



HAL
open science

Intérêts des récepteurs 5-HT₄ dans la pathologie Alzheimer : étude préclinique comportementale et électrophysiologie sur tranche d'hippocampe de souris

Pierre Lecoufflet

► **To cite this version:**

Pierre Lecoufflet. Intérêts des récepteurs 5-HT₄ dans la pathologie Alzheimer : étude préclinique comportementale et électrophysiologie sur tranche d'hippocampe de souris. Neurobiologie. Normandie Université, 2018. Français. NNT : 2018NORMC415 . tel-01946667

HAL Id: tel-01946667

<https://theses.hal.science/tel-01946667>

Submitted on 6 Dec 2018

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.



Normandie Université

THÈSE

Pour obtenir le diplôme de doctorat

Spécialité ASPECTS MOLECULAIRES ET CELLULAIRES DE LA BIOLOGIE

Préparée au sein de l'Université de Caen Normandie

"Intérêts des récepteurs 5-HT4 dans la pathologie Alzheimer : étude préclinique comportementale et électrophysiologie sur tranche d'hippocampe de souris"

**Présentée et soutenue par
Pierre LECOUFLET**

**Thèse soutenue publiquement le 13/11/2018
devant le jury composé de**

M. DENIS DAVID	Professeur des universités, UNIVERSITE PARIS 11 PARIS-SUD	Rapporteur du jury
M. MICHEL VIGNES	Professeur des universités, Université de Montpellier	Rapporteur du jury
Mme ALICE GUYON	Directeur de recherche au CNRS, UNIVERSITE NICE SOPHIA ANTIPOLIS	Président du jury
Mme GERALDINE RAUCHS	Chargé de recherche à l'INSERM, UNIVERSITE CAEN NORMANDIE	Membre du jury
M. THOMAS FRERET	Professeur des universités, UNIVERSITE CAEN NORMANDIE	Directeur de thèse
Mme PASCALE SCHUMANN-BARD	Professeur des universités, UNIVERSITE CAEN NORMANDIE	Co-directeur de thèse

Thèse dirigée par THOMAS FRERET et PASCALE SCHUMANN-BARD, Mobilités : vieillissement, pathologie, santé - COMETE



UNIVERSITÉ
CAEN
NORMANDIE



Normandie de Biologie Intégrative,
Santé, Environnement



COMETE
UMR 1075 UNICAEN / INSERM

Publications

- ❖ Freret T, Lelong-Boulouard V, **Lecouflet P**, Hamidouche K, Dauphin F, Boulouard M. “Co-modulation of an allosteric modulator of nicotinic receptor-cholinesterase inhibitor (galantamine) and a 5-HT4 receptor agonist (RS-67333): effect on scopolamine-induced memory deficit in the mouse.” *Psychopharmacology* (Berl). 2017 Aug; 234(15):2365-2374. doi: 10.1007/s00213-017-4664-z.

Congrès internationaux

Communications orales

- ❖ **20^{ème} réunion annuelle du réseau LARC-Neurosciences, Rennes**
“*In vitro* activation of 5-HT4 receptors enhances basal transmission and long term depression in mice’s hippocampus but impairs long term potentiation.”

Communications affichées

- ❖ **11^{ème} forum des Neurosciences de la FENS, Berlin**
“*Effects of 5-HT4R activation on hippocampal CA1 plasticity: a potential involvement of GABA neurotransmission.*”

Congrès nationaux

Communications orales

- ❖ **5^{ème} Journée scientifique de l’UFR des Sciences Pharmaceutiques, Caen**
“*Effets de la modulation 5-HT4 sur la plasticité hippocampique chez la souris.*”

Remerciements

Je souhaite tout d'abord remercier vivement les membres du jury pour avoir accepté de juger ce travail de thèse :

Mesdames Alice Guyon et Géraldine Rauchs, qui m'ont fait l'honneur de participer à ce jury en tant qu'examinatrices.

Messieurs Denis David et Michel Vignes, qui m'ont fait l'honneur d'accepter d'être les rapporteurs de cette thèse.

Je tiens évidemment à remercier mes co-directeurs de thèse Pascale et Thomas pour m'avoir pris sous leurs ailes à partir du M2 et m'avoir supporté pendant ces 4 années. Merci pour votre patience devant mon manque chronique d'organisation et mes difficultés de communication (« Un mail ? Quel mail ? »). Travailler avec vous fût un réel plaisir et je n'ai jamais eu à venir à reculons à une réunion avec « les chefs » grâce à l'ambiance bonne enfant et détendue que vous entretenez. Un grand merci aussi pour votre soutien et la grande liberté que vous m'avez laissé dans la réalisation de mes manip.

Je souhaite également remercier Jean Marie Billard, pour m'avoir enseigné tout ce que je connais de l'électrophysiologie et pour sa grande disponibilité et son écoute. Merci également d'avoir égayer la salle d'électrophysiologie (ou je me sentais un peu seