la molécule, notamment de sorte qu'elle ne

bouche pas l'aiguille d'injection mais surtout que la dose injectée comprenne la même quantité de molécule active (solubilisée et non sous forme agrégative). Nous avons souvent observé un dépôt, dans la seringue et dans le tube contenant la molécule, lorsque plusieurs souris étaient injectées, indiquant que celle-ci se redépose assez rapidement (formation d'agrégats). Là encore, dans l'optique d'un traitement applicable chez l'Homme, ce point est critique. On ne peut envisager d'administrer cette molécule par perfusion intraveineuse sous peine de boucher le système de perfusion, ou pire, d'engendrer la formation de caillot. L'administration par inhalation (spray nasal) n'est pas non plus réalisable en l'état en raison de ce manque de solubilité. Il faudrait envisager lier TTK21 à une autre nanoparticule qui aurait les mêmes propriétés que CSP en termes de passage des membranes cellulaires mais qui serait plus soluble.

Enfin, l'injection de CSP-TTK21 se faisant de manière systémique, celle-ci va avoir une influence sur l'ensemble des organes du corps (Publication 1, Chatterjee et coll., 2013). En plus du cerveau, CSP-TTK21 atteint le foie, la rate et les poumons. Après une administration systémique, CSP-TTK21 atteint la rate et le foie avant même d'atteindre le cerveau, ce qui pourrait entraîner des effets indésirables dans le cadre d'un traitement chronique. De plus, il est possible que la molécule soit modifiée suite à son passage dans un autre organe comme le foie et la rate. Le métabolisme chez l'Homme et la Souris n'étant pas le même, on ne peut exclure que la molécule ne soit pas dans le même état « final » lorsqu'elle atteint la BHE. La solution à ce problème est loin d'être simple car il est difficile, voire impossible, d'obtenir un composé qui n'agirait que sur le cerveau. La plupart des médications utilisées chez l'Homme présente aussi ce manque de spécificité régionale, ce qui engendre des effets secondaires considérables dans certains cas.

LE PHENYLBUTYRATE

L'un des avantages du PheBu est qu'il possède d'ores et déjà une autorisation de mise sur le marché (AMM), pour le traitement des troubles du cycle de l'urée. Son administration chez l'Homme, par voie orale, entraîne des effets secondaires majoritairement au niveau des appareils reproductif (aménorrhée) et gastro-intestinal (douleur abdominale, nausée) (informations trouvées sur le site de l'agence européenne des médicaments, www.ema.europa.eu/docs/fr). J'ai pu constater au cours de ma thèse que certaines souris se

tenaient dans un état de prostration important suite à l'administration du PheBu avec, dans quelques rares cas, un comportement de type épileptique (ces souris, 4/76 souris ayant été injectées avec le PheBu au cours de ma thèse, n'ont pas été conservées pour les analyses comportementales). Dans le cadre des traitements chroniques, j'ai effectué une surveillance rapprochée des souris afin d'éviter toute souffrance pour l'animal. Le début de la prostration commence dans les 5 minutes suivant l'injection et dure généralement entre 20 et 40 minutes. Dans le pire des cas, la souris concernée a adopté ce comportement de prostration durant 1 heure environ. J'ai observé ce comportement aussi bien chez les souris THY-Tau22 que chez les souris WT. Dans le cas où le malaise durait plus d'une heure, trois fois de suite, la souris était sortie de l'expérience et le traitement s'arrêtait. Tandis que certaines souris ne présentent aucun trouble suite au traitement au cours des premières injections, elles peuvent les présenter par la suite. A l'inverse, d'autres réagissent fortement au début puis ne semblent plus avoir de problème par la suite. Cet état de prostration varie en fonction du nombre d'administrations, comme s'il y avait une sensibilisation du système chez certaines souris et une désensibilisation chez d'autres. Je n'ai trouvé aucune publication qui discute de ce point. Cette prostration semble indiquer qu'il est possible que les souris aient eu des douleurs abdominales comme celles observées chez l'Homme.

Dans le cadre du traitement de la MA, il faudrait réaliser des tests supplémentaires pour s'assurer de l'efficacité du phénylbutyrate. Ce domaine de recherche est très actif. Une nouvelle molécule, le tri-(4-phénylbutyrate) de glycéryle (liaison de 3 molécules de 4-PheBu sur une glycéryle), a fait l'objet d'un dépôt de brevet en novembre 2012 (Truog et Buschmann, brevet numéro : WO 2013079205 A1) dans le cadre du traitement de plusieurs maladies, dont la MA. Avec cette nouvelle molécule, la dose administrée est moins importante que dans le cas du PheBu, ce qui diminue les effets secondaires et permet un traitement sur le long terme. De plus, le tri-(4-phénylbutyrate) de glycéryle est libéré de manière plus lente et constante que le 4-phénylbutyrate utilisé jusqu'alors, permettant de diminuer le nombre de prises. Je n'ai trouvé aucune publication ayant utilisée cette molécule jusqu'alors.

3. ACTIVER LES HATS OU INHIBER LES HDACS ?

Dans la dernière partie de cette discussion, je reviens sur les résultats principaux obtenus au cours de ma thèse chez les souris WT jeunes adultes avec CSP-TTK21, mais aussi et surtout, parce que c'était là le but de ce projet de recherche, sur l'impact de la réactivation de l'acétylation des histones dans un modèle murin de la MA. Enfin, je discute de la pertinence de l'approche thérapeutique à adopter (activateur des HATs ou iHDACs).

La MA est caractérisée par une perte progressive des capacités mnésiques et des fonctions cognitives, accompagnée du développement de DNFs et de plaques séniles dans le cerveau. Les traitements actuellement disponibles n'ont qu'un effet modéré sur cette symptomatologie et n'ont pas d'influence sur le développement neuropathologique. La découverte de troubles des régulations épigénétiques dans des cerveaux de patients atteints de la MA (Ding et coll., 2008 ; Mastroeni et coll., 2009, 2010 ; Gräff et coll., 2012 ; Liu et coll., 2012), ont mené la communauté scientifique à se pencher sur une nouvelle cause possible de la MA : l'altération de la régulation des modifications épigénétiques.

Dans cette optique, de nombreux travaux ont utilisé des molécules susceptibles de rétablir ces régulations épigénétiques dans des modèles transgéniques murins de la MA. Les inhibiteurs des HDACs (iHDACs) sont les plus utilisés, en raison de leur meilleure capacité à passer la BHE, par rapport aux activateurs des HATs (aHATs). Cette propriété est essentielle dans le cadre du traitement de maladies neurodégénératives. Dans la majorité des études, les auteurs ont utilisé des souris transgéniques modélisant l'aspect « amyloïde » de la MA, c'est-à-dire chez des souris qui développent des plaques séniles au sein du parenchyme cérébral avec l'âge (Francis et coll., 2009 ; Ricobaraza et coll., 2009, 2011 et 2012 ; Wiley et coll., 2011 ; Gräff et Tsai, 2013 ; Zhang et Schluesener, 2013).

Effet de l'administration d'iHDACs dans des modèles murins de la MA

Nous avons décidé d'étudier pour la première fois l'impact de l'administration du PheBu dans un modèle murin présentant des DNFs comparables à celles observées chez les patients atteints de la MA. La figure 68 récapitule les données que nous avons obtenues au laboratoire chez les souris THY-Tau22 suite à l'administration chronique de phénylbutyrate,

et les compare aux données obtenues par d'autres équipes chez des souris transgéniques modélisant le développement des plaques séniles. Tous ces résultats démontrent la présence d'une altération des modifications épigénétiques dans les modèles murins de la MA, altération potentiellement à l'origine des troubles mnésiques observés puisque l'administration d'iHDACs permet de rétablir les capacités cognitives de ces souris.

Nos résultats mettent en évidence qu'il est possible de diminuer la phosphorylation pathologique de la protéine TAU, et donc de ralentir le développement de la pathologie chez les souris THY-Tau22. L'administration de PheBu a également permis de restaurer les performances en mémoire spatiale de ces souris. Les effets bénéfiques de l'utilisation d'un iHDACs sur le développement des DNFs ont été retrouvés lors de l'administration d'un inhibiteur spécifique de HDAC6. En effet, Selenica et collaborateurs (2014) ont montré que l'inhibition spécifique de HDAC6 (injections intrapéritonéales quotidiennes de tubastatine A sur une période de 2 mois, de 5 à 7 mois) chez des souris rTg4510 (mutation P301L de la protéine TAU) permet de diminuer les dépôts neurofibrillaires dans l'hippocampe et le cortex cérébral (sans pour autant diminuer l'atrophie hippocampique). Cependant, bien que le niveau total de la protéine TAU soit abaissé, l'inhibition de HDAC6 n'influence pas l'hyperphosphorylation de la protéine TAU. Ceci indique que, contrairement à l'administration de PheBu qui a permis de diminuer les phosphorylations pathologiques de la protéine TAU chez les souris THY-Tau22, l'inhibition spécifique de HDAC6 n'a pas cet effet. Le PheBu semble être un traitement pertinent pour traiter les troubles mnésiques mais aussi pour influencer le développement de la MA, puisqu'il est capable d'agir à la fois sur les plaques séniles et sur les DNFs (*cf.* Figure 68).



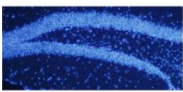
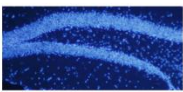

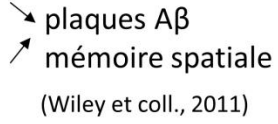





(1) PheBu	(2) PheBu	(3) NaBu
<p>Souris THY-Tau22 (12 mo)</p>  <p>    </p> <ul style="list-style-type: none"> ↗ mémoire spatiale ↗ Ac H2B ↘ DNFs 	<p>APP/PS1Δ9 (14 mo)</p>  <p>  </p> <ul style="list-style-type: none"> ↘ plaques Aβ ↗ mémoire spatiale <p>(Wiley et coll., 2011)</p> <p>Tg2576 (16 mo)</p>  <p>  </p> <ul style="list-style-type: none"> ↗ épines dendritiques ↗ mémoire spatiale ↘ DFTs ↘ plaques Aβ <p>(Ricobaraza et coll., 2009,11,12)</p>	<p>CK-p25 (11 mo) NaBu</p>  <ul style="list-style-type: none"> ↗ épines dendritiques ↗ conditionnement de peur <p>(Fischer et coll., 2007)</p> <hr/> <p>(4) MS-275</p> <p>APP/PS1-21 (5 mois)</p>  <p>  </p> <ul style="list-style-type: none"> ↘ gliose ↘ plaques Aβ <p>(Zhang & Schluesener, 2013)</p>

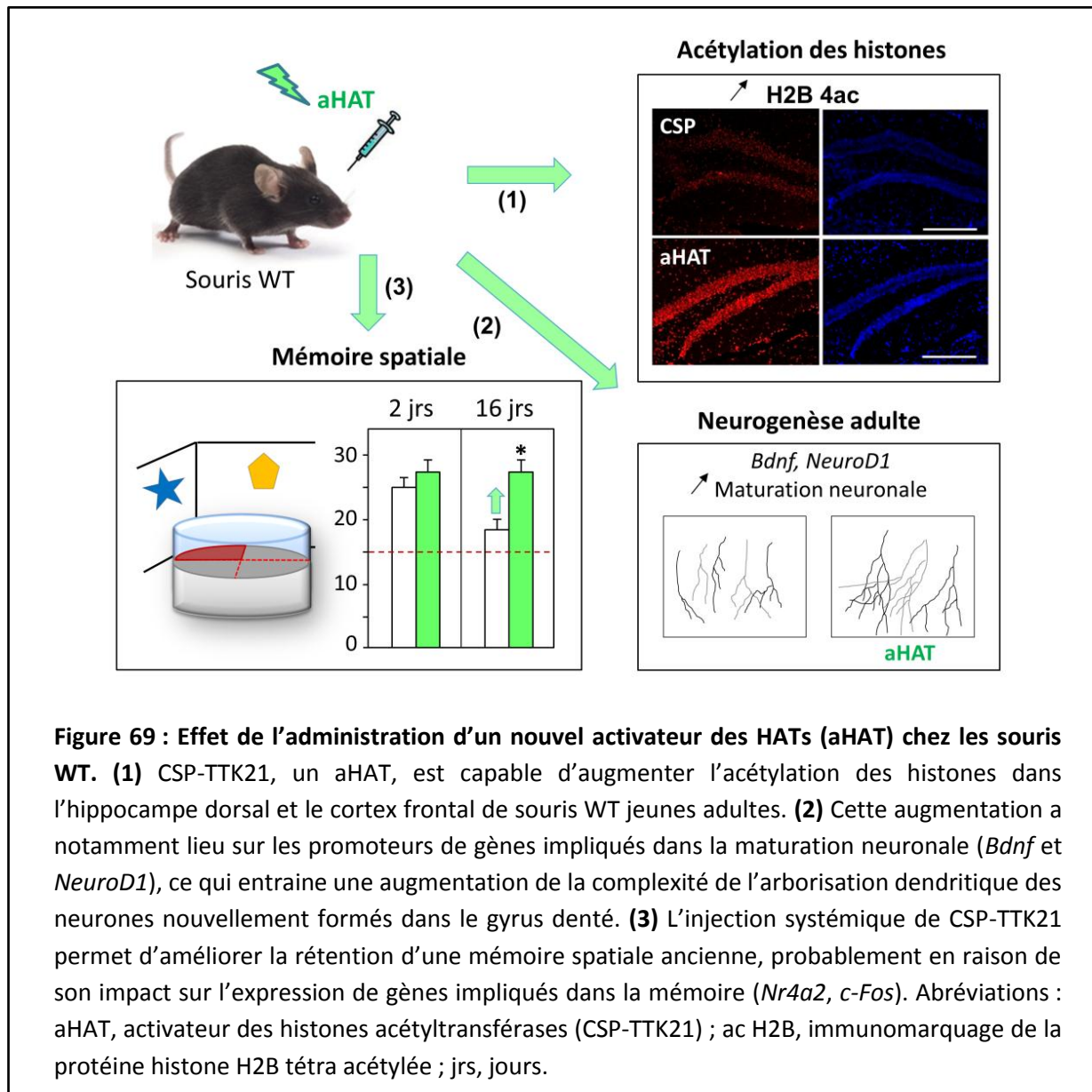
Figure 68 : Effet de l'administration d'iHDACs dans les modèles murins de la MA. (1) Nous avons montré que les souris THY-Tau22 présentent une diminution de l'acétylation des histones pouvant s'expliquer par une diminution de l'expression de CBP dans les neurones présentant des DNFs (Publication 3). Nous avons testé l'efficacité de l'administration systémique d'un iHDACs sur les performances de mémoire spatiale des souris THY-Tau22. Le PheBu entraîne une récupération des performances mnésiques par deux mécanismes potentiels : l'augmentation du niveau d'acétylation des histones H2B ou la diminution de la phosphorylation pathologique de la protéine TAU. **(2)** Dans un modèle de souris APP/PS1Δ9 (développement progressif des plaques séniles et de troubles cognitifs), le PheBu permet de restaurer la mémoire spatiale et de diminuer la taille des plaques séniles (Wiley et coll., 2011). Chez des souris Tg2576 (expression de la protéine précurseur amyloïde, APP, mutée ; souris qui développent des plaques séniles puis des DNFs), l'administration du PheBu permet de restaurer le nombre d'épines dendritiques dans l'hippocampe, les performances en mémoire spatiale, de diminuer les DNFs et les plaques séniles (Ricobaraza et coll., 2009, 2011 et 2012). **(3)** D'autres iHDACs ont été utilisés, c'est le cas du NaBu, dont l'administration intra-cérébro-ventriculaire permet de restaurer les performances cognitives et le nombre d'épines dendritiques chez les souris CK-p25 (atrophie corticale, troubles mnésiques, plaques séniles) (Fischer et coll., 2007). **(4)** L'administration par voie orale de MS-275, un inhibiteur spécifique des HDAC1, diminue la gliose réactionnelle et la taille des plaques séniles chez des souris APP/PS1-21 (Zhang et Schluesener, 2013).

Augmentation de l'acétylation des histones par l'utilisation d'une approche innovante : l'activation des HATs

Dans la majorité des études travaillant sur les régulations épigénétiques dans le cadre d'un apprentissage ou du développement d'une pathologie, l'induction d'une augmentation de l'acétylation des histones est produite par l'administration d'iHDACs. La raison est assez simple, il n'existe que très peu de molécules capables d'activer les HATs *in vivo* en raison de leur manque de perméabilité. L'étude de Wei et ses collaborateurs (2012) est la première à rapporter l'effet pro-mnésique de l'activation de PCAF *in vivo* chez des souris WT suite à l'administration de SPV106. Nous sommes les premiers à disposer d'une molécule susceptible d'activer CBP et p300 *in vivo*, deux autres HATs également impliquées dans les processus mnésiques.

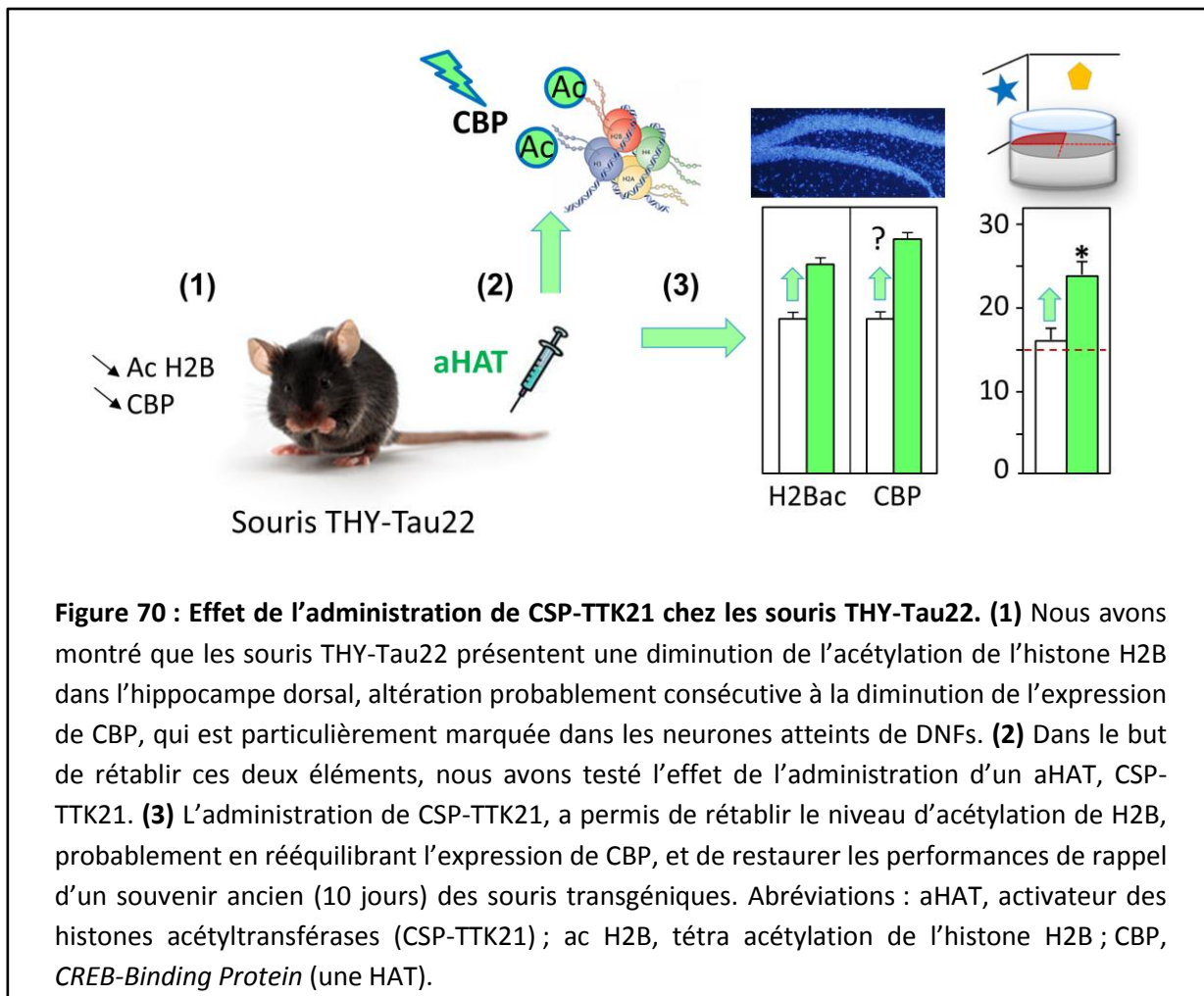
La première étape de cette thèse a été de caractériser cette nouvelle molécule, CSP-TTK21. Nous avons montré que CSP-TTK21 augmente l'activité de CBP et p300 *in vitro*, entraîne une augmentation de l'acétylation des histones dans l'hippocampe dorsal et le cortex frontal, et favorise la transcription de gènes impliqués dans la mémoire et la plasticité synaptique *in vivo* (*cf.* Figure 69). En effet, CSP-TTK21 entraîne un enrichissement de l'acétylation des histones H2B au niveau des promoteurs de gènes impliqués dans la neurogenèse adulte (*Bdnf*, *NeuroD1*) et favorise l'expression de gènes impliqués dans la mémoire (*Nr4a2*, *c-Fos*). Au niveau comportemental, CSP-TTK21 permet d'améliorer la rétention d'une mémoire spatiale ancienne (16 jours).

Alarcón et collaborateurs (2004) ont montré que la délétion de CBP (même partielle, animaux hétérozygotes CBP ^{+/-}) entraîne une diminution de l'acétylation de l'histone H2B, une diminution de la PLT, des troubles de la mémoire de reconnaissance d'objet et d'une peur conditionnée au contexte. En utilisant un modèle de souris transgéniques exprimant la protéine p300 sous une forme tronquée, Oliveira et collaborateurs (2007) ont montré le rôle de p300 dans la mémoire à long terme. Les auteurs concluent à l'importance de p300 dans la formation d'une MLT lorsqu'elle est dépendante du contexte (conditionnement de peur au contexte), tandis que cette HATs ne semble pas impliquée dans la MCT. L'implication de CBP et p300 dans les processus mnésiques est incontestable, leur activation grâce à CSP-TTK21 (et ses effets pro-mnésiques) est ainsi porteuse d'un grand potentiel thérapeutique pour le traitement des maladies affectant les capacités mnésiques.



Réactivation de CBP chez les souris THY-Tau22

L'administration de CSP-TTK21 chez les souris THY-Tau22 nous paraissait être une approche pertinente, étant donné que ces souris présentent une diminution de l'expression de CBP, une diminution de l'acétylation des histones et une altération de la mémoire spatiale. Nous avons montré que CSP-TTK21 est capable de rétablir les performances de mémoire spatiale et d'augmenter le niveau d'acétylation des histones dans l'hippocampe dorsal des souris THY-Tau22 (cf. Figure 70).



Nous avons mis en évidence que l'administration de CSP-TTK21 permet de rétablir les performances en mémoire spatiale des souris THY-Tau22, probablement *via* un mécanisme dépendant de la réactivation de CBP et de l'acétylation des histones. Ces résultats mettent en évidence que grâce à l'administration de CSP-TTK21, il est possible de rétablir des dérégulations épigénétiques, probablement *via* l'activation de CBP/p300, et que cela peut permettre de restaurer les performances mnésiques.

Activer les HATs, une approche plus spécifique que l'inhibition des HDACs ?

Il est possible que l'effet bénéfique de CSP-TTK21 et du PheBu soit liée à l'augmentation de l'acétylation de protéines histones. L'acétylation des histones aurait ainsi permis de rétablir l'expression de gènes impliqués dans la plasticité synaptique et dans la mémoire.

Le mécanisme d'action des iHDACs n'est pas encore totalement élucidé. On sait qu'ils permettent d'inhiber des HDACs (HDAC2 et HDAC3), qui sont associées à la répression de gènes impliqués dans la mémoire (Guan et coll., 2009), ce qui expliquerait qu'en diminuant

leur activité, l'expression de ces gènes soit augmentée, permettant ainsi d'améliorer les performances mnésiques. Il est possible que nous ayons rétabli le niveau d'acétylation des histones grâce à l'administration du PheBu, ce qui aurait finalement permis de restaurer les capacités mnésiques de ces souris en augmentant l'expression de gènes impliqués dans la mémoire. Par ailleurs, bien que le mécanisme par lequel les iHDACs influencent les processus physiopathologiques observés dans la MA ne soit pas élucidé (Abel et Zukin, 2008), nous avons montré que l'administration chronique de PheBu permet de réduire le niveau des DNFs (AT100) dans le cortex frontal des souris THY-Tau22 de 12 mois. Etant donné que le niveau de CBP est diminué dans 50% des neurones de l'hippocampe atteints par les DNFs, on peut envisager que cette diminution des DNFs restaure en partie l'expression globale de CBP. Enfin, le PheBu permet de diminuer l'hyperphosphorylation de la protéine TAU. Il est possible que nous ayons en partie rétabli la stabilité des microtubules et le transport axonal, des fonctions essentielles au bon fonctionnement des neurones. Etant donné le lien établi entre les DNFs et les troubles cognitifs observés chez les patients Alzheimer (Giannakopoulos et coll., 2003 ; Ingelsson et coll., 2004 ; Spires-Jones et Hyman 2014), l'impact que le PheBu a sur le développement et la propagation des DNFs présente un fort intérêt thérapeutique.

Il est aussi possible que l'effet bénéfique de CSP-TTK21 et du PheBu soit lié à l'augmentation de l'acétylation de protéines non-histones impliquées dans la mémoire et dans la régulation de la transcription génique (Kazantsev et Thompson, 2008 ; Lopez-Atalaya et coll., 2013). Le NF- κ B (*nuclear factor-kappa B*), un facteur de transcription dont l'activité est régulée en fonction de son niveau d'acétylation (Perkins, 2006), pourrait être une cible potentielle, directe ou indirecte, de CSP-TTK21 et/ou du PheBu. Le NF- κ B est impliqué dans la régulation de multiples processus physiologiques tels que la guidance axonale, la neurogenèse hippocampique adulte (Gutierrez et Davies, 2011) ou encore la mémoire spatiale à long terme (Oikava et coll., 2012 ; Federman et coll., 2013 ; Rev. Salles et coll., 2014). L'activité de l'ARN polymérase II, un régulateur central de la transcription, est également susceptible d'être modulée par CSP-TTK21 et/ou PheBu. Schröder et collaborateurs (2013) ont mis en évidence que l'acétylation de l'ARN polymérase II intervient dans son domaine C-terminal (*CTP, C-Terminal Domain*) au niveau de 8 résidus lysines différents. Ces acétylations sont dépendantes de l'activité de CBP/p300. Lors de l'application

de mutations au niveau des résidus lysines de l'ARN polymérase II, les auteurs ont observés une diminution de l'expression de *c-Fos* et *Erg2*, deux gènes précoces. L'activité d'autres protéines non-histones est susceptible d'être modulée par l'acétylation (dont certains facteurs de transcription comme p53, Sp1, Smad7, CREB ou encore *signal transducers and activators of transcription-1* (STAT-1) (Peixoto et Abel, 2013). L' α -tubuline (protéine constitutive des microtubules) peut aussi être acétylée. Le rôle de cette acétylation est encore mal établi, mais il semblerait qu'elle intervienne dans la stabilité des microtubules (Dompierre et coll., 2007) et dans le contrôle de la migration et de la différenciation des projections corticales au cours du développement (Creppe et coll., 2009). Il est donc possible que l'administration de CSP-TTK21 et/ou du PheBu ait augmenté la transcription de gènes en partie indépendamment de l'acétylation des histones.

Ce qu'il est importante de noter c'est que les iHDACs ont une action qui dépend directement de CBP. En effet, Vecsey et collaborateurs (2007) ont montré que l'effet bénéfique de l'instillation intra-hippocampique de TSA sur l'apprentissage d'une peur conditionnée au contexte était absent chez des souris transgéniques CBP^{KIX/KIX} (présentant une mutation de CBP sur les domaines de liaison KIX, ce qui empêche toute liaison entre CBP et CREB). Ces données indiquent que l'effet bénéfique de la TSA est dépendant de CBP. Haetting et collaborateurs (2011) ont également montré que l'effet bénéfique du NaBu était dépendant de CBP, et plus particulièrement de sa liaison avec CREB, dans une tâche de reconnaissance de la localisation spatiale des objets chez des souris CBP^{KIX/KIX}. Dès lors, lorsque le niveau de CBP est altéré, et c'est le cas chez les souris THY-Tau22, l'utilisation d'iHDACs comme le PheBu ne permet pas une action optimale.

Outre leur fonction d'acétyltransférase, CBP/p300 ont un rôle de coactivateur transcriptionnel : ces deux protéines possèdent un nombre important de domaines de liaison à de multiples protéines (*cf.* Figure 54) qu'elles sont donc susceptibles de recruter et de fixer. Parmi ces protéines, plusieurs sont régulatrices de la transcription des gènes (TFIID, TFIIB, ARN polymérase II ; Vo et Goodman, 2001 ; McManus et Hendzel, 2001). Rétablir l'activité de CBP et p300 en administrant CSP-TTK21 serait donc susceptible de favoriser la transcription de gènes au travers de leur activité de coactivateur transcriptionnel, indépendamment de leur activité HAT, ce que le PheBu ne permet pas.

Pour être pertinente et utile à l'organisme, l'acétylation des histones doit avoir lieu sur des gènes spécifiques. L'état des modifications post-traductionnelles des histones au moment de la stimulation environnementale (situation d'apprentissage par exemple) va très clairement influencer les modifications transcriptionnelles engendrées par cette stimulation (Oliver et Denu, 2011). Les HATs sont recrutées au niveau des promoteurs des gènes, notamment *via* leur bromodomaine qui reconnaît les lysines acétylées, permettant donc de faciliter la transcription de gènes déjà ciblé par l'organisme. Des données récentes et non publiées obtenues au laboratoire ont permis de mettre en évidence que les gènes associés à la plasticité synaptique et à la mémoire sont acétylés de manière phasique, même chez les animaux contrôles ; c'est-à-dire que la chromatine est d'ores et déjà maintenu dans un état ouvert, et donc accessible pour la machinerie transcriptionnelle au niveau de ces différents gènes, même à l'état basal. L'activation de CSP-TTK21 permettrait donc d'induire la transcription de gènes déterminés au préalable, car rendus accessible. Bien que l'inhibition des HDACs permette d'augmenter l'acétylation des histones, celle-ci n'a pas nécessairement lieu au niveau des domaines pertinents (*i.e.* les gènes impliqués dans les processus de mémorisation, Lopez-Atalaya et coll., 2013).

L'utilisation de CSP-TTK21 permet donc de mieux cibler les programmes transcriptionnels dont l'organisme a déjà « indiqué » qu'il en avait « besoin » (bromodomaine des HATs). L'utilisation d'iHDACs induit une action moins ciblée que l'activation de CBP et p300. En effet, 18 HDACs ont été décrites à ce jour. Cependant, étant donné le niveau de HDAC2 retrouvé augmenté dans l'hippocampe de cerveaux de patients atteints de la MA, niveau qui pourrait expliquer les troubles mnésiques observés chez ces patients (Gräff et coll., 2012), l'inhibition des HDACs reste une voie thérapeutique prometteuse. Les HDAC2 et HDAC3 sont associées aux promoteurs de gènes impliqués dans la plasticité synaptique et dans la mémoire (Guan et coll., 2009 ; McQuown et Wood, 2011). Ainsi, l'effet bénéfique des iHDACs sur les capacités mnésiques pourrait s'expliquer par l'inhibition de ces deux HDACs.

L'action des iHDACs est dépendante de CBP (Vecsey et coll., 2007 ; Haettig et coll., 2011) et l'inhibition des HDACs favorise l'auto-acétylation de CBP et p300 qui stimule leur activité (Thompson et coll., 2004 ; Kim et coll., 2010 ; Dancy et coll., 2012). Il semblerait donc que l'action bénéfique des iHDACs soit en partie la conséquence de l'activation des HATs. Utiliser

une double thérapie et ainsi inhiber HDAC2 (retrouvée en concentration anormalement haute dans les cellules hippocampiques de patients Alzheimer, Gräff et coll., 2012) et activer directement les HATs apparait comme une nouvelle approche thérapeutique pertinente (une baisse de la protéine CBP a été retrouvée dans l'hippocampe de patients atteints de la MA, d'après des données non publiées récemment obtenues au laboratoire par O. Bousiges).

PERSPECTIVES

Concernant l'impact de l'augmentation de l'acétylation des histones chez les souris THY-tau22, nous aimerions évaluer la capacité de CSP-TTK21 : 1) à rétablir le niveau de CBP *in vivo* (activité enzymatique), 2) à modifier le développement des DNFs lors d'un traitement chronique. Par ailleurs, bien que le PheBu ait permis de diminuer la phosphorylation pathologique de la protéine TAU, l'augmentation de l'acétylation qu'il entraîne est dépendante de CBP (Vecsey et coll., 2007). Or les souris THY-Tau22 présentent une diminution du niveau de CBP. Il serait donc intéressant de tester l'efficacité d'une double thérapie afin de voir s'il est possible de potentialiser l'effet du PheBu à l'aide de CSP-TTK21. Cependant, et il faudra être très vigilant sur ce point, la dose administrée pour chacune de ces molécules devra probablement être revue à la baisse afin de ne pas induire un état d'hyperacétylation qui risquerait d'avoir des conséquences néfastes, comme nous l'avons observé à la suite de l'administration aiguë du PheBu chez les souris WT de 12 mois (Données supplémentaires de la publication 2).

La MA peut être modélisée dans d'autres modèles murins, notamment ceux présentant des mutations sur les gènes codant pour les présénilines et/ou pour l'APP. Ces souris développent des plaques séniles comparables à celles observées chez les patients atteints de la MA. Des études réalisées *in vitro* ont permis de mettre en évidence que la préséniline 1 (PS1, à l'origine de la majorité des formes familiales de la MA) est capable d'inhiber l'activité de CBP (Francis et coll., 2006) et p300 (Francis et coll., 2007). En effet, la PS1 non mutée est capable de stimuler l'activité de CBP *via* des processus dépendant de sa phosphorylation (mécanismes dépendants de MAPK, de PI 3-kinase et p42/p44 MAPK) ; la PS1 mutée n'est

plus capable d'exercer cette fonction (Francis et coll., 2006). Des résultats comparables ont été observés en étudiant l'impact de PS1 sur p300 (Francis et coll., 2007). Il serait pertinent d'étudier l'impact de l'administration de CSP-TTK21 dans ce type de modèles transgéniques afin de voir si activer les HATs est une stratégie thérapeutique pertinente dans le cadre des plaques séniles.

Il faut savoir que d'autres modèles animaux sont utilisés pour l'étude de la MA. C'est le cas de certains primates non-humains comme les microcèbes (*microcebus murinus*). Les microcèbes présentent une atrophie de différentes zones cérébrales dont le cortex et l'hippocampe et développent des plaques séniles et des dépôts fibrillaires dans les neurones pyramidaux avec l'âge (entre 8 et 11 ans, espérance de vie pouvant aller jusqu'à 13 ans en captivité, Bons et coll., 1992). Kraska et collaborateurs (2011) précisent que l'atrophie cérébrale retrouvée chez les microcèbes suit approximativement le même développement que celui observé chez les patients atteints de la MA, ce qui fait des microcèbes un modèle pertinent pour étudier les mécanismes de propagation des plaques séniles et des DNFs. Par ailleurs, Delacourte et collaborateurs (1995) ont également montré que chez les microcèbes, la protéine TAU devient de plus en plus phosphorylée avec l'âge, jusqu'à être hyperphosphorylée, caractéristique qui permettrait d'étudier l'impact de l'administration du PheBu sur les mécanismes physiopathologiques sur une longue période. Bons et collaborateurs (2006) indiquent que, comme pour la MA, seule une certaine proportion des microcèbes développe une neurodégénérescence (20 % environ), ce qui permettrait d'étudier d'éventuelles thérapies pharmacologiques mais également cognitivo-comportementales (milieu enrichi par exemple). Les microcèbes offrent ainsi la possibilité d'étudier l'implication des modifications épigénétiques dans un modèle animal qui présentent les trois marqueurs neuropathologiques de la MA (*i.e.* les plaques amyloïdes, les DNFs et l'atrophie corticale) de manière endogène, c'est-à-dire « naturelle ». Evaluer l'impact de l'administration de CSP-TTK21 et /ou du PheBu dans ce modèle animal permettrait donc d'étudier la régulation des modifications épigénétiques au cours du développement de la pathologie sur un modèle naturel de la MA, et d'un point de vue phylogénétique, plus proche de l'Homme que les rongeurs (primate non-humain).

Enfin, la MA n'est pas la seule maladie neurodégénérative associée à des altérations des modifications épigénétiques. En effet, des dérégulations épigénétiques ont été trouvées

dans des modèles murins de la maladie de Huntington (la protéine Huntingtine interagit avec CBP et diminue le niveau d'acétylation des histones H3 et H4 ; Steffan et coll., 2001 ; Nocifera et coll., 2001), de la maladie de Parkinson (l' α -synucléine se lie aux histones et empêche ainsi leur acétylation, Kontopoulos et coll., 2006), ou encore de la sclérose latérale amyotrophique (la superoxyde dismutase mutée est capable de réprimer l'expression de CBP ; Rouaux et coll., 2003). Il serait ainsi intéressant de tester l'impact de l'administration de CSP-TTK21 sur le développement de ces différentes pathologies dans lesquelles une diminution/dérégulation de l'acétylation des histones a été observée.

L'ensemble de ces études devrait nous permettre de conclure si l'activation des HATs CBP/p300 est une bonne stratégie thérapeutique, en espérant qu'un jour, ces résultats seront à l'origine de tests cliniques chez l'homme avec ce type de molécules.

La découverte d'altérations épigénétiques dans la MA ouvre un nouveau champ de recherche pour comprendre cette maladie et envisager de nouveaux traitements. Ainsi, la restauration des modifications épigénétiques, notamment par l'augmentation de l'acétylation des histones, pourrait potentiellement permettre de rétablir l'expression des programmes génétiques altérés dans la MA, et de ce fait, de restaurer les performances cognitives et de ralentir son développement chez les patients atteints de la maladie d'Alzheimer.

ANNEXES

EVALUATION DE LA MEMOIRE SPATIALE AVEC LE TEST DE LA PISCINE DE MORRIS CHEZ LA SOURIS

1. DESCRIPTION DU DISPOSITIF

Le test de la piscine de Morris a été inventé par Richard Morris en 1981. Ce test a pour but d'évaluer la mémoire spatiale chez le rongeur. Contrairement au labyrinthe radial (Olton et Samuleson, 1976), la piscine de Morris ne nécessite pas de privation alimentaire. Placer l'animal dans l'eau fraîche permet d'induire une situation aversive suffisante pour le motiver à apprendre. Le principe général est de placer l'animal dans une enceinte remplie d'eau opacifiée par l'ajout de blanc de Meudon, un colorant non toxique (150 grammes), dont la seule échappatoire est une plate-forme cachée 1 cm sous la surface de l'eau. Le dispositif (piscine de 150 cm de diamètre) est placé dans une pièce comprenant des indices spatiaux distaux (cf. Figure 71) permettant à l'animal de se forger une carte spatiale. Ainsi, l'emplacement de la plate-forme (de 10 cm de diamètre) sera appris et retenu grâce à ces indices et à leur mise en relation dans l'espace (mémoire spatiale allocentrique). Le test de la piscine de Morris permet d'évaluer la mémoire de travail ou la mémoire de référence.

L'eau est maintenue à une température constante de 21 °C afin que la situation soit suffisamment aversive pour motiver la souris à chercher, puis retenir, l'emplacement de la plate-forme. Nous avons une pièce consacrée au test de la piscine de Morris ce qui permet de la garder identique pour l'ensemble des expériences.



Figure 71 : Photographie de la pièce et du test de la piscine de Morris dans laquelle toutes les expériences de comportement ont été réalisées. Des indices extra dispositifs sont présents autour de la piscine, permettant à l'animal de se repérer dans l'espace.

2. PROCEDURE EXPERIMENTALE

Tout au long de l'expérience, les souris sont amenées dans la pièce d'expérimentation 30 minutes avant le début du test afin qu'elles s'y habituent. Les souris de notre élevage grandissent à 2 ou 4 par cage, en fonction du nombre de frères/sœurs de la même portée (cf. Figure 72). Elles sont séparées une semaine avant le début du test comportemental. Nous les manipulons pour les habituer à l'expérimentateur pendant les 5 jours précédant le début du test à raison de 1 à 2 minutes par jour. Pour cela, la souris est placée sur la blouse, au niveau de l'avant-bras, où elle peut se déplacer librement.



Figure 72 : Photographie des conditions d'élevage des souris (source personnelle). Les souris sont élevées à 3 ou 4 par cages pour éviter l'isolement et le stress qui en découle. Un morceau de papier absorbant est placé dans chacune des cages pour que les souris puissent se faire un nid.

Le test se divise globalement en trois étapes : l'habituation, l'acquisition et le test de rétention (« probe trial »). Au cours de ses trois étapes, la Souris n'est jamais directement prise en main, afin d'éviter un stress trop important. Nous utilisons une petite grille (8 cm sur 20 cm), sur laquelle la Souris va apprendre à grimper pour que l'expérimentateur la ramène à sa cage. Nous disposons d'un logiciel spécialisé dans le traitement des données comportementales (*ANY-Maze video tracking software*, Ugo basile), qui nous permet de collecter différentes variables au cours du test.

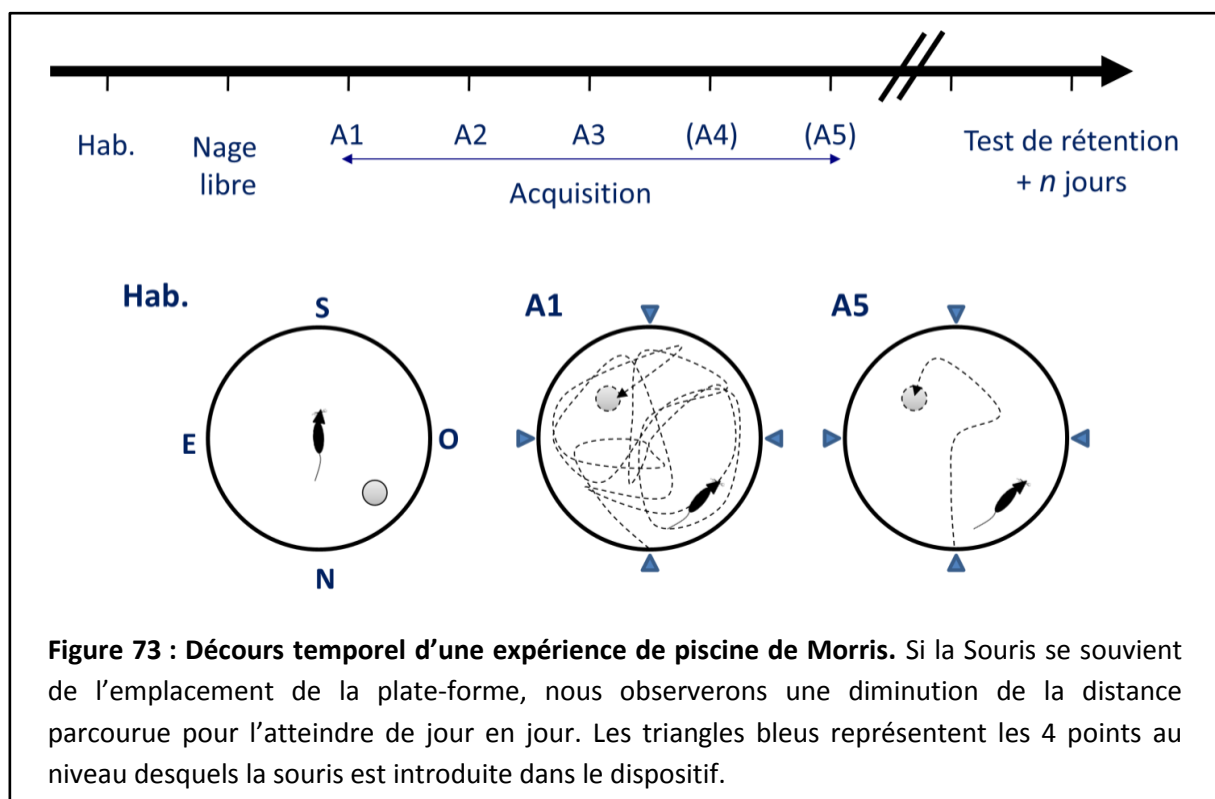
Durant les deux premiers jours, nous réalisons une étape d'«**habituatio**n ». Au cours du premier jour d'habituatio

n, une plate-forme visible est disposée au centre du quadrant NO (cf. Figure 73) et il y a seulement 5 centimètres d'eau dans la piscine. L'objectif de ce premier jour est que la Souris comprenne 1) qu'il y a une échappatoire (la plate-forme) 2) qu'elle doit monter sur la grille pour être ramenée à sa cage. La souris dispose d'une minute pour grimper sur la plate-forme. Si elle ne le fait pas dans le temps imparti, l'expérimentateur l'y amène délicatement. Ce premier jour permet aussi de vérifier l'acuité visuelle des souris. En temps normal, la plate-forme étant visible, la Souris s'y dirige assez rapidement. Dans le cas où la Souris passe plusieurs fois à côté sans y prêter la moindre attention, il faudra être plus attentif à ses performances dans les jours suivants car il est possible que cette Souris souffre de troubles visuels/motivationnels. Durant le second jour d'habituatio

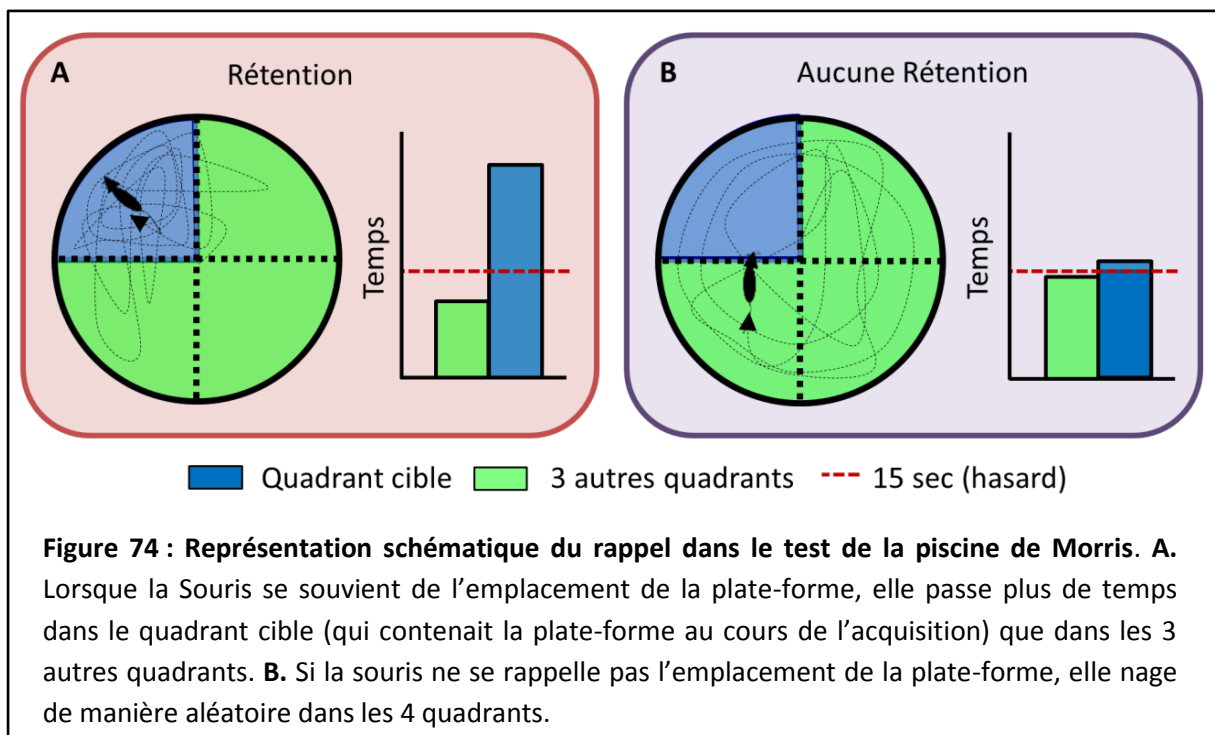
n, le jour de « nage libre », la piscine est remplie d'eau comme pour les jours suivants mais il n'y a pas de plate-forme dans le dispositif. La Souris nage librement dans l'ensemble de la piscine durant un essai unique de 2 minutes. Cela permet à l'expérimentateur de vérifier que les souris ne présentent pas de troubles moteurs (mesure de la vitesse de nage).

Commence ensuite la deuxième phase du test, l'«**acquisition**». Durant l'acquisition, nous évaluons les capacités de la Souris à localiser la plate-forme et à la retrouver de jour en jour. Dans le cadre de l'évaluation de la mémoire spatiale de référence, la plate-forme est systématiquement placée au même endroit dans le dispositif (au centre du quadrant SE, cf. Figure 73) mais l'animal est introduit à partir de différents endroits autour de la piscine, points arbitrairement définis par les quatre points cardinaux (schématisé par les triangles bleus sur la Figure 73). La Souris est introduite dans le dispositif, à partir des 4 points cardinaux, 4 fois par jour. Une période de 60 secondes est laissée à la Souris pour trouver la plate-forme. Si elle ne la trouve pas dans le temps imparti, l'expérimentateur l'y amène délicatement. Dans tous les cas, une fois montée sur la plate-forme, la Souris y est laissée pendant 10 secondes. L'ordre des points d'introduction change d'un jour à l'autre, et ceux-ci sont répartis de manière pseudo-randomisée, de sorte que la Souris ne soit pas introduite deux fois dans le dispositif à partir du même endroit un jour donné, et que l'ordre des points d'introduction change d'un jour sur l'autre. La Souris ne passe pas les 4 essais successivement car l'effort demandé est trop important, surtout lorsqu'il s'agit de souris transgéniques et/ou âgées. Entre chaque essai, la Souris est placée sous une lampe

chauffante pendant environ 5 minutes. Nous passons les souris par groupes de 3. Ainsi, la première souris passe son premier essai, puis la seconde souris passe son premier essai et enfin c'est au tour de la troisième souris. Puis nous continuons ainsi, le second essai est passé par les trois souris, le troisième essai par les trois souris et enfin le quatrième essai par les trois souris. A la fin des 4 essais, les souris sont laissées sous la lampe chauffante pendant 10 à 15 minutes. Durant la phase d'acquisition, nous analysons la latence d'accès à la plate-forme, la distance parcourue avant d'atteindre la plate-forme, la vitesse de nage et le comportement de thigmotaxie. La thigmotaxie est définie comme une tendance à rester le long des parois du dispositif (délimitation virtuelle d'une zone d'environ 10 cm de large) et représente un indice de la motivation et de l'anxiété de la Souris. Si la Souris se rappelle l'emplacement de la plate-forme d'un jour à l'autre, elle mettra de moins en moins de temps à y accéder (*cf.* Figure 73). Dans nos protocoles expérimentaux, nous réalisons entre 3 et 5 jours d'acquisition en fonction de l'expérience. Un protocole ne comprenant que 3 jours d'acquisition permet un rappel sur une durée allant jusqu'à 10 jours environ, on parle d'apprentissage faible, tandis qu'un protocole comprenant 5 jours d'acquisition permet un rappel allant jusqu'à un mois. Ces chiffres sont donnés pour des souris WT jeunes adultes. Si l'expérience est réalisée avec des souris âgées ou des souris transgéniques, des mises au point sont à réaliser.



Enfin, la dernière phase du test de la piscine de Morris est **le test de rétention**, ou « *probe trial* ». Il nous permet d'évaluer le souvenir de la localisation de la plate-forme. Il est réalisé à un délai plus ou moins long en fonction des expériences. Durant cette phase, la plate-forme est retirée du dispositif et la Souris est introduite au centre de la piscine et y est laissée pour une session unique de 60 secondes. Nous évaluons le comportement de recherche de la plate-forme. Pour ce faire, la piscine est divisée en 4 quadrant virtuels : le quadrant cible, c'est-à-dire celui qui contenait la plate-forme au cours de l'acquisition (représenté en bleu sur la Figure 74), et les trois autres quadrants (représentés en vert sur la Figure 74). Si la Souris se souvient de l'emplacement de la plate-forme (cf. Figure 74A), elle passera plus de temps dans le quadrant cible que dans les 3 autres quadrants : elle présentera un biais de recherche pour le quadrant cible. A l'inverse, si la souris ne se rappelle pas l'emplacement de la plate-forme, elle nagera aléatoirement dans les différents quadrants, sans présenter de biais de recherche (cf. Figure 74B).



D'un point de vue statistique, le rappel est évaluée en comparant le temps passé dans le quadrant cible avec le niveau du hasard, c'est-à-dire le temps que la Souris passe dans les différents quadrants si elle se comporte de manière erratique. Le test de rétention dure 60 secondes, la piscine est divisée en 4 quadrant, le niveau du hasard pour chaque quadrant est donc de 15 secondes ($60/4=15$).

PUBLICATION 4

ACETYLTRANSFERASES (HATs) AS TARGETS FOR NEUROLOGICAL THERAPEUTICS

Schneider A, Chatterjee S, Bousiges O, Selvi BR, Swaminathan A,
Cassel R, Blanc F, Kundu TK, Boutillier AL.

Neurotherapeutics, 2013 Oct; 10(4):568-88.

doi: 10.1007/s13311-013-0204-7.

CIBLER LES HISTONES ACÉTYLTRANSFERASES COMME TRAITEMENT DES MALADIES NEUROLOGIQUES

L'objectif de cette revue est de discuter de l'utilité thérapeutique de nouvelles molécules capables d'augmenter le niveau d'acétylation en activant les histones acétyltransférases (HATs). L'acétylation des histones et des protéines non-histones est impliquée dans la régulation des fonctions cellulaires dans l'ensemble de l'organisme, y compris dans le cerveau. L'acétylation est régulée par les HATs et les histones déacétylases (HDACs). L'acétylation des histones au niveau de certains résidus est responsable de la modulation de l'état de la chromatine mais aussi de la régulation de la transcription de gènes nécessaire au processus de mémorisation. De nombreuses données suggèrent qu'un déséquilibre entre l'activité des HATs et des HDACs pourrait être impliqué dans le développement des maladies neurologiques. Les inhibiteurs des HDACs ont été testés sur un grand nombre de maladies neurologiques et ont un effet bénéfique important sur le développement de ces maladies et sur la restauration des capacités mnésiques. La découverte de molécules capables d'activer les HATs *in vivo* ouvre un nouvel horizon d'étude des régulations épigénétiques dans les maladies neurologiques, notamment celles affectant les processus mnésiques.

Abstract The acetylation of histone and non-histone proteins controls a great deal of cellular functions, thereby affecting the entire organism, including the brain. Acetylation modifications are mediated through histone acetyltransferases (HAT) and deacetylases (HDAC), and the balance of these enzymes regulates neuronal homeostasis, maintaining the pre-existing acetyl marks responsible for the global chromatin structure, as well as regulating specific dynamic acetyl marks that respond to changes and facilitate neurons to encode and strengthen long term events in the brain circuitry (e.g., memory formation). Unfortunately, the dysfunction of these finely-tuned regulations might lead to pathological conditions, and the deregulation of the HAT/HDAC balance has been implicated in neurological disorders. During the last decade, research has focused on HDAC inhibitors that induce a histone hyperacetylated state to compensate acetylation deficits. The use of these inhibitors as a therapeutic option was efficient in several animal models of neurological disorders. The elaboration of new cell-permeant HAT activators opens a new era of research on acetylation regulation. Although pathological animal models have not been tested yet, HAT activator molecules have already proven to be beneficial in ameliorating brain functions associated with learning and memory, and adult neurogenesis in wild-type animals. Thus, HAT activator molecules contribute to an exciting area of research.

PUBLICATION 5

THE MATCH/MISMATCH OF VISUO-SPATIAL CUES BETWEEN ACQUISITION AND RETRIEVAL CONTEXTS INFLUENCES THE EXPRESSION OF RESPONSE VS. PLACE MEMORY IN RATS

Cassel R, Kelche C, Lecourtier L, Cassel JC.

Behavioral Brain Research, 2012 May 1;230(2):333-42.

doi: 10.1016/j.bbr.2012.02.021.

LA SIMILITUDE DES INDICES VISUO-SPATIAUX ENTRE LES CONTEXTES D'ACQUISITION ET DE RAPPEL INFLUENCE L'ENGAGEMENT DE LA MEMOIRE PROCEDURALE OU SPATIALE CHEZ LE RAT

Ce travail a été réalisé au cours de mon stage de Master 2 et porte sur l'implication du striatum dorsolatéral (STRdl) et de l'hippocampe dorsal (HIPd) dans l'apprentissage d'une mémoire procédurale chez le Rat, à l'aide d'un nouveau test aquatique élaboré au LNCA : le labyrinthe en Double-H (DH). Pour atteindre un but précis dans un contexte spatial, l'Homme (comme l'animal) dispose de deux types de stratégies se basant sur deux systèmes de mémoire : une stratégie allocentrée, dépendante de l'HIPd et reposant sur une carte spatiale mettant en relation les indices spatiaux de l'environnement, et une stratégie égocentrée, qui dépend du striatum et repose sur une mémoire procédurale centrée sur l'individu. L'étude de la relation entre ces deux stratégies a montré que l'utilisation d'une stratégie allocentrée inhibe l'utilisation d'une stratégie égocentrée et *vice versa*, mais la relation qui lie ces deux stratégies n'est pas clairement élucidée. Nos résultats suggèrent que les deux stratégies sont utilisées en parallèle au cours de l'acquisition, et que le contexte spatial dans lequel le test de rétention à lieu influence la stratégie que l'animal va utiliser. Si le contexte est semblable à celui de la situation d'acquisition, la mémoire procédurale (moins coûteuse en termes de capacités cognitives) suffit à atteindre le but et sera utilisée en priorité, ce qui se traduit par un engagement du STRdl. Par contre, dans le cas où le contexte diffère fortement, l'HIPd prend le relai et est engagé afin d'assurer une réponse adaptée à la nouvelle situation (utilisation de la carte spatiale pour s'orienter/se réorienter dans l'environnement).

Abstract Animals can perform goal-directed tasks by using response cues or place cues. The underlying memory systems are occasionally presented as competing. Using the double-H maze test (Pol-Bodetto et al.), we trained rats for response learning and, 24 h later, tested their memory in a 60-s probe trial using a new start place. A modest shift of the start place (translation: 60-cm to the left) provided a high misleading potential, whereas a marked shift (180° rotation; shift to the opposite) provided a low misleading potential. We analyzed each rat's first arm choice (to assess response vs. place memory retrieval) and its subsequent search for the former platform location (to assess the persistence in place memory or the shift from response to place memory). After the translation, response memory-based behavior was found in more than 90% rats (24/26). After the rotation, place memory-based behavior was observed in 50% rats, the others showing response memory or failing. Rats starting to use response cues were nevertheless able to subsequently shift to place ones. A posteriori behavioral analyses showed more and longer stops in rats starting their probe trial on the basis of place (vs. response) cues. These observations qualify the idea of competing memory systems for responses and places and are compatible with that of a cooperation between both systems according to principles of match/mismatch computation (at the start of a probe trial) and of error-driven adjustment (during the ongoing probe trial).

PUBLICATION 6

DORSAL HIPPOCAMPUS AND MEDIAL PREFRONTAL CORTEX EACH CONTRIBUTE TO THE RETRIEVAL OF A RECENT SPATIAL MEMORY IN RATS

Cholvin T, Loureiro M, Cassel R, Cosquer B, Geiger K, Kelche C, Cassel JC, Pereira de Vasconcelos

A

En révision pour Brain Structure and Function.

L'HIPPOCAMPE DORSAL ET LE CORTEX PREFRONTAL MEDIAN CONTRIBUENT TOUS DEUX AU RAPPEL D'UNE MEMOIRE RECENTE CHEZ LE RAT

Cette publication avait pour objectif d'étudier le rôle du cortex préfrontal médian (mPFC) dans le rappel d'une mémoire récente chez le Rat. Le rôle du mPFC dans le rappel d'une mémoire ancienne est aujourd'hui accepté, mais sa participation dans le rappel d'une mémoire récente est toujours discutée. Nous avons évalué l'impact de l'inactivation du mPFC ou de l'hippocampe (HIP) dorsal sur le rappel à 24h d'une mémoire de référence dans la piscine de Morris. Le muscimol (MSCI, 30, 50, 80 et 250 ng) a été instillé bilatéralement 30 min avant le test de rappel. Dans l'HIP dorsal, la dose de 50 ng de MSCI altère les performances de rappel, et aux doses supérieures (80 et 250 ng), les rats ne présentent aucun souvenir de l'emplacement de la plate-forme. Instillée dans le mPFC, seule la dose de 250 ng de MSCI empêche le rappel. Cette dernière dose peut être considérée comme relativement faible, en comparaison des concentrations utilisées dans la littérature (couramment 2 à 4 fois supérieures), et la zone de diffusion du MSCI est restreinte à la région cible. Cette étude suggère ainsi un rôle du mPFC dans le rappel d'une mémoire spatiale récente, en accord avec une partie de la littérature qui indique l'implication de cette structure dans la sélection de stratégie, la navigation orientée vers un but et l'adaptation au contexte, et ce quel que soit l'âge de la mémoire.

Abstract Systems-level consolidation models propose that recent memories are initially hippocampus-dependent. When remote, they have become partially or completely dependent upon the medial prefrontal cortex (mPFC). A possible implication of the mPFC in recent memory, however, is still debated. Different amounts of muscimol (MSCI: 0, 30, 50, 80 and 250 ng in 1 μ L PBS) were used to assess the impact of inactivation of the dorsal hippocampus (dHip) or the mPFC on a 24-h delayed retrieval of a platform location that rats had learned drug-free in a water-maze. The smallest amount of MSCI (30 ng) had no effect on recall, whatever the region. A MSCI amount of 50 ng infused into the dHip disrupted spatial memory retrieval, as did all larger amounts. Infusions of MSCI into the mPFC did not alter performance in the 0-80 ng range. At 250 ng, it induced an as dramatic memory impairment as after efficient dHip inactivation. Stereological quantifications showed that 80ng MSCI in the dorsal hippocampus and 250 ng MSCI in the mPFC induced a more than 80% reduction of c-Fos expression, suggesting that, beyond the amounts infused, it is the magnitude of the neuronal activity decrease which is determinant as to the functional outcome of the inactivation. Because, based on the literature, 250 ng MSCI can be considered a small amount, our results point to a contribution of the mPFC to the recall of a recently-acquired spatial memory and thereby add to our knowledge about the functions of this major actor of cognition.

PUBLICATION 7

THE VENTRAL MIDLINE THALAMUS CONTRIBUTES TO STRATEGY SHIFTING IN A MEMORY TASK REQUIRING BOTH PREFRONTAL AND HIPPOCAMPAL FUNCTIONS

Cholvin T*, Loureiro M*, Cassel R*, Cosquer B, Geiger K, De Sa Nogueira D, Raingard H,
Robelin L, Kelche C, Pereira de Vasconcelos A, Cassel JC. *Equal contributors.

Journal of Neuroscience, 2013 May 15; 33(20):8772-83.

doi: 10.1523/JNEUROSCI.0771-13.2013.

LES NOYAUX VENTRAUX DE LA LIGNE MEDIANE DU THALAMUS CONTRIBUENT AU CHANGEMENT DE STRATEGIE DANS UNE TACHE MNESIQUE NECESSITANT A LA FOIS LE CORTEX FRONTAL ET L'HIPPOCAMPE

Cette publication avait pour but d'étudier le rôle des noyaux Reuniers (Re) et Rhomboïde (Rh) du thalamus dans une tâche nécessitant une flexibilité comportementale lors du rappel d'une mémoire spatiale récente (24h). Un nouveau test spatial, le labyrinthe en Double-H (DH), permet d'étudier la capacité de passer d'une approche égocentrique à une approche allocentrique en cours de tâche (changement de stratégie). Le rôle des noyaux ReRh, de l'hippocampe dorsal (HIPd) et du cortex préfrontal médian (mPFC) au cours du rappel a été évalué à l'aide d'inactivations réversibles au muscimol (0,26 et 0,70 nmol). Le HIPd joue un rôle majeur dans la navigation spatiale, et le mPFC est impliqué dans le changement de stratégie. L'inactivation du HIPd ou du mPFC altère ainsi les performances de rappel dans ce nouveau test ; il en va de même pour l'inactivation des noyaux ReRh. Nous avons également évalué l'effet de l'inactivation de ces structures au cours d'un test de rétention à 24h dans la piscine de Morris. Dans ce cas, seule l'inactivation du HIPd empêche le rappel ; l'inactivation du mPFC n'altère pas les performances, et celle des noyaux ReRh affecte légèrement les performances de rappel, mais sans empêcher celui-ci. Ces résultats indiquent que le rappel d'une information spatiale dans une situation nécessitant une flexibilité comportementale, implique à la fois l'HIPd et le mPFC mais nécessite également les noyaux ReRh du thalamus.

Abstract Electrophysiological and neuroanatomical evidence for reciprocal connections with the medial prefrontal cortex (mPFC) and the hippocampus make the reuniens and rhomboid (ReRh) thalamic nuclei a putatively major functional link for regulations of corticohippocampal interactions. In a first experiment using a new water escape device for rodents, the double-H maze, we demonstrated in rats that a bilateral muscimol (MSCI) inactivation (0.70 vs 0.26 and 0 nmol) of the mPFC or dorsal hippocampus (dHip) induces major deficits in a strategy shifting/spatial memory retrieval task. By way of comparison, only dHip inactivation impaired recall in a classical spatial memory task in the Morris water maze. In the second experiment, we showed that ReRh inactivation using 0.70 nmol of MSCI, which reduced performance without obliterating memory retrieval in the water maze, produces an as large strategy shifting/memory retrieval deficit as mPFC or dHip inactivation in the double-H maze. Thus, behavioral adaptations to task contingency modifications requiring a shift toward the use of a memory for place might operate in a distributed circuit encompassing the mPFC (as the potential set-shifting structure), the hippocampus (as the spatial memory substrate), and the ventral midline thalamus, and therein the ReRh (as the coordinator of this processing). The results of the current experiments provide a significant extension of our understanding of the involvement of ventral midline thalamic nuclei in cognitive processes: they point to a role of the ReRh in strategy shifting in a memory task requiring cortical and hippocampal functions and further elucidate the functional system underlying behavioral flexibility.

PUBLICATION 8

DORSOLATERAL STRIATUM AND DORSAL HIPPOCAMPUS: A SERIAL CONTRIBUTION TO ACQUISITION OF CUE-REWARD ASSOCIATIONS IN RATS.

Jacquet M, Lecourtier L, Cassel R, Loureiro M, Cosquer B, Escoffier G, Migliorati M, Cassel JC,
Romana FS, Marchetti E.

Behavioural Brain Research, 239 (2013) 94–103.

doi: 10.1016/j.bbr.2012.10.061.

LE STRIATUM DORSOLATERAL ET L'HIPPOCAMPE DORSAL CONTRIBUENT DE MANIERE SERIELLE A L'ACQUISITION D'ASSOCIATIONS INDICE-RECOMPENSE CHEZ LE RAT

Cette publication est issue d'une collaboration avec le Dr Jacquet, du laboratoire de neurobiologie des interactions cellulaires et neurophysiopathologie (UMR7259, Marseille). Dans le cadre de mon stage de master, nous avons effectué les lésions excitotoxiques de l'hippocampe dorsal (HIPd) ou du striatum dorso-latéral (STRdl) chez le Rat, ainsi que les vérifications histologiques de l'étendue des lésions qui sont décrites dans cette publication. Le but de cette étude était d'étudier le rôle du STRdl et de l'HIPd dans l'apprentissage d'une tâche d'association olfactive. Des lésions excitotoxiques (acide iboténique) de l'HIPd ou du STRdl ont été réalisées avant que les animaux ne soient entraînés dans une tâche impliquant la mise en place d'une mémoire associative (dépendante de l'HIPd, association odeur – récompense) et d'une mémoire procédurale (dépendante du STRdl, apprendre des séquences comportementales amenant à l'obtention d'une récompense). Les résultats obtenus suggèrent que le STRdl est impliqué dans l'acquisition des règles de la tâche (les réponses comportementales à réaliser) alors que l'HIPd est nécessaire pour l'acquisition de l'association entre un stimulus et la récompense qui y est associée.

Abstract In laboratory rodents, procedural and declarative-like memory processes are often considered operating in dual, sometimes even competing with each other. There is evidence that the initial approach of a repetitive task first engages a hippocampus-dependent declarative-like memory system acquiring knowledge. Over repetition, there is a gradual shift towards a striatum-dependent response memory system. In the current experiment, Long-Evans male rats with bilateral, fiber-sparing ibotenic acid induced lesions of the dorsolateral striatum or the dorsal hippocampus were trained in an olfactory associative task requiring the acquisition of both a procedural and a declarative-like memory. Rats with dorsolateral striatum lesions, and thus an intact hippocampus, were impaired on both sub-categories of memory performance. Rats with dorsal hippocampal lesions exhibited a substantial deficit in learning the declarative-like cue-reward associations, while the acquisition of the procedural memory component of the task was not affected. These data suggest that the dorsolateral striatum is required to acquire the task rule while the dorsal hippocampus is required to acquire the association between a given stimulus and its associated outcome. The finding is that the dorsolateral striatum and the dorsal hippocampus most probably contribute to successful learning of cue-reward associations in a sequential (from procedural to declarative-like memory) order using this olfactory associative learning task.

PUBLICATION 9

MULTIFUNCTIONAL CHROMATIN ORGANIZING PROTEIN, PC4 IS CRITICAL FOR BRAIN PLASTICITY

Swaminathan A¹, Delage H², Chatterjee S³, Dutron L², Cassel R³, Martinez N², Cosquer B³,
Kumari S¹, Mongelard F², Lannes B⁴, Cassel JC³, Boutillier AL³, Bouvet P², Kundu TK¹.

¹ Transcription and Disease Laboratory, Molecular Biology and Genetics Unit, Jawaharlal Nehru
Centre for Advanced Scientific Research, Jakkur P.O, Bangalore-560064, India.

² Laboratoire Joliot-Curie - Ecole Normale Supérieure de Lyon, CNRS USR 3010, 69364 Lyon, France.

³ Laboratoire de Neurosciences Cognitives et Adaptatives (LNCA), UMR7364, Université de
Strasbourg-CNRS, GDR CNRS 2905, Faculté de Psychologie, 12 rue Goethe, 67000, France.

⁴ Département de Pathologie, Hôpital de Hautepierre, Université de Strasbourg, France.

Publication soumise à Nature communications

PC4, UNE PROTEINE IMPLIQUEE DANS L'ORGANISATION DE LA CHROMATINE, EST INDISPENSABLE A LA PLASTICITE CEREBRALE

Cette étude a été réalisée dans le cadre d'une collaboration avec le Pr. Kundu (*Transcription and Disease Laboratory, Molecular Biology and Genetics Unit, Bangalore, Inde*). J'ai participé à la réalisation d'une partie des études comportementales, au traitement des données expérimentales et aux analyses statistiques. PC4 est une protéine associée à la chromatine qui régule les interactions fonctionnelles ayant lieu entre l'ADN et les protéines de la machinerie transcriptionnelle. Nous avons observé que les souris PC4 KO présentent des troubles d'extinction en mémoire spatiale, c'est-à-dire que malgré la répétition des tests de rétention, les souris PC4 KO persistent à chercher la plate-forme là où elle se trouvait au cours de l'acquisition, tandis que les souris WT n'expriment plus de préférence de place pour le quadrant cible. L'analyse de l'expression des gènes dans l'hippocampe dorsal des souris PC4 KO a révélé des dérégulations de l'expression de différents gènes impliqués dans la plasticité synaptique. Cette étude est la première à montrer l'implication de protéines associées à la chromatine dans les processus de plasticité neuronale.

Abstract The highly abundant, multifunctional, chromatin-associated protein and transcriptional coactivator PC4 is absolutely critical for life, as its absence leads to embryonic lethality. Here, we report results obtained with conditional PC4 mouse knockout mice. These mice show specific defects in spatial memory extinction, while their viability, fertility and motricity are normal. Gene expression analysis of the dorsal hippocampus of the knockout mice, which was performed to explain these specific defects, revealed dysregulated expression of several neural function-associated genes. Here, we report a unique finding regarding the involvement of a chromatin-associated protein in neuronal plasticity.

BIBLIOGRAPHIE

- A -

- Abel T, Kandel E (1998) Positive and negative regulatory mechanisms that mediate long-term memory storage. *Brain Res Brain Res Rev* 26:360–378.
- Abel T, Zukin R (2008) Epigenetic targets of HDAC inhibition in neurodegenerative and psychiatric disorders. *Current Opinion in Pharmacology* 8:57–64.
- Aberg MA, Aberg ND, Hedbäcker H, Oscarsson J, Eriksson PS (2000) Peripheral infusion of IGF-I selectively induces neurogenesis in the adult rat hippocampus. *J Neurosci* 20:2896–2903.
- Aggleton JP (2014) Looking beyond the hippocampus: old and new neurological targets for understanding memory disorders. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 281:20140565–20140565.
- Aggleton JP, Pearce JM (2001) Neural systems underlying episodic memory: insights from animal research. *Philos Trans R Soc Lond, B, Biol Sci* 356:1467–1482.
- Aimone JB, Deng W, Gage FH (2010) Adult neurogenesis: integrating theories and separating functions. *Trends Cogn Sci (Regul Ed)* 14:325–337.
- Akhtar MW, Raingo J, Nelson ED, Montgomery RL, Olson EN, Kavalali ET, Monteggia LM (2009) Histone Deacetylases 1 and 2 Form a Developmental Switch That Controls Excitatory Synapse Maturation and Function. *Journal of Neuroscience* 29:8288–8297.
- Alarcón JM, Malleret G, Touzani K, Vronskaya S, Ishii S, Kandel ER, Barco A (2004) Chromatin Acetylation, Memory, and LTP Are Impaired in CBP^{+/−} Mice: A Model for the Cognitive Deficit in Rubinstein-Taybi Syndrome and Its Amelioration. *Neuron* 42:947–959.
- Alvarez P, Squire LR (1994) Memory consolidation and the medial temporal lobe: a simple network model. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 91:7041–7045.
- Amir RE, Van den Veyver IB, Wan M, Tran CQ, Francke U, Zoghbi HY (1999) Rett syndrome is caused by mutations in X-linked MECP2, encoding methyl-CpG-binding protein 2. *Nat Genet* 23:185–188.
- Andersen P Richard Morris, David Amaral, Tim Bliss, John O'Keefe (2007) *The hippocampus book*. Oxford; New York: Oxford University Press.
- Anderton BH (1997) Changes in the ageing brain in health and disease. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B: Biological Sciences* 352:1781–1792.
- Ando K, Kabova A, Stygelbout V, Leroy K, Heraud C, Frédérick C, Suain V, Yilmaz Z, Authélet M, Dedecker R, Potier M-C, Duyckaerts C, Brion J-P (2014) Vaccination with Sarkosyl insoluble PHF-tau decrease neurofibrillary tangles formation in aged tau transgenic mouse model: a pilot study. *J Alzheimers Dis* 40 Suppl 1:S135–145.
- Arendt T (2009) Synaptic degeneration in Alzheimer's disease. *Acta Neuropathologica* 118:167–179.
- Arnold DH, Johnston A (2003) Motion-induced spatial conflict. *Nature* 425:181–184.
- Arruda-Carvalho M, Sakaguchi M, Akers KG, Josselyn SA, Frankland PW (2011) Posttraining Ablation of Adult-Generated Neurons Degrades Previously Acquired Memories. *Journal of Neuroscience* 31:15113–15127.

Astur RS, Taylor LB, Mamelak AN, Philpott L, Sutherland RJ (2002) Humans with hippocampus damage display severe spatial memory impairments in a virtual Morris water task. *Behavioural brain research* 132:77–84.

Atkinson RC, Shiffrin RM (1971) The control of short-term memory. *Sci Am* 225:82–90.

Avila J, Gómez de Barreda E, Engel T, Lucas JJ, Hernández F (2010) Tau phosphorylation in hippocampus results in toxic gain-of-function. *Biochemical Society Transactions* 38:977.

- B -

Babiec WE, Guglietta R, Jami SA, Morishita W, Malenka RC, O'Dell TJ (2014) Ionotropic NMDA receptor signaling is required for the induction of long-term depression in the mouse hippocampal CA1 region. *J Neurosci* 34:5285–5290.

Backs J, Song K, Bezprozvannaya S, Chang S, Olson EN (2006) CaM kinase II selectively signals to histone deacetylase 4 during cardiomyocyte hypertrophy. *J Clin Invest* 116:1853–1864.

Baddeley null (2000) The episodic buffer: a new component of working memory? *Trends Cogn Sci (Regul Ed)* 4:417–423.

Bailey CH, Kandel ER, Si K (2004) The persistence of long-term memory: a molecular approach to self-sustaining changes in learning-induced synaptic growth. *Neuron* 44:49–57.

Balasubramanyam K, Swaminathan V, Ranganathan A, Kundu TK (2003) Small Molecule Modulators of Histone Acetyltransferase p300. *Journal of Biological Chemistry* 278:19134–19140.

Ballatore C, Brunden KR, Huryn DM, Trojanowski JQ, Lee VM-Y, Smith AB (2012) Microtubule Stabilizing Agents as Potential Treatment for Alzheimer's Disease and Related Neurodegenerative Tauopathies. *Journal of Medicinal Chemistry* 55:8979–8996.

Ballatore C, Lee VM-Y, Trojanowski JQ (2007) Tau-mediated neurodegeneration in Alzheimer's disease and related disorders. *Nature Reviews Neuroscience* 8:663–672.

Balu DT, Lucki I (2009) Adult hippocampal neurogenesis: regulation, functional implications, and contribution to disease pathology. *Neurosci Biobehav Rev* 33:232–252.

Barco A (2007) The Rubinstein-Taybi syndrome: modeling mental impairment in the mouse. *Genes Brain Behav* 6 Suppl 1:32–39.

Barco A, Alarcon JM, Kandel ER (2002) Expression of constitutively active CREB protein facilitates the late phase of long-term potentiation by enhancing synaptic capture. *Cell* 108:689–703.

Barco A, Lopez de Armentia M, Alarcon JM (2008) Synapse-specific stabilization of plasticity processes: the synaptic tagging and capture hypothesis revisited 10 years later. *Neurosci Biobehav Rev* 32:831–851.

Barneda-Zahonero B, Parra M (2012) Histone deacetylases and cancer. *Molecular Oncology* 6:579–589.

Barrett RM, Malvaez M, Kramar E, Matheos DP, Arrizon A, Cabrera SM, Lynch G, Greene RW, Wood MA (2011) Hippocampal focal knockout of CBP affects specific histone modifications, long-term potentiation, and long-term memory. *Neuropsychopharmacology* 36:1545–1556.

Barrett RM, Wood MA (2008) Beyond transcription factors: The role of chromatin modifying enzymes in regulating transcription required for memory. *Learning & Memory* 15:460–467.

- Bateman RJ, Munsell LY, Morris JC, Swarm R, Yarasheski KE, Holtzman DM (2006) Human amyloid- β synthesis and clearance rates as measured in cerebrospinal fluid in vivo. *Nature Medicine* 12:856–861.
- Baumann K, Mandelkow EM, Biernat J, Piwnica-Worms H, Mandelkow E (1993) Abnormal Alzheimer-like phosphorylation of tau-protein by cyclin-dependent kinases cdk2 and cdk5. *FEBS Lett* 336:417–424.
- Bear MF, Malenka RC (1994) Synaptic plasticity: LTP and LTD. *Curr Opin Neurobiol* 4:389–399.
- Beaunieux H, Eustache F, Busson P, de la Sayette V, Viader F, Desgranges B (2012) Cognitive procedural learning in early Alzheimer's disease: impaired processes and compensatory mechanisms. *J Neuropsychol* 6:31–42.
- Bekinschtein P, Cammarota M, Igaz LM, Bevilaqua LRM, Izquierdo I, Medina JH (2007) Persistence of Long-Term Memory Storage Requires a Late Protein Synthesis- and BDNF- Dependent Phase in the Hippocampus. *Neuron* 53:261–277. Cunha
- Bekinschtein P, Cammarota M, Izquierdo I, Medina JH (2008a) BDNF and memory formation and storage. *Neuroscientist* 14:147–156.
- Bekinschtein P, Cammarota M, Katche C, Slipczuk L, Rossato JI, Goldin A, Izquierdo I, Medina JH (2008b) BDNF is essential to promote persistence of long-term memory storage. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 105:2711–2716.
- Bekinschtein P, Kent BA, Oomen CA, Clemenson GD, Gage FH, Saksida LM, Bussey TJ (2014) Brain-derived neurotrophic factor interacts with adult-born immature cells in the dentate gyrus during consolidation of overlapping memories. *Hippocampus* 24:905–911.
- Belarbi K et al. (2011a) Beneficial effects of exercise in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease-like Tau pathology. *Neurobiology of Disease* 43:486–494.
- Belarbi K, Burnouf S, Fernandez-Gomez F-J, Desmercières J, Troquier L, Brouillette J, Tsambou L, Grosjean M-E, Caillierez R, Demeyer D, Hamdane M, Schindowski K, Blum D, Buée L (2011b) Loss of medial septum cholinergic neurons in THY-Tau22 mouse model: what links with tau pathology? *Curr Alzheimer Res* 8:633–638.
- Belarbi K, Schindowski K, Burnouf S, Caillierez R, Grosjean M-E, Demeyer D, Hamdane M, Sergeant N, Blum D, Buée L (2009) Early Tau pathology involving the septo-hippocampal pathway in a Tau transgenic model: relevance to Alzheimer's disease. *Curr Alzheimer Res* 6:152–157.
- Belnoue L, Grosjean N, Ladevèze E, Abrous DN, Koehl M (2013) Prenatal stress inhibits hippocampal neurogenesis but spares olfactory bulb neurogenesis. *PLoS ONE* 8:e72972.
- Berg L, McKeel DW Jr, Miller JP, Storandt M, Rubin EH, Morris JC, Baty J, Coats M, Norton J, Goate AM, Price JL, Gearing M, Mirra SS, Saunders AM (1998) Clinicopathologic studies in cognitively healthy aging and Alzheimer's disease: relation of histologic markers to dementia severity, age, sex, and apolipoprotein E genotype. *Arch Neurol* 55:326–335.
- Berndsen CE, Denu JM (2008) Catalysis and substrate selection by histone/protein lysine acetyltransferases. *Current Opinion in Structural Biology* 18:682–689.
- Bertram L, McQueen MB, Mullin K, Blacker D, Tanzi RE (2007) Systematic meta-analyses of Alzheimer disease genetic association studies: the AlzGene database. *Nature Genetics* 39:17–23.

- Biernat J, Gustke N, Drewes G, Mandelkow EM, Mandelkow E (1993) Phosphorylation of Ser262 strongly reduces binding of tau to microtubules: distinction between PHF-like immunoreactivity and microtubule binding. *Neuron* 11:153–163.
- Binder DK, Scharfman HE (2004) Brain-derived neurotrophic factor. *Growth Factors* 22:123–131.
- Biswas SC, Liu DX, Greene LA (2005) Bim is a direct target of a neuronal E2F-dependent apoptotic pathway. *J Neurosci* 25:8349–8358.
- Bito H, Deisseroth K, Tsien RW (1996) CREB phosphorylation and dephosphorylation: a Ca(2+)- and stimulus duration-dependent switch for hippocampal gene expression. *Cell* 87:1203–1214.
- Black JC, Mosley A, Kitada T, Washburn M, Carey M (2008) The SIRT2 Deacetylase Regulates Autoacetylation of p300. *Molecular Cell* 32:449–455.
- Blennow K, de Leon MJ, Zetterberg H (2006) Alzheimer's disease. *Lancet*. 29;368(9533):387-403.
- Bons N, Mestre N, Petter A (1992) Senile plaques and neurofibrillary changes in the brain of an aged lemurian primate, *Microcebus murinus*. *Neurobiol Aging* 13:99–105.
- Bons N, Rieger F, Prudhomme D, Fisher A, Krause K-H (2006) *Microcebus murinus*: a useful primate model for human cerebral aging and Alzheimer's disease? *Genes Brain Behav* 5:120–130.
- Bontempi B, Laurent-Demir C, Destrade C, Jaffard R (1999) Time-dependent reorganization of brain circuitry underlying long-term memory storage. *Nature* 400:671–675.
- Bordoli L, Hüsler S, Lüthi U, Netsch M, Osmani H, Eckner R (2001) Functional analysis of the p300 acetyltransferase domain: the PHD finger of p300 but not of CBP is dispensable for enzymatic activity. *Nucleic Acids Res* 29:4462–4471.
- Bousiges O, Neidl R, Majchrzak M, Muller M-A, Barbelivien A, Pereira de Vasconcelos A, Schneider A, Loeffler J-P, Cassel J-C, Boutillier A-L (2013) Detection of histone acetylation levels in the dorsal hippocampus reveals early tagging on specific residues of H2B and H4 histones in response to learning. *PLoS ONE* 8:e57816.
- Bousiges O, Vasconcelos AP de, Neidl R, Cosquer B, Herbeaux K, Panteleeva I, Loeffler J-P, Cassel J-C, Boutillier A-L (2010) Spatial memory consolidation is associated with induction of several lysine-acetyltransferase (histone acetyltransferase) expression levels and H2B/H4 acetylation-dependent transcriptional events in the rat hippocampus. *Neuropsychopharmacology* 35:2521–2537.
- Boutillier A-L, Trinh E, Loeffler J-P (2003) Selective E2F-dependent gene transcription is controlled by histone deacetylase activity during neuronal apoptosis. *Journal of neurochemistry* 84:814–828.
- Braak H, Braak E (1991) Neuropathological staging of Alzheimer-related changes. *Acta Neuropathol* 82:239–259.
- Braak E, Braak H, Mandelkow (1994) A sequence of cytoskeleton changes related to the formation of neurofibrillary tangles and neuropil threads *Acta Neuropathol* 87(6):554-67
- Braak H, Alafuzoff I, Arzberger T, Kretschmar H, Tredici K (2006) Staging of Alzheimer disease-associated neurofibrillary pathology using paraffin sections and immunocytochemistry. *Acta Neuropathologica* 112:389–404.
- Bramblett GT, Goedert M, Jakes R, Merrick SE, Trojanowski JQ, Lee VM (1993) Abnormal tau phosphorylation at Ser396 in Alzheimer's disease recapitulates development and contributes to reduced microtubule binding. *Neuron* 10:1089–1099.

- Brandt R, Hundelt M, Shahani N (2005) Tau alteration and neuronal degeneration in tauopathies: mechanisms and models. *Biochim Biophys Acta* 1739:331–354.
- Bredy TW, Wu H, Crego C, Zellhoefer J, Sun YE, Barad M (2007) Histone modifications around individual BDNF gene promoters in prefrontal cortex are associated with extinction of conditioned fear. *Learning & Memory* 14:268–276.
- Brion JP, Couck AM, Passareiro E, Flament-Durrand J (1985) Neurofibrillary tangles of Alzheimer's disease: an immunohistochemical study. *J Submicrosc Cytol.* 17(1):89-96.
- Brion JP (1999) Neurofibrillary tangles and early modification of the neuronal cytoskeleton in Alzheimer's disease and in experimental models. *Bull Mem Acad R Med Belg* 154:287–294.
- Brion JP, Anderton BH, Authelet M, Dayanandan R, Leroy K, Lovestone S, Octave JN, Pradier L, Touchet N, Tremp G (2001) Neurofibrillary tangles and tau phosphorylation. *Biochem Soc Symp*:81–88.
- Brion JP, Ando K, Heraud C, Leroy K (2010) Modulation of tau pathology in tau transgenic models. *Biochem Soc Trans* 38:996–1000.
- Brion JP (2006) Immunological demonstration of tau protein in neurofibrillary tangles of Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis* 9:177–185.
- Brusilow SW, Maestri NE (1996) Urea cycle disorders: diagnosis, pathophysiology, and therapy. *Adv Pediatr* 43:127–170.
- Buée L, Bussièrè T, Buée-Scherrer V, Delacourte A, Hof PR (2000) Tau protein isoforms, phosphorylation and role in neurodegenerative disorders. *Brain Res Brain Res Rev* 33:95–130.
- Buée L, Delacourte A (2006) Tauopathie et maladie d'Alzheimer, un processus dégénératif à part entière. *Psychologie & NeuroPsychiatrie du vieillissement* 4:261–273.
- Bunker JM, Kamath K, Wilson L, Jordan MA, Feinstein SC (2006) FTDP-17 mutations compromise the ability of tau to regulate microtubule dynamics in cells. *J Biol Chem* 281:11856–11863.
- Burnouf S, Belarbi K, Troquier L, Derisbourg M, Demeyer D, Leboucher A, Laurent C, Hamdane M, Buee L, Blum D (2012) Hippocampal BDNF expression in a tau transgenic mouse model. *Curr Alzheimer Res* 9:406–410.
- Butler SM., Ashford JW, Snowdon DA (1996) Age, education, and changes in the Mini-Mental State Exam scores of older women: findings from the Nun Study. *J Am Geriatr Soc.* 44(6):675-81
- Butner K, Kirschner MW (1991) Tau protein binds to microtubules through a flexible array of distributed weak sites. *The Journal of cell biology* 115:717–730.

- C -

-
- Caccamo A, Maldonado MA, Bokov AF, Majumder S, Oddo S (2010) CBP gene transfer increases BDNF levels and ameliorates learning and memory deficits in a mouse model of Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 107:22687–22692.
- Caceres A, Kosik KS (1990) Inhibition of neurite polarity by tau antisense oligonucleotides in primary cerebellar neurons. *Nature* 343:461–463.
- Caceres A, Potrebic S, Kosik KS (1991) The effect of tau antisense oligonucleotides on neurite formation of cultured cerebellar macroneurons. *The Journal of neuroscience* 11:1515–1523.

- Cao X, Südhof TC (2001) A transcriptionally [correction of transcriptively] active complex of APP with Fe65 and histone acetyltransferase Tip60. *Science* 293:115–120.
- Castellani RJ, Rolston RK, Smith MA (2010) Alzheimer Disease. *Dis Mon* 56:484–546.
- Castillo-Carranza DL, Gerson JE, Sengupta U, Guerrero-Muñoz MJ, Lasagna-Reeves CA, Kaye R (2014) Specific targeting of tau oligomers in Htau mice prevents cognitive impairment and tau toxicity following injection with brain-derived tau oligomeric seeds. *J Alzheimers Dis* 40 Suppl 1:S97–S111.
- Chabrier P-E (2009) Stratégies thérapeutiques et maladie d'Alzheimer : que peuvent apporter les modèles animaux ? *Annales Pharmaceutiques Françaises* 67:97–103.
- Chai X, Wu S, Murray TK, Kinley R, Cella CV, Sims H, Buckner N, Hanmer J, Davies P, O'Neill MJ, Hutton ML, Citron M (2011) Passive immunization with anti-Tau antibodies in two transgenic models: reduction of Tau pathology and delay of disease progression. *J Biol Chem* 286:34457–34467.
- Chatterjee S, Mizar P, Cassel R, Neidl R, Selvi BR, Mohankrishna DV, Vedamurthy BM, Schneider A, Bousiges O, Mathis C, Cassel J-C, Eswaramoorthy M, Kundu TK, Boutillier A-L (2013) A novel activator of CBP/p300 acetyltransferases promotes neurogenesis and extends memory duration in adult mice. *J Neurosci* 33:10698–10712.
- Chawla S, Hardingham GE, Quinn DR, Bading H (1998) CBP: a signal-regulated transcriptional coactivator controlled by nuclear calcium and CaM kinase IV. *Science* 281:1505–1509.
- Chen G, Zou X, Watanabe H, van Deursen JM, Shen J (2010) CREB Binding Protein Is Required for Both Short-Term and Long-Term Memory Formation. *Journal of Neuroscience* 30:13066–13077.
- Chen Y-L, Chen H-M, Huang M-F, Yeh Y-C, Yen C-F, Chen C-S (2014) Clinical Correlates of Unawareness of Deficits Among Patients With Dementia Due to Alzheimer's Disease. *Am J Alzheimers Dis Other Demen.*
- Cheng P-J, Pai M-C (2010) Dissociation between recognition of familiar scenes and of faces in patients with very mild Alzheimer disease: an event-related potential study. *Clin Neurophysiol* 121:1519–1525.
- Chouliaras L, Rutten BPF, Kenis G, Peerbooms O, Visser PJ, Verhey F, van Os J, Steinbusch HWM, van den Hove DLA (2010) Epigenetic regulation in the pathophysiology of Alzheimer's disease. *Progress in Neurobiology* 90:498–510.
- Chrivia JC, Kwok RP, Lamb N, Hagiwara M, Montminy MR, Goodman RH (1993) Phosphorylated CREB binds specifically to the nuclear protein CBP. *Nature* 365:855–859.
- Chuang D-M, Leng Y, Marinova Z, Kim H-J, Chiu C-T (2009) Multiple roles of HDAC inhibition in neurodegenerative conditions. *Trends in Neurosciences* 32:591–601.
- Chumley MJ, Catchpole T, Silvany RE, Kernie SG, Henkemeyer M (2007) EphB receptors regulate stem/progenitor cell proliferation, migration, and polarity during hippocampal neurogenesis. *J Neurosci* 27:13481–13490.
- Chwang WB, O'Riordan KJ, Levenson JM, Sweatt JD (2006) ERK/MAPK regulates hippocampal histone phosphorylation following contextual fear conditioning. *Learn Mem* 13:322–328.
- Citron M et al. (1997) Mutant presenilins of Alzheimer's disease increase production of 42-residue amyloid beta-protein in both transfected cells and transgenic mice. *Nat Med* 3:67–72.
- Clopath C (2012) Synaptic consolidation: an approach to long-term learning. *Cognitive Neurodynamics* 6:251–257.

- Coffey K, Blackburn TJ, Cook S, Golding BT, Griffin RJ, Hardcastle IR, Hewitt L, Huberman K, McNeill HV, Newell DR, Roche C, Ryan-Munden CA, Watson A, Robson CN (2012) Characterisation of a Tip60 Specific Inhibitor, NU9056, in Prostate Cancer Culig Z, ed. PLoS ONE 7:e45539.
- Cohen TJ, Friedmann D, Hwang AW, Marmorstein R, Lee VMY (2013) The microtubule-associated tau protein has intrinsic acetyltransferase activity. *Nat Struct Mol Biol* 20:756–762.
- Collins AF, Pearson HA, Giardina P, McDonagh KT, Brusilow SW, Dover GJ (1995) Oral sodium phenylbutyrate therapy in homozygous beta thalassemia: a clinical trial. *Blood* 85:43–49.
- Colmone A, Amorim M, Pontier AL, Wang S, Jablonski E, Sipkins DA (2008) Leukemic Cells Create Bone Marrow Niches That Disrupt the Behavior of Normal Hematopoietic Progenitor Cells. *Science* 322:1861–1865.
- Conway MA (2009) Episodic memories. *Neuropsychologia* 47:2305–2313.
- Cook C, Carlomagno Y, Gendron TF, Dunmore J, Scheffel K, Stetler C, Davis M, Dickson D, Jarpe M, DeTure M, Petrucelli L (2014) Acetylation of the KXGS motifs in tau is a critical determinant in modulation of tau aggregation and clearance. *Human Molecular Genetics* 23:104–116.
- Corbett F, Jefferies E, Burns A, Lambon Ralph MA (2014) Deregulated semantic cognition contributes to object-use deficits in Alzheimer's disease: A comparison with semantic aphasia and semantic dementia. *J Neuropsychol*.
- Corbett GT, Roy A, Pahan K (2013) Sodium phenylbutyrate enhances astrocytic neurotrophin synthesis via protein kinase C (PKC)-mediated activation of cAMP-response element-binding protein (CREB): implications for Alzheimer disease therapy. *J Biol Chem* 288:8299–8312.
- Corkin S (2002) What's new with the amnesic patient HM? *Nature Reviews Neuroscience* 3:153–160.
- Cortés-Mendoza J, Díaz de León-Guerrero S, Pedraza-Alva G, Pérez-Martínez L (2013) Shaping synaptic plasticity: the role of activity-mediated epigenetic regulation on gene transcription. *Int J Dev Neurosci* 31:359–369.
- Costa E, Chen Y, Davis J, Dong E, Noh JS, Tremolizzo L, Veldic M, Grayson DR, Guidotti A (2002) REELIN and schizophrenia: a disease at the interface of the genome and the epigenome. *Mol Interv* 2:47–57.
- Covic M, Karaca E, Lie DC (2010) Epigenetic regulation of neurogenesis in the adult hippocampus. *Heredity (Edinb)* 105:122–134.
- Cremer JE, Lai JC, Sarna GS (1977) Rapid blood-brain transport and metabolism of butyrate and pyruvate in the rat after portocaval anastomosis [proceedings]. *J Physiol (Lond)* 266:70P–71P.
- Creppe C, Malinouskaya L, Volvert M-L, Gillard M, Close P, Malaise O, Laguesse S, Cornez I, Rahmouni S, Ormenese S, Belachew S, Malgrange B, Chapelle J-P, Siebenlist U, Moonen G, Chariot A, Nguyen L (2009) Elongator controls the migration and differentiation of cortical neurons through acetylation of alpha-tubulin. *Cell* 136:551–564.
- Cummings JL, Cole G (2002) Alzheimer disease. *JAMA* 287:2335–2338.

- D -

Dal Piaz F, Tosco A, Eletto D, Piccinelli AL, Moltedo O, Franceschelli S, Sbardella G, Remondelli P, Rastrelli L, Vesci L, Pisano C, De Tommasi N (2010) The Identification of a Novel Natural Activator of p300

- Histone Acetyltransferase Provides New Insights into the Modulation Mechanism of this Enzyme. *ChemBioChem* 11:818–827.
- Dancy BM, Crump NT, Peterson DJ, Mukherjee C, Bowers EM, Ahn Y-H, Yoshida M, Zhang J, Mahadevan LC, Meyers DJ, Boeke JD, Cole PA (2012) Live-cell studies of p300/CBP histone acetyltransferase activity and inhibition. *ChemBiochem* 13:2113–2121.
- Danzer SC, Crooks KRC, Lo DC, McNamara JO (2002) Increased expression of brain-derived neurotrophic factor induces formation of basal dendrites and axonal branching in dentate granule cells in hippocampal explant cultures. *J Neurosci* 22:9754–9763.
- Davie JR (1998) Covalent modifications of histones: expression from chromatin templates. *Curr Opin Genet Dev* 8:173–178.
- Davies CA, Mann DM, Sumpter PQ, Yates PO (1987) A quantitative morphometric analysis of the neuronal and synaptic content of the frontal and temporal cortex in patients with Alzheimer's disease. *J Neurol Sci* 78:151–164.
- Davis JM, McKone E, Dennett H, O'Connor KB, O'Kearney R, Palermo R (2011) Individual differences in the ability to recognise facial identity are associated with social anxiety. *PLoS ONE* 6:e28800.
- Day JJ, Sweatt JD (2011a) Cognitive neuroepigenetics: A role for epigenetic mechanisms in learning and memory. *Neurobiology of Learning and Memory* 96:2–12.
- Day JJ, Sweatt JD (2011b) Epigenetic Mechanisms in Cognition. *Neuron* 70:813–829.
- De Calignon A, Polydoro M, Suárez-Calvet M, William C, Adamowicz DH, Kopeikina KJ, Pitstick R, Sahara N, Ashe KH, Carlson GA, Spires-Jones TL, Hyman BT (2012) Propagation of Tau Pathology in a Model of Early Alzheimer's Disease. *Neuron* 73:685–697.
- Dehmelt L, Halpain S (2005) The MAP2/Tau family of microtubule-associated proteins. *Genome Biol* 6:204.
- Delacourte A, Sautière PE, Watzel A, Mourton-Gilles C, Petter A, Bons N (1995) Biochemical characterization of Tau proteins during cerebral aging of the lemurian primate *Microcebus murinus*. *C R Acad Sci III, Sci Vie* 318:85–89.
- Delpolyi AR, Rankin KP, Mucke L, Miller BL, Gorno-Tempini ML (2007) Spatial cognition and the human navigation network in AD and MCI. *Neurology* 69:986–997.
- Demuro A, Mina E, Kaye R, Milton SC, Parker I, Glabe CG (2005) Calcium Dysregulation and Membrane Disruption as a Ubiquitous Neurotoxic Mechanism of Soluble Amyloid Oligomers. *Journal of Biological Chemistry* 280:17294–17300.
- Demuro A, Parker I, Stutzmann GE (2010) Calcium Signaling and Amyloid Toxicity in Alzheimer Disease. *Journal of Biological Chemistry* 285:12463–12468.
- Derouesné C, Thibault S, Lozeron P, Baudouin-Madec V, Piquard A, Lacomblez L (2002) Perturbations of activities of daily living in Alzheimer's disease. A study of 172 patients with the using a questionnaire completed by caregivers. *Rev Neurol* ;158(6-7):684-700.
- Ding H, Dolan PJ, Johnson GVW (2008) Histone deacetylase 6 interacts with the microtubule-associated protein tau. *Journal of Neurochemistry* 106:2119–2130.
- Dompierre JP, Godin JD, Charrin BC, Cordelières FP, King SJ, Humbert S, Saudou F (2007) Histone deacetylase 6 inhibition compensates for the transport deficit in Huntington's disease by increasing tubulin acetylation. *J Neurosci* 27:3571–3583.

- Donovan MH, Yazdani U, Norris RD, Games D, German DC, Eisch AJ (2006) Decreased adult hippocampal neurogenesis in the PDAPP mouse model of Alzheimer's disease. *J Comp Neurol* 495:70–83.
- Dowty B, Carlisle D, Laseter JL, Storer J (1975) Halogenated hydrocarbons in New Orleans drinking water and blood plasma. *Science* 187:75–77.
- Dragicevic N, Mamcarz M, Zhu Y, Buzzeo R, Tan J, Arendash GW, Bradshaw PC (2010) Mitochondrial amyloid-beta levels are associated with the extent of mitochondrial dysfunction in different brain regions and the degree of cognitive impairment in Alzheimer's transgenic mice. *J Alzheimers Dis* 20 Suppl 2:S535–550.
- Driscoll I, Resnick SM, Troncoso JC, An Y, O'Brien R, Zonderman AB (2006) Impact of Alzheimer's pathology on cognitive trajectories in nondemented elderly. *Annals of Neurology* 60:688–695.
- Du J, Poo M (2004) Rapid BDNF-induced retrograde synaptic modification in a developing retinotectal system. *Nature* 429:878–883.
- Duclot F, Meffre J, Jacquet C, Gongora C, Maurice T (2010) Mice knock out for the histone acetyltransferase p300/CREB binding protein-associated factor develop a resistance to amyloid toxicity. *Neuroscience* 167:850–863.
- Dudai Y (2004) The Neurobiology of Consolidations, Or, How Stable is the Engram? *Annual Review of Psychology* 55:51–86.
- Dupret D, Fabre A, Döbrössy MD, Panatier A, Rodríguez JJ, Lamarque S, Lemaire V, Olier SHR, Piazza P-V, Abrous DN (2007) Spatial Learning Depends on Both the Addition and Removal of New Hippocampal Neurons. *PLoS Biology* 5:e214.
- Dupuis L (2014) Mitochondrial quality control in neurodegenerative diseases. *Biochimie* 100:177–183.
- Duyckaerts C (2006) [Nosology of dementias: the neuropathologist's point of view]. *Rev Neurol (Paris)* 162:921–928.



- Ekstrom AD, Caplan JB, Ho E, Shattuck K, Fried I, Kahana MJ (2005) Human hippocampal theta activity during virtual navigation. *Hippocampus* 15:881–889.
- Ekstrom AD, Kahana MJ, Caplan JB, Fields TA, Isham EA, Newman EL, Fried I (2003) Cellular networks underlying human spatial navigation. *Nature* 425:184–188.
- Ellis JJ, Valencia TG, Zeng H, Roberts LD, Deaton RA, Grant SR (2003) CaM kinase II δ phosphorylation of 14-3-3 β in vascular smooth muscle cells: activation of class II HDAC repression. *Mol Cell Biochem* 242:153–161.
- Epp JR, Haack AK, Galea LAM (2010) Task difficulty in the Morris water task influences the survival of new neurons in the dentate gyrus. *Hippocampus* 20:866–876.
- Eustache F, Desgranges B (2008) MNESIS: Towards the Integration of Current Multisystem Models of Memory. *Neuropsychology Review* 18:53–69.



- Farioli-Vecchioli S, Saraulli D, Costanzi M, Pacioni S, Cinà I, Aceti M, Micheli L, Bacci A, Cestari V, Tirone F (2008) The Timing of Differentiation of Adult Hippocampal Neurons Is Crucial for Spatial Memory Goodell MA, ed. *PLoS Biology* 6:e246.
- Fath T, Eidenmüller J, Brandt R (2002) Tau-mediated cytotoxicity in a pseudo hyperphosphorylation model of Alzheimer's disease. *The Journal of neuroscience* 22:9733–9741.
- Federman N, de la Fuente V, Zalcmán G, Corbi N, Onori A, Passananti C, Romano A (2013) Nuclear factor κ B-dependent histone acetylation is specifically involved in persistent forms of memory. *J Neurosci* 33:7603–7614.
- Feng J, Zhou Y, Campbell SL, Le T, Li E, Sweatt JD, Silva AJ, Fan G (2010) Dnmt1 and Dnmt3a maintain DNA methylation and regulate synaptic function in adult forebrain neurons. *Nature Neuroscience* 13:423–430.
- Ferrante RJ, Kubilus JK, Lee J, Ryu H, Beesen A, Zucker B, Smith K, Kowall NW, Ratan RR, Luthi-Carter R, others (2003) Histone deacetylase inhibition by sodium butyrate chemotherapy ameliorates the neurodegenerative phenotype in Huntington's disease mice. *The Journal of neuroscience* 23:9418–9427.
- Ferri ALM, Cavallaro M, Braidà D, Di Cristofano A, Canta A, Vezzani A, Ottolenghi S, Pandolfi PP, Sala M, DeBiasi S, Nicolis SK (2004) Sox2 deficiency causes neurodegeneration and impaired neurogenesis in the adult mouse brain. *Development* 131:3805–3819.
- Ferri CP, Prince M, Brayne C, Brodaty H, Fratiglioni L, Ganguli M, Hall K, Hasegawa K, Hendrie H, Huang Y, Jorm A, Mathers C, Menezes PR, Rimmer E, Scazufca M, Alzheimer's Disease International (2005) Global prevalence of dementia: a Delphi consensus study. *Lancet* 366:2112–2117.
- Fischer A (2014a) Targeting histone-modifications in Alzheimer's disease. What is the evidence that this is a promising therapeutic avenue? *Neuropharmacology* 80:95–102.
- Fischer A (2014b) Epigenetic memory: the Lamarckian brain. *EMBO J* 33:945–967.
- Fischer A, Sananbenesi F, Wang X, Dobbin M, Tsai L-H (2007) Recovery of learning and memory is associated with chromatin remodelling. *Nature* 447:178–182.
- Forrest CM, Addae JI, Murthy S, Darlington LG, Morris BJ, Stone TW (2011) Molecular changes associated with hippocampal long-lasting depression induced by the serine protease subtilisin-A. *Eur J Neurosci* 34:1241–1253.
- Francis YI, Diss JKJ, Kariti M, Stephanou A, Latchman DS (2007) p300 activation by Presenilin 1 but not by its M146L mutant. *Neurosci Lett* 413:137–140.
- Francis YI, Fà M, Ashraf H, Zhang H, Staniszewski A, Latchman DS, Arancio O (2009) Dysregulation of histone acetylation in the APP/PS1 mouse model of Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis* 18:131–139.
- Francis YI, Stephanou A, Latchman DS (2006) CREB-binding protein activation by presenilin 1 but not by its M146L mutant. *Neuroreport* 17:917–921.
- Frankland PW, Bontempi B (2005) The organization of recent and remote memories. *Nature Reviews Neuroscience* 6:119–130.

- Frankland PW, O'Brien C, Ohno M, Kirkwood A, Silva AJ (2001) Alpha-CaMKII-dependent plasticity in the cortex is required for permanent memory. *Nature* 411:309–313.
- Franklin TB, Mansuy IM (2010) The prevalence of epigenetic mechanisms in the regulation of cognitive functions and behaviour. *Current Opinion in Neurobiology* 20:441–449.
- Fratiglioni L, Paillard-Borg S, Winblad B (2004) An active and socially integrated lifestyle in late life might protect against dementia. *The Lancet Neurology* 3:343–353.



- Gardian G, Browne SE, Choi D-K, Klivenyi P, Gregorio J, Kubilus JK, Ryu H, Langley B, Ratan RR, Ferrante RJ, Beal MF (2005) Neuroprotective Effects of Phenylbutyrate in the N171-82Q Transgenic Mouse Model of Huntington's Disease. *Journal of Biological Chemistry* 280:556–563.
- Gardian G, Yang L, Cleren C, Calingasan NY, Klivenyi P, Beal MF (2004) Neuroprotective effects of phenylbutyrate against MPTP neurotoxicity. *Neuromolecular Med* 5:235–241.
- Giannakopoulos P, Herrmann FR, Bussiere T, Bouras C, Kövari E, Perl DP, Morrison JH, Gold G, Hof PR (2003) Tangle and neuron numbers, but not amyloid load, predict cognitive status in Alzheimer's disease. *Neurology* 60:1495–1500.
- Giordano A, Avantaggiati ML (1999) p300 and CBP: partners for life and death. *J Cell Physiol* 181:218–230.
- Glennner GG, Wong CW, Quaranta V, Eanes ED (1984) The amyloid deposits in Alzheimer's disease: their nature and pathogenesis. *Appl Pathol.* 2(6):357-69.
- Goedert M, Jakes R (2005) Mutations causing neurodegenerative tauopathies. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease* 1739:240–250.
- Goedert M, Spillantini MG, Jakes R, Rutherford D, Crowther RA (1989) Multiple isoforms of human microtubule-associated protein tau: sequences and localization in neurofibrillary tangles of Alzheimer's disease. *Neuron* 3:519–526.
- Goode BL, Denis PE, Panda D, Radeke MJ, Miller HP, Wilson L, Feinstein SC (1997) Functional interactions between the proline-rich and repeat regions of tau enhance microtubule binding and assembly. *Molecular biology of the cell* 8:353–365.
- Goodman RH, Smolik S (2000) CBP/p300 in cell growth, transformation, and development. *Genes & development* 14:1553–1577.
- Goodman T, Trouche S, Massou I, Verret L, Zerwas M, Rouillet P, Rampon C (2010) Young hippocampal neurons are critical for recent and remote spatial memory in adult mice. *Neuroscience* 171:769–778.
- Gräff J, Mansuy IM (2008) Epigenetic codes in cognition and behaviour. *Behavioural Brain Research* 192:70–87.
- Gräff J, Mansuy IM (2009) Epigenetic dysregulation in cognitive disorders. *European Journal of Neuroscience* 30:1–8.
- Gräff J, Rei D, Guan J-S, Wang W-Y, Seo J, Hennig KM, Nieland TJF, Fass DM, Kao PF, Kahn M, Su SC, Samiei A, Joseph N, Haggarty SJ, Delalle I, Tsai L-H (2012a) An epigenetic blockade of cognitive functions in the neurodegenerating brain. *Nature* 483:222–226.

- Gräff J, Tsai L-H (2013a) The potential of HDAC inhibitors as cognitive enhancers. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 53:311–330.
- Gräff J, Tsai L-H (2013b) Histone acetylation: molecular mnemonics on the chromatin. *Nat Rev Neurosci* 14:97–111.
- Gräff J, Woldemichael BT, Berchtold D, Dewarrat G, Mansuy IM (2012b) Dynamic histone marks in the hippocampus and cortex facilitate memory consolidation. *Nature Communications* 3:991.
- Grant PA, Berger SL (1999) Histone acetyltransferase complexes. *Semin Cell Dev Biol*. 10(2):169-77
- Greene JD, Baddeley AD, Hodges JR (1996) Analysis of the episodic memory deficit in early Alzheimer's disease: evidence from the doors and people test. *Neuropsychologia* 34:537–551.
- Greene JDW, Hodges JR, Baddeley AD (1995) Autobiographical memory and executive function in early dementia of Alzheimer type. *Neuropsychologia* 33:1647–1670.
- Gregoire S, Xiao L, Nie J, Zhang X, Xu M, Li J, Wong J, Seto E, Yang X-J (2007) Histone Deacetylase 3 Interacts with and Deacetylates Myocyte Enhancer Factor 2. *Molecular and Cellular Biology* 27:1280–1295.
- Gregoret IV, Lee Y-M, Goodson HV (2004) Molecular evolution of the histone deacetylase family: functional implications of phylogenetic analysis. *J Mol Biol* 338:17–31.
- Grober E, Kawas C (1997) Learning and retention in preclinical and early Alzheimer's disease. *Psychol Aging* 12:183–188.
- Grober E, Dickson D, Sliwinski MJ, Buschke H, Katz M, Crystal H, Lipton RB (1999) Memory and mental status correlates of modified Braak staging. *Neurobiol Aging* 20:573–579.
- Grundke-Iqbal I, Iqbal K, Tung Y-C, Quinlan M, Wisniewski HM, Binder LI (1986) Abnormal phosphorylation of the microtubule-associated protein tau (tau) in Alzheimer cytoskeletal pathology. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 83:4913–4917.
- Gu B, Zhu W-G (2012) Surf the Post-translational Modification Network of p53 Regulation. *International Journal of Biological Sciences* 8:672–684.
- Guan J-S, Haggarty SJ, Giacometti E, Dannenberg J-H, Joseph N, Gao J, Nieland TJF, Zhou Y, Wang X, Mazitschek R, Bradner JE, DePinho RA, Jaenisch R, Tsai L-H (2009) HDAC2 negatively regulates memory formation and synaptic plasticity. *Nature* 459:55–60.
- Guillot-Sestier M-V, Sunyach C, Ferreira ST, Marzolo M-P, Bauer C, Thevenet A, Checler F (2012) - Secretase-derived Fragment of Cellular Prion, N1, Protects against Monomeric and Oligomeric Amyloid (A)-associated Cell Death. *Journal of Biological Chemistry* 287:5021–5032.
- Gupta S, Kim SY, Artis S, Molfese DL, Schumacher A, Sweatt JD, Paylor RE, Lubin FD (2010) Histone Methylation Regulates Memory Formation. *Journal of Neuroscience* 30:3589–3599.
- Gutierrez H, Davies AM (2011) Regulation of neural process growth, elaboration and structural plasticity by NF- κ B. *Trends Neurosci* 34:316–325.



- Haettig J, Stefanko DP, Multani ML, Figueroa DX, McQuown SC, Wood MA (2011) HDAC inhibition modulates hippocampus-dependent long-term memory for object location in a CBP-dependent manner. *Learning & Memory* 18:71–79.
- Hafting T, Fyhn M, Molden S, Moser M-B, Moser EI (2005) Microstructure of a spatial map in the entorhinal cortex. *Nature* 436:801–806.
- Hahnen E, Hauke J, Tränkle C, Eyüpoglu IY, Wirth B, Blümcke I (2008) Histone deacetylase inhibitors: possible implications for neurodegenerative disorders. *Expert Opin Investig Drugs* 17:169–184.
- Hallam TM, Bourtchouladze R (2006) Rubinstein-Taybi syndrome: molecular findings and therapeutic approaches to improve cognitive dysfunction. *Cellular and Molecular Life Sciences* 63:1725–1735.
- Hammond JW, Cai D, Verhey KJ (2008) Tubulin modifications and their cellular functions. *Current Opinion in Cell Biology* 20:71–76.
- Hempel H (2013) Amyloid- β and cognition in aging and Alzheimer's disease: molecular and neurophysiological mechanisms. *J Alzheimers Dis* 33 Suppl 1:S79–86.
- Han P, Dou F, Li F, Zhang X, Zhang Y-W, Zheng H, Lipton SA, Xu H, Liao F-F (2005) Suppression of cyclin-dependent kinase 5 activation by amyloid precursor protein: a novel excitoprotective mechanism involving modulation of tau phosphorylation. *J Neurosci* 25:11542–11552.
- Hardingham GE, Chawla S, Cruzalegui FH, Bading H (1999) Control of recruitment and transcription-activating function of CBP determines gene regulation by NMDA receptors and L-type calcium channels. *Neuron* 22:789–798.
- Hardy J (2007) Putting presenilins centre stage. Introduction to the Talking Point on the role of presenilin mutations in Alzheimer disease. *EMBO Rep* 8:134–135.
- Harrison IF, Dexter DT (2013) Epigenetic targeting of histone deacetylase: Therapeutic potential in Parkinson's disease? *Pharmacology & Therapeutics* 140:34–52.
- Hartley T, Maguire EA, Spiers HJ, Burgess N (2003) The well-worn route and the path less traveled: distinct neural bases of route following and wayfinding in humans. *Neuron* 37:877–888.
- Hasan S, Hottiger MO (2002) Histone acetyl transferases: a role in DNA repair and DNA replication. *Journal of Molecular Medicine* 80:463–474.
- Hasegawa M, Smith MJ, Goedert M (1998) Tau proteins with FTDP-17 mutations have a reduced ability to promote microtubule assembly. *FEBS letters* 437:207–210.
- Hawk JD, Florian C, Abel T (2011) Post-training intrahippocampal inhibition of class I histone deacetylases enhances long-term object-location memory. *Learning & Memory* 18:367–370.
- Hazzalin CA, Mahadevan LC (2005) Dynamic acetylation of all lysine 4-methylated histone H3 in the mouse nucleus: analysis at c-fos and c-jun. *PLoS Biol* 3:e393.
- He P, Shen Y (2009) Interruption of beta-catenin signaling reduces neurogenesis in Alzheimer's disease. *J Neurosci* 29:6545–6557.
- Heine VM, Maslam S, Joëls M, Lucassen PJ (2004) Increased P27KIP1 protein expression in the dentate gyrus of chronically stressed rats indicates G1 arrest involvement. *Neuroscience* 129:593–601.

- Henderson VC, Kimmelman J, Fergusson D, Grimshaw JM, Hackam DG (2013) Threats to Validity in the Design and Conduct of Preclinical Efficacy Studies: A Systematic Review of Guidelines for In Vivo Animal Experiments Ioannidis JP, ed. *PLoS Medicine* 10:e1001489.
- Henderson VW (1997) The epidemiology of estrogen replacement therapy and Alzheimer's disease. *Neurology*. 48(5 Suppl 7):S27-35.
- Henke K (2010) A model for memory systems based on processing modes rather than consciousness. *Nature Reviews Neuroscience* 11:523–532.
- Herz J, Beffert U (2000) Apolipoprotein E receptors: linking brain development and Alzheimer's disease. *Nat Rev Neurosci* 1:51–58.
- Hoffmann NA, Dorostkar MM, Blumenstock S, Goedert M, Herms J (2013) Impaired plasticity of cortical dendritic spines in P301S tau transgenic mice. *Acta Neuropathol Commun* 1:82.
- Hong M, Zhukareva V, Vogelsberg-Ragaglia V, Wszolek Z, Reed L, Miller BI, Geschwind DH, Bird TD, McKeel D, Goate A, Morris JC, Wilhelmsen KC, Schellenberg GD, Trojanowski JQ, Lee VM (1998) Mutation-specific functional impairments in distinct tau isoforms of hereditary FTDP-17. *Science* 282:1914–1917.
- Honson NS, Kuret J (2008) Tau aggregation and toxicity in tauopathic neurodegenerative diseases. *Journal of Alzheimer's Disease* 14:417–422.
- Hooten WM, Lyketsos CG (1996) Frontotemporal dementia: a clinicopathological review of four postmortem studies. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci* 8:10–19.
- Hoover BR, Reed MN, Su J, Penrod RD, Kotilinek LA, Grant MK, Pitstick R, Carlson GA, Lanier LM, Yuan L-L, Ashe KH, Liao D (2010) Tau Mislocalization to Dendritic Spines Mediates Synaptic Dysfunction Independently of Neurodegeneration. *Neuron* 68:1067–1081.
- Hsieh J, Eisch AJ (2010) Epigenetics, hippocampal neurogenesis, and neuropsychiatric disorders: unraveling the genome to understand the mind. *Neurobiol Dis* 39:73–84.
- Hu X, Huang Q, Yang X, Xia H (2007) Differential regulation of AMPA receptor trafficking by neurabin-targeted synaptic protein phosphatase-1 in synaptic transmission and long-term depression in hippocampus. *J Neurosci* 27:4674–4686.
- Huidobro C, Fernandez AF, Fraga MF (2013) Aging epigenetics: causes and consequences. *Mol Aspects Med* 34:765–781.



- Iba M, Guo JL, McBride JD, Zhang B, Trojanowski JQ, Lee VM-Y (2013) Synthetic Tau Fibrils Mediate Transmission of Neurofibrillary Tangles in a Transgenic Mouse Model of Alzheimer's-Like Tauopathy. *Journal of Neuroscience* 33:1024–1037.
- Ingelsson M, Fukumoto H, Newell KL, Growdon JH, Hedley-Whyte ET, Frosch MP, Albert MS, Hyman BT, Irizarry MC (2004) Early A β accumulation and progressive synaptic loss, gliosis, and tangle formation in AD brain. *Neurology* 62:925–931.
- Irwin DJ, Cohen TJ, Grossman M, Arnold SE, Xie SX, Lee VM-Y, Trojanowski JQ (2012) Acetylated tau, a novel pathological signature in Alzheimer's disease and other tauopathies. *Brain* 135:807–818.

Irwin DJ, Cohen TJ, Grossman M, Arnold SE, McCarty-Wood E, Van Deerlin VM, Lee VM-Y, Trojanowski JQ (2013) Acetylated tau neuropathology in sporadic and hereditary tauopathies. *Am J Pathol* 183:344–351.

Isharwal S, Miller MC, Marlow C, Makarov DV, Partin AW, Veltri RW (2008) p300 (histone acetyltransferase) biomarker predicts prostate cancer biochemical recurrence and correlates with changes in epithelia nuclear size and shape. *The Prostate* 68:1097–1104.

- J -

Jacobsen JS, Reinhart P, Pangalos MN (2005) Current concepts in therapeutic strategies targeting cognitive decline and disease modification in Alzheimer's disease. *NeuroRx* 2:612–626.

Jenuwein T, Allis CD (2001) Translating the histone code. *Science* 293:1074–1080.

Jeong MR, Hashimoto R, Senatorov VV, Fujimaki K, Ren M, Lee MS, Chuang D-M (2003) Valproic acid, a mood stabilizer and anticonvulsant, protects rat cerebral cortical neurons from spontaneous cell death: a role of histone deacetylase inhibition. *FEBS Letters* 542:74–78.

Jin K, Galvan V, Xie L, Mao XO, Gorostiza OF, Bredesen DE, Greenberg DA (2004a) Enhanced neurogenesis in Alzheimer's disease transgenic (PDGF-APP^{Sw,Ind}) mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 101:13363–13367.

Jin K, Peel AL, Mao XO, Xie L, Cottrell BA, Henshall DC, Greenberg DA (2004b) Increased hippocampal neurogenesis in Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 101:343–347.

Jin K, Zhu Y, Sun Y, Mao XO, Xie L, Greenberg DA (2002) Vascular endothelial growth factor (VEGF) stimulates neurogenesis in vitro and in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA* 99:11946–11950.

Jin Q, Yu L-R, Wang L, Zhang Z, Kasper LH, Lee J-E, Wang C, Brindle PK, Dent SYR, Ge K (2011) Distinct roles of GCN5/PCAF-mediated H3K9ac and CBP/p300-mediated H3K18/27ac in nuclear receptor transactivation. *EMBO J* 30:249–262.

Johnson AA, Sarthi J, Pirooznia SK, Reube W, Elefant F (2013) Increasing Tip60 HAT Levels Rescues Axonal Transport Defects and Associated Behavioral Phenotypes in a Drosophila Alzheimer's Disease Model. *Journal of Neuroscience* 33:7535–7547.

Johnson GVW (2004) Tau phosphorylation in neuronal cell function and dysfunction. *Journal of Cell Science* 117:5721–5729.

Jones MW, Errington ML, French PJ, Fine A, Bliss TVP, Garel S, Charnay P, Bozon B, Laroche S, Davis S (2001) A requirement for the immediate early gene Zif268 in the expression of late LTP and long-term memories. *Nature neuroscience* 4:289–296.

- K -

Kahana MJ, Sekuler R, Caplan JB, Kirschen M, Madsen JR (1999) Human theta oscillations exhibit task dependence during virtual maze navigation. *Nature* 399:781–784.

Kalebic N, Sorrentino S, Perlas E, Bolasco G, Martinez C, Heppenstall PA (2013) α TAT1 is the major α -tubulin acetyltransferase in mice. *Nat Commun* 4:1962.

Kalkhoven E, Teunissen H, Houweling A, Verrijzer CP, Zantema A (2002) The PHD Type Zinc Finger Is an Integral Part of the CBP Acetyltransferase Domain. *Molecular and Cellular Biology* 22:1961–1970.

- Kandel ER (2001) The molecular biology of memory storage: a dialogue between genes and synapses. *Science* 294:1030–1038.
- Kapur N, Brooks DJ (1999) Temporally-specific retrograde amnesia in two cases of discrete bilateral hippocampal pathology. *Hippocampus* 9:247–254.
- Karlic R, Chung H-R, Lasserre J, Vlahovicek K, Vingron M (2010) Histone modification levels are predictive for gene expression. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 107:2926–2931.
- Katzman R. (1993) Education and the prevalence of dementia and Alzheimer's disease. *Neurology*. 43(1):13-20
- Kawas C, Resnick S, Morrison A, Brookmeyer R, Corrada M, Zonderman A, Bacal C, Lingle DD, Metter E (1997) A prospective study of estrogen replacement therapy and the risk of developing Alzheimer's disease: the Baltimore Longitudinal Study of Aging. *Neurology*. 48(6):1517-21.
- Kazantsev AG, Thompson LM (2008) Therapeutic application of histone deacetylase inhibitors for central nervous system disorders. *Nat Rev Drug Discov* 7:854–868.
- Kennedy MB (2013) Synaptic Signaling in Learning and Memory. *Cold Spring Harb Perspect Biol*.
- Kerimoglu C, Agis-Balboa RC, Kranz A, Stilling R, Bahari-Javan S, Benito-Garagorri E, Halder R, Burkhardt S, Stewart AF, Fischer A (2013) Histone-Methyltransferase MLL2 (KMT2B) Is Required for Memory Formation in Mice. *Journal of Neuroscience* 33:3452–3464.
- Kesner RP (2007) A behavioral analysis of dentate gyrus function. *Prog Brain Res* 163:567–576.
- Kessels RP, de Haan EH, Kappelle LJ, Postma A (2001) Varieties of human spatial memory: a meta-analysis on the effects of hippocampal lesions. *Brain Research Reviews* 35:295–303.
- Khan N, Jeffers M, Kumar S, Hackett C, Boldog F, Khramtsov N, Qian X, Mills E, Berghs SC, Carey N, Finn PW, Collins LS, Tumber A, Ritchie JW, Jensen PB, Lichenstein HS, Sehested M (2008) Determination of the class and isoform selectivity of small-molecule histone deacetylase inhibitors. *Biochemical Journal* 409:581.
- Kida S, Serita T (2014) Functional roles of CREB as a positive regulator in the formation and enhancement of memory. *Brain Res Bull* 105C:17–24.
- Kilgore M, Miller CA, Fass DM, Hennig KM, Haggarty SJ, Sweatt JD, Rumbaugh G (2010) Inhibitors of class 1 histone deacetylases reverse contextual memory deficits in a mouse model of Alzheimer's disease. *Neuropsychopharmacology* 35:870–880.
- Kim J, Kwon J-T, Kim H-S, Han J-H (2013) CREB and neuronal selection for memory trace. *Front Neural Circuits* 7:44.
- Kim M-S, Akhtar MW, Adachi M, Mahgoub M, Bassel-Duby R, Kavalali ET, Olson EN, Monteggia LM (2012) An Essential Role for Histone Deacetylase 4 in Synaptic Plasticity and Memory Formation. *Journal of Neuroscience* 32:10879–10886.
- Kim S-H, Kang H-J, Na H, Lee M-O (2010) Trichostatin A enhances acetylation as well as protein stability of ERalpha through induction of p300 protein. *Breast Cancer Res* 12:R22.
- Klose RJ, Zhang Y (2007) Regulation of histone methylation by demethylination and demethylation. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 8:307–318.

- Konsoula Z, Barile FA (2012) Epigenetic histone acetylation and deacetylation mechanisms in experimental models of neurodegenerative disorders. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods* 66:215–220.
- Kontopoulos E, Parvin JD, Feany MB (2006) Alpha-synuclein acts in the nucleus to inhibit histone acetylation and promote neurotoxicity. *Hum Mol Genet* 15:3012–3023.
- Korzus E (2003) The relation of transcription to memory formation. *Acta Biochim Pol* 50:775–782.
- Korzus E, Rosenfeld MG, Mayford M (2004) CBP histone acetyltransferase activity is a critical component of memory consolidation. *Neuron* 42:961–972.
- Koshibu K, Graff J, Beullens M, Heitz FD, Berchtold D, Russig H, Farinelli M, Bollen M, Mansuy IM (2009) Protein Phosphatase 1 Regulates the Histone Code for Long-Term Memory. *Journal of Neuroscience* 29:13079–13089.
- Kraska A, Dorieux O, Picq J-L, Petit F, Bourrin E, Chenu E, Volk A, Perret M, Hantraye P, Mestre-Frances N, Aujard F, Dhenain M (2011) Age-associated cerebral atrophy in mouse lemur primates. *Neurobiol Aging* 32:894–906.
- Krezymon A, Richetin K, Halley H, Roybon L, Lassalle J-M, Francès B, Verret L, Rampon C (2013) Modifications of hippocampal circuits and early disruption of adult neurogenesis in the tg2576 mouse model of Alzheimer's disease. *PLoS ONE* 8:e76497.
- Kriukienė E, Liutkevičiūtė Z, Klimašauskas S (2012) 5-Hydroxymethylcytosine – the elusive epigenetic mark in mammalian DNA. *Chemical Society Reviews* 41:6916.
- Kubo T, Nishimura S, Kumagai Y, Kaneko I (2002) In vivo conversion of racemized β -amyloid ([D-Ser26]A β 1-40) to truncated and toxic fragments ([D-Ser26]A β 25-35/40) and fragment presence in the brains of Alzheimer's patients. *Journal of Neuroscience Research* 70:474–483.
- Kumar A, Choi K-H, Renthal W, Tsankova NM, Theobald DEH, Truong H-T, Russo SJ, LaPlant Q, Sasaki TS, Whistler KN, Neve RL, Self DW, Nestler EJ (2005) Chromatin Remodeling Is a Key Mechanism Underlying Cocaine-Induced Plasticity in Striatum. *Neuron* 48:303–314.

- L -

- Lambert J-C, Amouyel P (2007) Genetic heterogeneity of Alzheimer's disease: Complexity and advances. *Psychoneuroendocrinology* 32:S62–S70.
- Langley B, Gensert JM, Beal MF, Ratan RR (2005) Remodeling chromatin and stress resistance in the central nervous system: histone deacetylase inhibitors as novel and broadly effective neuroprotective agents. *Curr Drug Targets CNS Neurol Disord* 4:41–50.
- Langley G (2009) The validity of animal experiments in medical research. *RSDA* 1:161–168.
- Larkin J, Goh XY, Vetter M, Pickering L, Swanton C (2012) Epigenetic regulation in RCC: opportunities for therapeutic intervention? *Nat Rev Urol* 9:147–155.
- Laurent C, Eddarkaoui S, Derisbourg M, Leboucher A, Demeyer D, Carrier S, Schneider M, Hamdane M, Müller CE, Buée L, Blum D (2014). Beneficial effects of caffeine in a transgenic model of Alzheimer's disease-like tau pathology. *Neurobiol. Aging* 35:2079–2090.

- Law LLF, Barnett F, Yau MK, Gray MA (2014) Effects of functional tasks exercise on older adults with cognitive impairment at risk of Alzheimer's disease: a randomised controlled trial. *Age Ageing*
- Leboucher A, Laurent C, Fernandez-Gomez F-J, Burnouf S, Troquier L, Eddarkaoui S, Demeyer D, Caillierez R, Zommer N, Vallez E, Bantubungi K, Breton C, Pigny P, Buée-Scherrer V, Staels B, Hamdane M, Tailleux A, Buée L, Blum D (2013) Detrimental effects of diet-induced obesity on τ pathology are independent of insulin resistance in τ transgenic mice. *Diabetes* 62:1681–1688.
- Lech RK, Suchan B (2013) The medial temporal lobe: Memory and beyond. *Behavioural Brain Research* 254:45–49.
- Lee G, Leugers CJ (2012) Tau and Tauopathies. *Prog Mol Biol Transl Sci.* 107:263-93.
- Lee SW, Clemenson GD, Gage FH (2012) New neurons in an aged brain. *Behav Brain Res* 227:497–507.
- Lee J, Duan W, Mattson MP (2002) Evidence that brain-derived neurotrophic factor is required for basal neurogenesis and mediates, in part, the enhancement of neurogenesis by dietary restriction in the hippocampus of adult mice. *J Neurochem* 82:1367–1375.
- Lee Y-T, Pai M-C (2012) Recognition of personally familiar scenes in patients with very mild Alzheimer's disease: effects of spatial frequency and luminance. *J Alzheimers Dis* 29:441–448.
- Lepage M, Ghaffar O, Nyberg L, Tulving E (2000) Prefrontal cortex and episodic memory retrieval mode. *Proc Natl Acad Sci USA* 97:506–511.
- Leroy K, Bretteville A, Schindowski K, Gilissen E, Authelet M, De Decker R, Yilmaz Z, Buée L, Brion J-P (2007) Early Axonopathy Preceding Neurofibrillary Tangles in Mutant Tau Transgenic Mice. *The American Journal of Pathology* 171:976–992.
- Lesburguères E, Gobbo OL, Alaux-Cantin S, Hambucken A, Trifilieff P, Bontempi B (2011) Early tagging of cortical networks is required for the formation of enduring associative memory. *Science* 331:924–928.
- Lesourd M, Le Gall D, Baumard J, Croisile B, Jarry C, Osiurak F (2013) Apraxia and Alzheimer's disease: review and perspectives. *Neuropsychol Rev* 23:234–256.
- Levenson JM, O'Riordan KJ, Brown KD, Trinh MA, Molfese DL, Sweatt JD (2004) Regulation of histone acetylation during memory formation in the hippocampus. *J Biol Chem* 279:40545–40559.
- Levenson JM, Sweatt JD (2005) Epigenetic mechanisms in memory formation. *Nature Reviews Neuroscience* 6:108–118.
- Leyhe T, Müller S, Eschweiler GW, Saur R (2010) Deterioration of the memory for historic events in patients with mild cognitive impairment and early Alzheimer's disease. *Neuropsychologia* 48:4093–4101.
- Leyhe T, Müller S, Milian M, Eschweiler GW, Saur R (2009) Impairment of episodic and semantic autobiographical memory in patients with mild cognitive impairment and early Alzheimer's disease. *Neuropsychologia* 47:2464–2469.
- Li W, Keifer J (2009) BDNF-induced synaptic delivery of AMPAR subunits is differentially dependent on NMDA receptors and requires ERK. *Neurobiol Learn Mem* 91:243–249.
- Li X, Stark GR (2002) NFkappaB-dependent signaling pathways. *Exp Hematol* 30:285–296.

- Liu C-C, Kanekiyo T, Xu H, Bu G (2013) Apolipoprotein E and Alzheimer disease: risk, mechanisms and therapy. *Nature Reviews Neurology* 9:106–118.
- Liu L, Drouet V, Wu JW, Witter MP, Small SA, Clelland C, Duff K (2012) Trans-synaptic spread of tau pathology in vivo. *PLoS one* 7:e31302.
- Liu R, Lei JX, Luo C, Lan X, Chi L, Deng P, Lei S, Ghribi O, Liu QY (2012) Increased EID1 nuclear translocation impairs synaptic plasticity and memory function associated with pathogenesis of Alzheimer's disease. *Neurobiol Dis* 45:902–912.
- Liu X, Gu Q-H, Duan K, Li Z (2014) NMDA Receptor-Dependent LTD Is Required for Consolidation But Not Acquisition of Fear Memory. *J Neurosci* 34:8741–8748.
- Lo AC, Iscru E, Blum D, Tesseur I, Callaerts-Vegh Z, Buée L, De Strooper B, Balschun D, D'Hooge R (2013) Amyloid and Tau Neuropathology Differentially Affect Prefrontal Synaptic Plasticity and Cognitive Performance in Mouse Models of Alzheimer's Disease. *Journal of Alzheimer's Disease* 37:109–125.
- Lopez-Atalaya JP, Ito S, Valor LM, Benito E, Barco A (2013) Genomic targets, and histone acetylation and gene expression profiling of neural HDAC inhibition. *Nucleic Acids Res* 41:8072–8084.
- Lopez-Atalaya JP, Ciccarelli A, Viosca J, Valor LM, Jimenez-Minchán M, Canals S, Giustetto M, Barco A (2011) CBP is required for environmental enrichment-induced neurogenesis and cognitive enhancement. *EMBO J* 30:4287–4298.
- Loury R, Sassone-Corsi P (2003) Histone phosphorylation: how to proceed. *Methods* 31:40–48.
- Lovestone S, Reynolds CH (1997) The phosphorylation of tau: a critical stage in neurodevelopment and neurodegenerative processes. *Neuroscience* 78:309–324.
- Lu T, Pan Y, Kao S-Y, Li C, Kohane I, Chan J, Yankner BA (2004) Gene regulation and DNA damage in the ageing human brain. *Nature* 429:883–891.*
- Lublin AL, Gandy S (2010) Amyloid-beta oligomers: possible roles as key neurotoxins in Alzheimer's Disease. *Mt Sinai J Med* 77:43–49.
- Lundby A, Lage K, Weinert BT, Bekker-Jensen DB, Secher A, Skovgaard T, Kelstrup CD, Dmytriiev A, Choudhary C, Lundby C, Olsen JV (2012) Proteomic Analysis of Lysine Acetylation Sites in Rat Tissues Reveals Organ Specificity and Subcellular Patterns. *Cell Reports* 2:419–431.
- Luo J, Daniels SB, Lenington JB, Notti RQ, Conover JC (2006) The aging neurogenic subventricular zone. *Aging Cell* 5:139–152.

- M -

- Ma DK, Marchetto MC, Guo JU, Ming G, Gage FH, Song H (2010) Epigenetic choreographers of neurogenesis in the adult mammalian brain. *Nat Neurosci* 13:1338–1344.
- Macoir J, Laforce RJ, Monetta L, Wilson M (2014) Language deficits in major forms of dementia and primary progressive aphasia: an update according to new diagnostic criteria. *Geriatr Psychol Neuropsychiatr Vieil* 12:199–208.
- Magnani E, Fan J, Gasparini L, Golding M, Williams M, Schiavo G, Goedert M, Amos LA, Spillantini MG (2007) Interaction of tau protein with the dynactin complex. *The EMBO journal* 26:4546–4554.

- Maguire EA, Frith CD (2003) Lateral asymmetry in the hippocampal response to the remoteness of autobiographical memories. *The Journal of neuroscience* 23:5302–5307.
- Maguire EA, Gadian DG, Johnsrude IS, Good CD, Ashburner J, Frackowiak RS, Frith CD (2000) Navigation-related structural change in the hippocampi of taxi drivers. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 97:4398–4403.
- Maguire EA, Spiers HJ, Good CD, Hartley T, Frackowiak RSJ, Burgess N (2003) Navigation expertise and the human hippocampus: A structural brain imaging analysis. *Hippocampus* 13:250–259.
- Malenka RC, Bear MF (2004) LTP and LTD: an embarrassment of riches. *Neuron* 44:5–21.
- Mandelkow E, Mandelkow EM (1989) Microtubular structure and tubulin polymerization. *Curr Opin Cell Biol* 1:5–9.
- Mandelkow E-M, Biernat J, Drewes G, Gustke N, Trinczek B, Mandelkow E (1995) Tau domains, phosphorylation, and interactions with microtubules. *Neurobiology of aging* 16:355–362.
- Mandelkow E-M, Mandelkow E (2012) Biochemistry and Cell Biology of Tau Protein in Neurofibrillary Degeneration. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine* 2:a006247–a006247.
- Marmorstein R, Roth SY (2001) Histone acetyltransferases: function, structure, and catalysis. *Current opinion in genetics & development* 11:155–161.
- Marr D (1970) A theory for cerebral neocortex. *Proc R Soc Lond, B, Biol Sci* 176:161–234.
- Marr D (1971) Simple memory: a theory for archicortex. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B, Biological Sciences*:23–81.
- Mastroeni D, Grover A, Delvaux E, Whiteside C, Coleman PD, Rogers J (2010) Epigenetic changes in Alzheimer's disease: decrements in DNA methylation. *Neurobiol Aging* 31:2025–2037.
- Mastroeni D, McKee A, Grover A, Rogers J, Coleman PD (2009) Epigenetic Differences in Cortical Neurons from a Pair of Monozygotic Twins Discordant for Alzheimer's Disease Combs C, ed. *PLoS ONE* 4:e6617.
- Mattson MP, Chan SL (2003) Neuronal and glial calcium signaling in Alzheimer's disease. *Cell Calcium* 34:385–397.
- Maurice T, Duclot F, Meunier J, Naert G, Givalois L, Meffre J, Célérier A, Jacquet C, Copois V, Mechti N, Ozato K, Gongora C (2008) Altered memory capacities and response to stress in p300/CBP-associated factor (PCAF) histone acetylase knockout mice. *Neuropsychopharmacology* 33:1584–1602.
- Maurice T, Lockhart BP, Privat A (1996) Amnesia induced in mice by centrally administered beta-amyloid peptides involves cholinergic dysfunction. *Brain Res* 706:181–193.
- Maviel T, Durkin T, Menzaghi F, Bontempi B (2004) Sites of Neocortical Reorganization Critical for Remote Spatial Memory. *Science* 305:96–99.
- McManus KJ, Hendzel MJ (2001) CBP, a transcriptional coactivator and acetyltransferase. *Biochem Cell Biol* 79:253–266.
- McQuown SC, Barrett RM, Matheos DP, Post RJ, Rogge GA, Alenghat T, Mullican SE, Jones S, Rusche JR, Lazar MA, Wood MA (2011) HDAC3 Is a Critical Negative Regulator of Long-Term Memory Formation. *Journal of Neuroscience* 31:764–774.

- Medina M, Avila J (2014) The role of extracellular Tau in the spreading of neurofibrillary pathology. *Front Cell Neurosci* 8:113.
- Melov S, Adlard PA, Morten K, Johnson F, Golden TR, Hinerfeld D, Schilling B, Mavros C, Masters CL, Volitakis I, Li Q-X, Laughton K, Hubbard A, Cherny RA, Gibson B, Bush AI (2007) Mitochondrial Oxidative Stress Causes Hyperphosphorylation of Tau Khoury JE, ed. *PLoS ONE* 2:e536.
- Merrick SE, Trojanowski JQ, Lee VM (1997) Selective destruction of stable microtubules and axons by inhibitors of protein serine/threonine phosphatases in cultured human neurons. *J Neurosci* 17:5726–5737.
- Merz K, Herold S, Lie DC (2011) CREB in adult neurogenesis--master and partner in the development of adult-born neurons? *Eur J Neurosci* 33:1078–1086.
- Miller CA, Campbell SL, Sweatt JD (2008) DNA methylation and histone acetylation work in concert to regulate memory formation and synaptic plasticity. *Neurobiology of Learning and Memory* 89:599–603.
- Milner B, Squire LR, Kandel ER (1998) Cognitive neuroscience and the study of memory. *Neuron* 20:445–468.
- Min S-W, Cho S-H, Zhou Y, Schroeder S, Haroutunian V, Seeley WW, Huang EJ, Shen Y, Masliah E, Mukherjee C (2010) Acetylation of Tau Inhibits Its Degradation and Contributes to Tauopathy. *Neuron* 67:953–966.
- Ming G-L, Song H (2011) Adult neurogenesis in the mammalian brain: significant answers and significant questions. *Neuron* 70:687–702.
- Miyamoto E (2006) Molecular mechanism of neuronal plasticity: induction and maintenance of long-term potentiation in the hippocampus. *Journal of pharmacological sciences* 100:433–442.
- Mizukami K (2013) [Alzheimer's disease and depression]. *Seishin Shinkeigaku Zasshi* 115:1122–1126.
- Morfini GA, Burns M, Binder LI, Kanaan NM, LaPointe N, Bosco DA, Brown RH, Brown H, Tiwari A, Hayward L, Edgar J, Nave K-A, Garberrn J, Atagi Y, Song Y, Pigino G, Brady ST (2009) Axonal Transport Defects in Neurodegenerative Diseases. *Journal of Neuroscience* 29:12776–12786.
- Morris RGM, Steele RJ, Bell JE, Martin SJ (2013) N -methyl- d -aspartate receptors, learning and memory: chronic intraventricular infusion of the NMDA receptor antagonist d -AP5 interacts directly with the neural mechanisms of spatial learning. *European Journal of Neuroscience* 37:700–717.
- Moscovitch M, Rosenbaum RS, Gilboa A, Addis DR, Westmacott R, Grady C, McAndrews MP, Levine B, Black S, Winocur G, others (2005) Functional neuroanatomy of remote episodic, semantic and spatial memory: a unified account based on multiple trace theory. *Journal of anatomy* 207:35–66.
- Moser EI, Kropff E, Moser M-B (2008) Place Cells, Grid Cells, and the Brain's Spatial Representation System. *Annual Review of Neuroscience* 31:69–89.
- Mu Y, Gage FH (2011) Adult hippocampal neurogenesis and its role in Alzheimer's disease. *Mol Neurodegener* 6:85.
- Mu Y, Lee SW, Gage FH (2010) Signaling in adult neurogenesis. *Curr Opin Neurobiol* 20:416–423.

- N -

- Nabavi S, Fox R, Proulx CD, Lin JY, Tsien RY, Malinow R (2014) Engineering a memory with LTD and LTP. *Nature* 511:348–352.
- Nadel L, Hardt O (2010) Update on memory systems and processes. *Neuropsychopharmacology* 36:251–273.
- Nadel L, Hubbach A, Gomez R, Newman-Smith K (2012) Memory formation, consolidation and transformation. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 36:1640–1645.
- Nadel L, Moscovitch M (1997) Memory consolidation, retrograde amnesia and the hippocampal complex. *Current opinion in neurobiology* 7:217–227.
- Nelson PT et al. (2012) Correlation of Alzheimer Disease Neuropathologic Changes With Cognitive Status: A Review of the Literature. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology* 71:362–381.
- Nguyen T-VV, Shen L, Vander Griend L, Quach LN, Belichenko NP, Saw N, Yang T, Shamloo M, Wyss-Coray T, Massa SM, Longo FM (2014) Small Molecule p75^{NTR} Ligands Reduce Pathological Phosphorylation and Misfolding of Tau, Inflammatory Changes, Cholinergic Degeneration, and Cognitive Deficits in A β PPL/S Transgenic Mice. *J Alzheimers Dis.*
- Njie EG, Boelen E, Stassen FR, Steinbusch HWM, Borchelt DR, Streit WJ (2012) Ex vivo cultures of microglia from young and aged rodent brain reveal age-related changes in microglial function. *Neurobiol Aging* 33:195.e1–12.
- Noh JS, Sharma RP, Veldic M, Salvacion AA, Jia X, Chen Y, Costa E, Guidotti A, Grayson DR (2005) DNA methyltransferase 1 regulates reelin mRNA expression in mouse primary cortical cultures. *Proc Natl Acad Sci USA* 102:1749–1754.
- Nucifora Jr. FC (2001) Interference by Huntingtin and Atrophin-1 with CBP-Mediated Transcription Leading to Cellular Toxicity. *Science* 291:2423–2428.

- O -

- O'Brien RJ, Wong PC (2011) Amyloid Precursor Protein Processing and Alzheimer's Disease. *Annual Review of Neuroscience* 34:185–204.
- O'Keefe J, Dostrovsky J (1971) The hippocampus as a spatial map. Preliminary evidence from unit activity in the freely-moving rat. *Brain research* 34:171–175.
- O'Keefe J, Nadel L (1978) *The hippocampus as a cognitive map*. Oxford; New York: Clarendon Press ; Oxford University Press.
- Oddo S, Caccamo A, Shepherd JD, Murphy MP, Golde TE, Kaye R, Metherate R, Mattson MP, Akbari Y, LaFerla FM (2003) Triple-transgenic model of Alzheimer's disease with plaques and tangles: intracellular A β and synaptic dysfunction. *Neuron* 39:409–421.
- Oikawa K, Odero GL, Platt E, Neuendorff M, Hatherell A, Bernstein MJ, Albeni BC (2012) NF- κ B p50 subunit knockout impairs late LTP and alters long term memory in the mouse hippocampus. *BMC Neurosci* 13:45.

- Oike Y, Hata A, Mamiya T, Kaname T, Noda Y, Suzuki M, Yasue H, Nabeshima T, Araki K, Yamamura K (1999) Truncated CBP protein leads to classical Rubinstein-Taybi syndrome phenotypes in mice: implications for a dominant-negative mechanism. *Hum Mol Genet* 8:387–396.
- Olariu A, Cleaver KM, Cameron HA (2007) Decreased neurogenesis in aged rats results from loss of granule cell precursors without lengthening of the cell cycle. *J Comp Neurol* 501:659–667.
- Oliveira AMM, Hemstedt TJ, Bading H (2012) Rescue of aging-associated decline in Dnmt3a2 expression restores cognitive abilities. *Nat Neurosci* 15:1111–1113.
- Oliveira AMM, Wood MA, McDonough CB, Abel T (2007) Transgenic mice expressing an inhibitory truncated form of p300 exhibit long-term memory deficits. *Learning & Memory* 14:564–572.
- Oliver SS, Denu JM (2011) Dynamic Interplay between Histone H3 Modifications and Protein Interpreters: Emerging Evidence for a “Histone Language.” *ChemBioChem* 12:299–307.
- Olton DS (1979) Mazes, maps, and memory. *Am Psychol* 34:583–596.
- Olton DS, Samuelson RJ (1976) Remembrance of places passed: Spatial memory in rats. *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes* 2:97–116.
- Onishi T, Matsumoto Y, Hattori M, Obayashi Y, Nakamura K, Yano T, Horiguchi T, Iwashita H (2014) Early-onset cognitive deficits and axonal transport dysfunction in P301S mutant tau transgenic mice. *Neurosci Res* 80:76–85.
- P -
-
- Pai M-C, Jacobs WJ (2004) Topographical disorientation in community-residing patients with Alzheimer’s disease. *International Journal of Geriatric Psychiatry* 19:250–255.
- Pandey SC, Ugale R, Zhang H, Tang L, Prakash A (2008) Brain Chromatin Remodeling: A Novel Mechanism of Alcoholism. *Journal of Neuroscience* 28:3729–3737.
- Peixoto L, Abel T (2013) The role of histone acetylation in memory formation and cognitive impairments. *Neuropsychopharmacology* 38:62–76.
- Peleg S, Sananbenesi F, Zovoilis A, Burkhardt S, Bahari-Javan S, Agis-Balboa RC, Cota P, Wittnam JL, Gogol-Doering A, Opitz L, Salinas-Riester G, Dettenhofer M, Kang H, Farinelli L, Chen W, Fischer A (2010) Altered histone acetylation is associated with age-dependent memory impairment in mice. *Science* 328:753–756.
- Pelicano Paulos J, Massano J (2013) Clinical, genetic and neuropathological features of frontotemporal dementia: an update and guide. *Acta Med Port* 26:392–401.
- Pencea V, Bingaman KD, Wiegand SJ, Luskin MB (2001) Infusion of brain-derived neurotrophic factor into the lateral ventricle of the adult rat leads to new neurons in the parenchyma of the striatum, septum, thalamus, and hypothalamus. *J Neurosci* 21:6706–6717.
- Penner MR, Roth TL, Chawla MK, Hoang LT, Roth ED, Lubin FD, Sweatt JD, Worley PF, Barnes CA (2011) Age-related changes in Arc transcription and DNA methylation within the hippocampus. *Neurobiol Aging* 32:2198–2210.
- Perkins ND (2006) Post-translational modifications regulating the activity and function of the nuclear factor kappa B pathway. *Oncogene* 25:6717–6730.

- Perrin RJ, Fagan AM, Holtzman DM (2009) Multimodal techniques for diagnosis and prognosis of Alzheimer's disease. *Nature* 461:916–922.
- Peters AH, Schübeler D (2005) Methylation of histones: playing memory with DNA. *Current Opinion in Cell Biology* 17:230–238.
- Petrij F, Giles RH, Dauwerse HG, Saris JJ, Hennekam RC, Masuno M, Tommerup N, van Ommen GJ, Goodman RH, Peters DJ (1995) Rubinstein-Taybi syndrome caused by mutations in the transcriptional co-activator CBP. *Nature* 376:348–351.
- Pláteník J, Kuramoto N, Yoneda Y (2000) Molecular mechanisms associated with long-term consolidation of the NMDA signals. *Life sciences* 67:335–364.
- Pooler AM, Noble W, Hanger DP (2014a) A role for tau at the synapse in Alzheimer's disease pathogenesis. *Neuropharmacology* 76 Pt A:1–8.
- Pooler AM, Phillips EC, Lau DHW, Noble W, Hanger DP (2013) Physiological release of endogenous tau is stimulated by neuronal activity. *EMBO reports* 14:389–394.
- Popescu BO, Toescu EC, Popescu LM, Bajenaru O, Muresanu DF, Schultzberg M, Bogdanovic N (2009) Blood-brain barrier alterations in ageing and dementia. *J Neurol Sci* 283:99–106.
- Poulsen P, Esteller M, Vaag A, Fraga MF (2007) The epigenetic basis of twin discordance in age-related diseases. *Pediatr Res* 61:38R–42R.
- Poulter MO, Du L, Weaver ICG, Palkovits M, Faludi G, Merali Z, Szyf M, Anisman H (2008) GABAA Receptor Promoter Hypermethylation in Suicide Brain: Implications for the Involvement of Epigenetic Processes. *Biological Psychiatry* 64:645–652.
- Puckett RE, Lubin FD (2011) Epigenetic mechanisms in experience-driven memory formation and behavior. *Epigenomics* 3:649–664.



- Ramsden M (2005) Age-Dependent Neurofibrillary Tangle Formation, Neuron Loss, and Memory Impairment in a Mouse Model of Human Tauopathy (P301L). *Journal of Neuroscience* 25:10637–10647.
- Ranck JB (1985) Head-direction cells in the deep cell layers of dorsal presubiculum in freely moving rats Buzsaki G, Vanderwolf CH, eds. *Electrical activity of the archicortex*:217–220.
- Reddy PH (2011) Abnormal tau, mitochondrial dysfunction, impaired axonal transport of mitochondria, and synaptic deprivation in Alzheimer's disease. *Brain Research* 1415:136–148.
- Redondo RL, Morris RGM (2011) Making memories last: the synaptic tagging and capture hypothesis. *Nature Reviews Neuroscience* 12:17–30.
- Reichert N, Choukrallah M-A, Matthias P (2012) Multiple roles of class I HDACs in proliferation, differentiation, and development. *Cellular and Molecular Life Sciences* 69:2173–2187.
- Reif A, Fritzen S, Finger M, Strobel A, Lauer M, Schmitt A, Lesch K-P (2006) Neural stem cell proliferation is decreased in schizophrenia, but not in depression. *Mol Psychiatry* 11:514–522.

- Renthal W, Carle TL, Maze I, Covington HE, Truong H-T, Alibhai I, Kumar A, Montgomery RL, Olson EN, Nestler EJ (2008) FosB Mediates Epigenetic Desensitization of the c-fos Gene After Chronic Amphetamine Exposure. *Journal of Neuroscience* 28:7344–7349.
- Ricobaraza A, Cuadrado-Tejedor M, Garcia-Osta A (2011) Long-term phenylbutyrate administration prevents memory deficits in Tg2576 mice by decreasing Abeta. *Front Biosci (Elite Ed)* 3:1375–1384.
- Ricobaraza A, Cuadrado-Tejedor M, Marco S, Pérez-Otaño I, García-Osta A (2012) Phenylbutyrate rescues dendritic spine loss associated with memory deficits in a mouse model of Alzheimer disease. *Hippocampus* 22:1040–1050.
- Ricobaraza A, Cuadrado-Tejedor M, Pérez-Mediavilla A, Frechilla D, Del Río J, García-Osta A (2009) Phenylbutyrate ameliorates cognitive deficit and reduces tau pathology in an Alzheimer's disease mouse model. *Neuropsychopharmacology* 34:1721–1732.
- Ring S, Weyer SW, Kilian SB, Waldron E, Pietrzik CU, Filippov MA, Herms J, Buchholz C, Eckman CB, Korte M, Wolfer DP, Muller UC (2007) The Secreted β -Amyloid Precursor Protein Ectodomain APPs Is Sufficient to Rescue the Anatomical, Behavioral, and Electrophysiological Abnormalities of APP-Deficient Mice. *Journal of Neuroscience* 27:7817–7826.
- Roberson ED (2006) Frontotemporal dementia. *Curr Neurol Neurosci Rep* 6:481–489.
- Roberson ED (2012) Mouse models of frontotemporal dementia. *Ann Neurol* 72:837–849.
- Roberts GW, Gentleman SM, Lynch A, Murray L, Landon M, Graham DI (1994) Beta amyloid protein deposition in the brain after severe head injury: implications for the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry* 57:419–425.
- Roth TL, Sweatt JD (2009) Regulation of chromatin structure in memory formation. *Current Opinion in Neurobiology* 19:336–342.
- Rouaux C, Loeffler J-P, Boutillier A-L (2004) Targeting CREB-binding protein (CBP) loss of function as a therapeutic strategy in neurological disorders. *Biochem Pharmacol* 68:1157–1164.
- Rouaux C, Panteleeva I, Rene F, Gonzalez de Aguilar J-L, Echaniz-Laguna A, Dupuis L, Menger Y, Boutillier A-L, Loeffler J-P (2007) Sodium Valproate Exerts Neuroprotective Effects In Vivo through CREB-Binding Protein-Dependent Mechanisms But Does Not Improve Survival in an Amyotrophic Lateral Sclerosis Mouse Model. *Journal of Neuroscience* 27:5535–5545.
- Rountree SD, Chan W, Pavlik VN, Darby EJ, Doody RS (2012) Factors that influence survival in a probable Alzheimer disease cohort. *Alzheimers Res Ther* 4:16.
- Rudy JW (2005) Prefrontal cortex and the organization of recent and remote memories: An alternative view. *Learning & Memory* 12:445–446.
- Ryu H, Smith K, Camelo SI, Carreras I, Lee J, Iglesias AH, Dangond F, Cormier KA, Cudkovicz ME, Brown RH Jr, Ferrante RJ (2005) Sodium phenylbutyrate prolongs survival and regulates expression of anti-apoptotic genes in transgenic amyotrophic lateral sclerosis mice. *J Neurochem* 93:1087–1098.

- S -

Sagar HJ, Cohen NJ, Corkin S, Growdon JH (1985) Dissociations among processes in remote memory. *Ann N Y Acad Sci* 444:533–535.

- Saha RN, Pahan K (2005) HATs and HDACs in neurodegeneration: a tale of disconcerted acetylation homeostasis. *Cell Death & Differentiation* 13:539–550.
- Sakurai Y, Ishii K, Sonoo M, Saito Y, Murayama S, Iwata A, Hamada K, Sugimoto I, Tsuji S, Mannen T (2013) Progressive apraxic agraphia with micrographia presenting as corticobasal syndrome showing extensive Pittsburgh compound B uptake. *J Neurol* 260:1982–1991.
- Salehi A, Delcroix J-D, Mobley WC (2003) Traffic at the intersection of neurotrophic factor signaling and neurodegeneration. *Trends in neurosciences* 26:73–80.
- Salles A, Romano A, Freudenthal R (2014) Synaptic NF-kappa B pathway in neuronal plasticity and memory. *J Physiol Paris*.
- Saman S, Kim W, Raya M, Visnick Y, Miro S, Saman S, Jackson B, McKee AC, Alvarez VE, Lee NCY, Hall GF (2012) Exosome-associated Tau Is Secreted in Tauopathy Models and Is Selectively Phosphorylated in Cerebrospinal Fluid in Early Alzheimer Disease. *Journal of Biological Chemistry* 287:3842–3849.
- Sanchis-Segura C, Lopez-Atalaya JP, Barco A (2009) Selective boosting of transcriptional and behavioral responses to drugs of abuse by histone deacetylase inhibition. *Neuropsychopharmacology* 34:2642–2654.
- SantaCruz K (2005) Tau Suppression in a Neurodegenerative Mouse Model Improves Memory Function. *Science* 309:476–481.
- Saura CA, Choi S-Y, Beglopoulos V, Malkani S, Zhang D, Rao BS, Chattarji S, Kelleher III RJ, Kandel ER, Duff K, others (2004) Loss of presenilin function causes impairments of memory and synaptic plasticity followed by age-dependent neurodegeneration. *Neuron* 42:23–36.
- Schänzer A, Wachs F-P, Wilhelm D, Acker T, Cooper-Kuhn C, Beck H, Winkler J, Aigner L, Plate KH, Kuhn HG (2004) Direct stimulation of adult neural stem cells in vitro and neurogenesis in vivo by vascular endothelial growth factor. *Brain Pathol* 14:237–248.
- Scharfman H, Goodman J, Macleod A, Phani S, Antonelli C, Croll S (2005) Increased neurogenesis and the ectopic granule cells after intrahippocampal BDNF infusion in adult rats. *Exp Neurol* 192:348–356.
- Scharfman HE (2004) Functional implications of seizure-induced neurogenesis. *Adv Exp Med Biol* 548:192–212.
- Scheff SW, Price DA, Schmitt FA, DeKosky ST, Mufson EF (2007) Synaptic alterations in CA1 in mild Alzheimer disease and mild cognitive impairment. *Neurology*. May 1;68(18):1501-8.
- Schindowski K, Belarbi K, Bretteville A, Ando K, Buée L (2008) Neurogenesis and cell cycle-reactivated neuronal death during pathogenic tau aggregation. *Genes, Brain and Behavior* 7:92–100.
- Schindowski K, Bretteville A, Leroy K, Bégard S, Brion J-P, Hamdane M, Buée L (2006) Alzheimer's Disease-Like Tau Neuropathology Leads to Memory Deficits and Loss of Functional Synapses in a Novel Mutated Tau Transgenic Mouse without Any Motor Deficits. *The American Journal of Pathology* 169:599–616.
- Schmitt M, Matthies H (1979) Biochemical studies on histones of the central nervous system. III. Incorporation of [¹⁴C]-acetate into the histones of different rat brain regions during a learning experiment. *Acta Biol Med Ger* 38:683–689.

- Schneider A, Chatterjee S, Bousiges O, Selvi BR, Swaminathan A, Cassel R, Blanc F, Kundu TK, Boutillier A-L (2013) Acetyltransferases (HATs) as Targets for Neurological Therapeutics. *Neurotherapeutics* 10:568–588.
- Schröder S, Herker E, Itzen F, He D, Thomas S, Gilchrist DA, Kaehlcke K, Cho S, Pollard KS, Capra JA, Schnölzer M, Cole PA, Geyer M, Bruneau BG, Adelman K, Ott M (2013) Acetylation of RNA polymerase II regulates growth-factor-induced gene transcription in mammalian cells. *Mol Cell* 52:314–324.
- Schwab MH, Bartholomae A, Heimrich B, Feldmeyer D, Druffel-Augustin S, Goebbels S, Naya FJ, Zhao S, Frotscher M, Tsai MJ, Nave KA (2000) Neuronal basic helix-loop-helix proteins (NEX and BETA2/Neuro D) regulate terminal granule cell differentiation in the hippocampus. *J Neurosci* 20:3714–3724.
- Scoville WB, Milner B (1957) Loss of recent memory after bilateral hippocampal lesions. *J Neurol Neurosurg Psychiatr* 20:11–21.
- Seelaar H, Rohrer JD, Pijnenburg YAL, Fox NC, van Swieten JC (2011) Clinical, genetic and pathological heterogeneity of frontotemporal dementia: a review. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry* 82:476–486.
- Sekeres MJ, Neve RL, Frankland PW, Josselyn SA (2010) Dorsal hippocampal CREB is both necessary and sufficient for spatial memory. *Learn Mem* 17:280–283.
- Selenica M-L, Benner L, Housley SB, Manchec B, Lee DC, Nash KR, Kalin J, Bergman JA, Kozikowski A, Gordon MN, Morgan D (2014) Histone deacetylase 6 inhibition improves memory and reduces total tau levels in a mouse model of tau deposition. *Alzheimers Res Ther* 6:12.
- Selkoe DJ (1998) The cell biology of β -amyloid precursor protein and presenilin in Alzheimer's disease. *Trends in cell biology* 8:447–453.
- Selkoe DJ (2004) Alzheimer disease: mechanistic understanding ... [Ann Intern Med. 2004] - PubMed - NCBI. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15096334#> [Accessed May 9, 2014].
- Selkoe DJ (2011) Alzheimer's Disease. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* 3:a004457–a004457.
- Selvi BR, Cassel J-C, Kundu TK, Boutillier A-L (2010) Tuning acetylation levels with HAT activators: Therapeutic strategy in neurodegenerative diseases. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Gene Regulatory Mechanisms* 1799:840–853.
- Selvi BR, Jagadeesan D, Suma BS, Nagashankar G, Arif M, Balasubramanyam K, Eswaramoorthy M, Kundu TK (2008) Intrinsically Fluorescent Carbon Nanospheres as a Nuclear Targeting Vector: Delivery of Membrane-Impermeable Molecule to Modulate Gene Expression In Vivo. *Nano Letters* 8:3182–3188.
- Sergeant N, Bretteville A, Hamdane M, Caillet-Boudin M-L, Grognet P, Bombois S, Blum D, Delacourte A, Pasquier F, Vanmechelen E, Schraen-Maschke S, Buée L (2008) Biochemistry of Tau in Alzheimer's disease and related neurological disorders. *Expert Rev Proteomics* 5:207–224.
- Shelley C (2010) Why test animals to treat humans? On the validity of animal models. *Studies in History and Philosophy of Science Part C: Studies in History and Philosophy of Biological and Biomedical Sciences* 41:292–299.
- Sheng M, Sabatini BL, Sudhof TC (2012) Synapses and Alzheimer's Disease. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* 4:a005777–a005777.

- Shetty AK, Hattiangady B, Shetty GA (2005) Stem/progenitor cell proliferation factors FGF-2, IGF-1, and VEGF exhibit early decline during the course of aging in the hippocampus: role of astrocytes. *Glia* 51:173–186.
- Simón D, García-García E, Gómez-Ramos A, Falcón-Pérez JM, Díaz-Hernández M, Hernández F, Avila J (2012a) Tau Overexpression Results in Its Secretion via Membrane Vesicles. *Neurodegenerative Diseases* 10:73–75.
- Simón D, García-García E, Royo F, Falcón-Pérez JM, Avila J (2012b) Proteostasis of tau. Tau overexpression results in its secretion via membrane vesicles. *FEBS Letters* 586:47–54.
- Smits LL, Flapper M, Sistermans N, Pijnenburg YAL, Scheltens P, van der Flier WM (2014) Apraxia in Mild Cognitive Impairment and Alzheimer's Disease: Validity and Reliability of the Van Heugten Test for Apraxia. *Dement Geriatr Cogn Disord* 38:55–64.
- Solstad T, Boccara CN, Kropff E, Moser M-B, Moser EI (2008) Representation of geometric borders in the entorhinal cortex. *Science* 322:1865–1868.
- Sonntag WE, Lynch CD, Cooney PT, Hutchins PM (1997) Decreases in cerebral microvasculature with age are associated with the decline in growth hormone and insulin-like growth factor 1. *Endocrinology* 138:3515–3520.
- Sontag J-M, Sontag E (2014) Protein phosphatase 2A dysfunction in Alzheimer's disease. *Front Mol Neurosci* 7:16.
- Spalletta G, Caltagirone C, Padovani A, Sorbi S, Attar M, Colombo D, Cravello L, (2014) Cognitive and affective changes in mild to moderate Alzheimer's disease patients undergoing switch of cholinesterase inhibitors: a 6-month observational study. *PLoS ONE* 9:e89216.
- Spiers HJ, Maguire EA, Burgess N (2001) Hippocampal amnesia. *Neurocase* 7:357–382.
- Spires-Jones TL, Hyman BT (2014) The Intersection of Amyloid Beta and Tau at Synapses in Alzheimer's Disease. *Neuron* 82:756–771.
- Squire L (1992a) Declarative and nondeclarative memory: Multiple brain systems supporting learning and memory. *Cognitive Neuroscience, Journal of* 4:232–243.
- Squire LR (1992b) Memory and the hippocampus: a synthesis from findings with rats, monkeys, and humans. *Psychol Rev* 99:195–231.
- Squire LR (2009) The Legacy of Patient H.M. for Neuroscience. *Neuron* 61:6–9.
- Squire LR, McKee RD (1993) Declarative and nondeclarative memory in opposition: when prior events influence amnesic patients more than normal subjects. *Mem Cognit* 21:424–430.
- Squire LR, Slater PC, Chace PM (1975) Retrograde amnesia: temporal gradient in very long term memory following electroconvulsive therapy. *Science* 187:77–79.
- Squire LR, Stark CEL, Clark RE (2004) THE MEDIAL TEMPORAL LOBE*. *Annual Review of Neuroscience* 27:279–306.
- Stahl EA, Dwyer G, Mauricio R, Kreitman M, Bergelson J (1999a) Dynamics of disease resistance polymorphism at the Rpm1 locus of Arabidopsis. *Nature* 400:667–671.
- Stahl EA, Dwyer G, Mauricio R, Kreitman M, Bergelson J (1999b) Dynamics of disease resistance polymorphism at the Rpm1 locus of Arabidopsis. *Nature* 400:667–671.

- Stefanko DP, Barrett RM, Ly AR, Reolon GK, Wood MA (2009) Modulation of long-term memory for object recognition via HDAC inhibition. *Proc Natl Acad Sci USA* 106:9447–9452.
- Steffan JS, Bodai L, Pallos J, Poelman M, McCampbell A, Apostol BL, Kazantsev A, Schmidt E, Zhu Y-Z, Greenwald M, others (2001) Histone deacetylase inhibitors arrest polyglutamine-dependent neurodegeneration in *Drosophila*. *Nature* 413:739–743.
- Stilling RM, Fischer A (2011) The role of histone acetylation in age-associated memory impairment and Alzheimer's disease. *Neurobiol Learn Mem* 96:19–26.
- Storey E, Slavin MJ, Kinsella GJ (2002) Patterns of cognitive impairment in Alzheimer's disease: assessment and differential diagnosis. *Front Biosci.* 1;7:e155-84.
- Stoothoff WH, Johnson GVW (2005) Tau phosphorylation: physiological and pathological consequences. *Biochim Biophys Acta* 1739:280–297.
- Swank MW, Sweatt JD (2001) Increased histone acetyltransferase and lysine acetyltransferase activity and biphasic activation of the ERK/RSK cascade in insular cortex during novel taste learning. *J Neurosci* 21:3383–3391.
- Swerdlow RH (2012) Alzheimer's Disease Pathologic Cascades: Who Comes First, What Drives What. *Neurotoxicity Research* 22:182–194.

- T -

- Tajiri N, Kellogg SL, Shimizu T, Arendash GW, Borlongan CV (2013) Traumatic Brain Injury Precipitates Cognitive Impairment and Extracellular A β Aggregation in Alzheimer's Disease Transgenic Mice Iijima KM, ed. *PLoS ONE* 8:e78851.
- Tanaka Y, Naruse I, Maekawa T, Masuya H, Shiroishi T, Ishii S (1997) Abnormal skeletal patterning in embryos lacking a single Cbp allele: a partial similarity with Rubinstein–Taybi syndrome. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 94:10215–10220.
- Taube JS, Muller RU, Ranck JB (1990) Head-direction cells recorded from the postsubiculum in freely moving rats. I. Description and quantitative analysis. *J Neurosci* 10:420–435.
- Terry RD (1996) The pathogenesis of Alzheimer disease: an alternative to the amyloid hypothesis. *J Neuropathol Exp Neurol.* Oct;55(10):1023-5.
- Thies E, Mandelkow E-M (2007) Misrouting of Tau in Neurons Causes Degeneration of Synapses That Can Be Rescued by the Kinase MARK2/Par-1. *Journal of Neuroscience* 27:2896–2907.
- Thinakaran G, Koo EH (2008) Amyloid Precursor Protein Trafficking, Processing, and Function. *Journal of Biological Chemistry* 283:29615–29619.
- Thomas P, Fenech M (2006) A review of genome mutation and Alzheimer's disease. *Mutagenesis* 22:15–33.
- Thompson PR, Wang D, Wang L, Fulco M, Pediconi N, Zhang D, An W, Ge Q, Roeder RG, Wong J, Levrero M, Sartorelli V, Cotter RJ, Cole PA (2004) Regulation of the p300 HAT domain via a novel activation loop. *Nat Struct Mol Biol* 11:308–315.

- Tie F, Banerjee R, Stratton CA, Prasad-Sinha J, Stepanik V, Zlobin A, Diaz MO, Scacheri PC, Harte PJ (2009) CBP-mediated acetylation of histone H3 lysine 27 antagonizes Drosophila Polycomb silencing. *Development* 136:3131–3141.
- Toni N, Laplagne DA, Zhao C, Lombardi G, Ribak CE, Gage FH, Schinder AF (2008) Neurons born in the adult dentate gyrus form functional synapses with target cells. *Nat Neurosci* 11:901–907.
- Tranfaglia C, Palumbo B, Siepi D, Sinzinger H, Parnetti L (2009) Semi-quantitative analysis of perfusion of Brodmann areas in the differential diagnosis of cognitive impairment in Alzheimer's disease, fronto-temporal dementia and mild cognitive impairment. *Hell J Nucl Med* 12:110–114.
- Trinczek B, Biernat J, Baumann K, Mandelkow EM, Mandelkow E (1995) Domains of tau protein, differential phosphorylation, and dynamic instability of microtubules. *Molecular biology of the cell* 6:1887–1902.
- Trouche S, Bontempi B, Roullet P, Rampon C (2009) Recruitment of adult-generated neurons into functional hippocampal networks contributes to updating and strengthening of spatial memory. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 106:5919–5924.
- Truog P, Buschmann HH (2013) Low dose therapeutic use of glyceryl tri-(4-phenylbutyrate). Brevet WO 2013079205 A1
- Tsankova NM, Berton O, Renthal W, Kumar A, Neve RL, Nestler EJ (2006) Sustained hippocampal chromatin regulation in a mouse model of depression and antidepressant action. *Nature Neuroscience* 9:519–525.
- Tsankova NM, Kumar A, Nestler EJ (2004) Histone modifications at gene promoter regions in rat hippocampus after acute and chronic electroconvulsive seizures. *J Neurosci* 24:5603–5610.
- Tulving E (1972) Episodic and semantic memory Donaldson W, ed. *Organization of memory*:381–403.
- Tulving E, Markowitsch HJ (1998) Episodic and declarative memory: role of the hippocampus. *Hippocampus* 8:198–204.
- V -
-
- Valor LM, Pulopulos MM, Jimenez-Minchan M, Olivares R, Lutz B, Barco A (2011) Ablation of CBP in forebrain principal neurons causes modest memory and transcriptional defects and a dramatic reduction of histone acetylation but does not affect cell viability. *J Neurosci* 31:1652–1663.
- Van der Jeugd A, Ahmed T, Burnouf S, Belarbi K, Hamdame M, Grosjean M-E, Humez S, Balschun D, Blum D, Buée L, D'Hooge R (2011) Hippocampal tauopathy in tau transgenic mice coincides with impaired hippocampus-dependent learning and memory, and attenuated late-phase long-term depression of synaptic transmission. *Neurobiology of Learning and Memory* 95:296–304.
- Van der Jeugd A, Blum D, Raison S, Eddarkaoui S, Bue L, DHooge R (2013a) Observations in THY-Tau22 mice that resemble behavioral and psychological signs and symptoms of dementia. *Behavioural Brain Research* 242:34–39.
- Van der Jeugd A, Vermaercke B, Derisbourg M, Lo AC, Hamdane M, Blum D, Buée L, D'Hooge R (2013b) Progressive Age-Related Cognitive Decline in Tau Mice. *Journal of Alzheimer's Disease* 37:777–788.
- Van Strien NM, Cappaert NLM, Witter MP (2009) The anatomy of memory: an interactive overview of the parahippocampal–hippocampal network. *Nature Reviews Neuroscience* 10:272–282.

- Varela-Nallar L, Aranguiz FC, Abbott AC, Slater PG, Inestrosa NC (2010) Adult hippocampal neurogenesis in aging and Alzheimer's disease. *Birth Defects Res C Embryo Today* 90:284–296.
- Varga OE, Hansen AK, Sandøe P, Olsson IAS (2010) Validating animal models for preclinical research: a scientific and ethical discussion. *Altern Lab Anim* 38:245–248.
- Vargha-Khadem F (1997) Differential Effects of Early Hippocampal Pathology on Episodic and Semantic Memory. *Science* 277:376–380.
- Vecsey CG, Hawk JD, Lattal KM, Stein JM, Fabian SA, Attner MA, Cabrera SM, McDonough CB, Brindle PK, Abel T, Wood MA (2007) Histone Deacetylase Inhibitors Enhance Memory and Synaptic Plasticity via CREB: CBP-Dependent Transcriptional Activation. *Journal of Neuroscience* 27:6128–6140.
- Verdone L, Caserta M, Di Mauro E (2005) Role of histone acetylation in the control of gene expression. *Biochem Cell Biol* 83:344–353.
- Verhülsdonk S, Quack R, Höft B, Lange-Asschenfeldt C, Supprian T (2013) Anosognosia and depression in patients with Alzheimer's dementia. *Arch Gerontol Geriatr* 57:282–287.
- Verret L, Jankowsky JL, Xu GM, Borchelt DR, Rampon C (2007) Alzheimer's-Type Amyloidosis in Transgenic Mice Impairs Survival of Newborn Neurons Derived from Adult Hippocampal Neurogenesis. *Journal of Neuroscience* 27:6771–6780.
- Vo N, Goodman RH (2001) CREB-binding protein and p300 in transcriptional regulation. *J Biol Chem* 276:13505–13508.

- W -

- Walker MP, LaFerla FM, Oddo SS, Brewer GJ (2013) Reversible epigenetic histone modifications and Bdnf expression in neurons with aging and from a mouse model of Alzheimer's disease. *Age (Dordr)* 35:519–531.
- Wall RJ, Shani M (2008) Are animal models as good as we think? *Theriogenology* 69:2–9.
- Wang H, Hu Y, Tsien JZ (2006) Molecular and systems mechanisms of memory consolidation and storage. *Progress in Neurobiology* 79:123–135.
- Wang J-Z, Grundke-Iqbal I, Iqbal K (2007) Kinases and phosphatases and tau sites involved in Alzheimer neurofibrillary degeneration: Kinase/phosphatase/sites involved in tau pathology. *European Journal of Neuroscience* 25:59–68.
- Wang J-Z, Liu F (2008) Microtubule-associated protein tau in development, degeneration and protection of neurons. *Progress in Neurobiology* 85:148–175.
- Weakley A, Schmitter-Edgecombe M (2014) Analysis of verbal fluency ability in Alzheimer's disease: the role of clustering, switching and semantic proximities. *Arch Clin Neuropsychol* 29:256–268.
- Wei W, Coelho CM, Li X, Marek R, Yan S, Anderson S, Meyers D, Mukherjee C, Sbardella G, Castellano S, Milite C, Rotili D, Mai A, Cole PA, Sah P, Kobor MS, Bredy TW (2012) p300/CBP-Associated Factor Selectively Regulates the Extinction of Conditioned Fear. *Journal of Neuroscience* 32:11930–11941.
- Wiley JC, Pettan-Brewer C, Ladiges WC (2011) Phenylbutyric acid reduces amyloid plaques and rescues cognitive behavior in AD transgenic mice: PBA reduces amyloid plaques and rescues cognitive behavior in mice. *Aging Cell* 10:418–428.

- Wilk W, Grune-Wolff B (1990) Validity of alternatives to animal experimentation in biomedical research. *Cah Anesthesiol* 38:203–206.
- Wilson RS, Krueger KR, Arnold SE, Schneider JA, Kelly JF, Barnes LL, Tang Y, Bennett DA (2007) Loneliness and risk of Alzheimer disease. *Arch Gen Psychiatry* 64:234–240.
- Winocur G, Moscovitch M, Bontempi B (2010) Memory formation and long-term retention in humans and animals: Convergence towards a transformation account of hippocampal–neocortical interactions. *Neuropsychologia* 48:2339–2356.
- Winocur G, Moscovitch M, Sekeres M (2007) Memory consolidation or transformation: context manipulation and hippocampal representations of memory. *Nature Neuroscience* 10:555–557.
- Wolfe MS (2012) The Role of Tau in Neurodegenerative Diseases and Its Potential as a Therapeutic Target. *Scientifica* 2012:1–20.
- Wood MA (2005) Transgenic mice expressing a truncated form of CREB-binding protein (CBP) exhibit deficits in hippocampal synaptic plasticity and memory storage. *Learning & Memory* 12:111–119.
- Wood MA, Attner MA, Oliveira AMM, Brindle PK, Abel T (2006) A transcription factor-binding domain of the coactivator CBP is essential for long-term memory and the expression of specific target genes. *Learning & Memory* 13:609–617.
- Wright JM, Zeitlin PL, Cebotaru L, Guggino SE, Guggino WB (2004) Gene expression profile analysis of 4-phenylbutyrate treatment of IB3-1 bronchial epithelial cell line demonstrates a major influence on heat-shock proteins. *Physiol Genomics* 16:204–211.

- X -

- Xu K, Dai X-L, Huang H-C, Jiang Z-F (2011) Targeting HDACs: A Promising Therapy for Alzheimer's Disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2011:1–5.
- Xu W, Edmondson DG, Roth SY (1998) Mammalian GCN5 and P/CAF acetyltransferases have homologous amino-terminal domains important for recognition of nucleosomal substrates. *Molecular and cellular biology* 18:5659–5669.
- Xu WS, Parmigiani RB, Marks PA (2007) Histone deacetylase inhibitors: molecular mechanisms of action. *Oncogene* 26:5541–5552.

- Y -

- Yang X-J (2004) Lysine acetylation and the bromodomain: a new partnership for signaling. *BioEssays* 26:1076–1087.
- Yang XJ, Ogryzko VV, Nishikawa J, Howard BH, Nakatani Y (1996) A p300/CBP-associated factor that competes with the adenoviral oncoprotein E1A. *Nature* 382:319–324.
- Yoshiyama Y, Higuchi M, Zhang B, Huang S-M, Iwata N, Saido TC, Maeda J, Suhara T, Trojanowski JQ, Lee VM-Y (2007) Synapse Loss and Microglial Activation Precede Tangles in a P301S Tauopathy Mouse Model. *Neuron* 53:337–351.

Yu Y, He J, Zhang Y, Luo H, Zhu S, Yang Y, Zhao T, Wu J, Huang Y, Kong J, Tan Q, Li X-M (2009) Increased hippocampal neurogenesis in the progressive stage of Alzheimer's disease phenotype in an APP/PS1 double transgenic mouse model. *Hippocampus* 19:1247–1253.

- Z -

Zhang C, McNeil E, Dressler L, Siman R (2007) Long-lasting impairment in hippocampal neurogenesis associated with amyloid deposition in a knock-in mouse model of familial Alzheimer's disease. *Exp Neurol* 204:77–87.

Zhang J, Cai T, Zhao F, Yao T, Chen Y, Liu X, Luo W, Chen J (2012) The role of α -synuclein and tau hyperphosphorylation-mediated autophagy and apoptosis in lead-induced learning and memory injury. *Int J Biol Sci* 8:935–944.

Zhang Z-Y, Schluesener HJ (2013) Oral administration of histone deacetylase inhibitor MS-275 ameliorates neuroinflammation and cerebral amyloidosis and improves behavior in a mouse model. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology* 72:178–185.

Zhao C, Deng W, Gage FH (2008) Mechanisms and Functional Implications of Adult Neurogenesis. *Cell* 132:645–660.

Zhao M, Li D, Shimazu K, Zhou Y-X, Lu B, Deng C-X (2007) Fibroblast growth factor receptor-1 is required for long-term potentiation, memory consolidation, and neurogenesis. *Biol Psychiatry* 62:381–390.

Zhou Z, Chan CH, Ma Q, Xu X, Xiao Z, Tan E-K (2011) The roles of amyloid precursor protein (APP) in neurogenesis: Implications to pathogenesis and therapy of Alzheimer disease. *Cell Adhesion & Migration* 5:280–292.

Zocchi L, Sassone-Corsi P (2010) Joining the dots: from chromatin remodeling to neuronal plasticity. *Curr Opin Neurobiol* 20:432–440.

Zovkic IB, Guzman-Karlsson MC, Sweatt JD (2013) Epigenetic regulation of memory formation and maintenance. *Learning & Memory* 20:61–74.

Impact de la réactivation de l'acétylation des histones sur les performances mnésiques dans un modèle transgénique murin de la maladie d'Alzheimer : vers une nouvelle stratégie thérapeutique ?

Résumé

La maladie d'Alzheimer (MA) est caractérisée par une perte progressive des capacités mnésiques et des fonctions cognitives accompagnée du développement de dégénérescences neurofibrillaires (DNFs) et de plaque séniles dans le parenchyme cérébral. Les traitements actuellement disponibles ont un effet modéré sur cette symptomatologie. La découverte de perturbations épigénétiques dans des cerveaux de patients Alzheimer ont mené la communauté scientifique à se tourner vers de nouvelles voies thérapeutiques. De telles altérations, notamment au niveau de l'acétylation des histones de la chromatine, pourraient rendre compte de dysfonctionnements dans les programmes génétiques impliqués dans la mémoire ou associés à la pathologie. En utilisant un modèle murin de la MA, les souris THY-Tau22 (développement progressif de DNFs), nous avons évalué l'efficacité de deux stratégies visant à augmenter l'acétylation des histones : activer les HATs et inhiber les HDACs. Ces deux stratégies permettent une récupération des performances en mémoire spatiale chez les souris THY-Tau22, ouvrant ainsi de nouveaux axes thérapeutiques et de recherches dans la MA.

Mots-clés : Tauopathie, altérations épigénétiques, acétylation des histones, inhibiteur des HDACs, activateur des HATs, restauration, mémoire spatiale, souris THY-Tau22

Summary

Alzheimer's disease (AD) is characterized by a progressive loss of memory and cognitive functions associated with the development of neurofibrillary tangles (NFTs) and amyloid plaques in the brain. Nowadays, there is no satisfactory cure for AD. The discovery of epigenetic alterations in AD brain led the scientist community to think about new therapeutic options. Such modifications, and notably those on histone acetylation of the chromatin, could be associated with the genetic dysfunctions observed in AD and particularly affecting memory/plasticity-associated gene transcription. The reestablishment of proper epigenetic regulations, and thus gene expression, appears as an original therapeutic option. Using a transgenic mouse model of tauopathy, the THY-Tau22 mice strain, we assessed the effect of two strategies aimed at increasing histone acetylation with a HAT activator (CSP-TTK21, a novel permeant CBP/p300 activator) or an HDAC inhibitor (phenylbutyrate). We show that both therapeutic strategies allow the rescue of spatial memory performances in the THY-Tau22 mouse model. These results open new leads for AD therapeutics and research.

Keywords: Tauopathy, epigenetic alteration, histone acetylation, HDAC inhibitor, HAT activator, recovery, spatial memory, THY-Tau22 mice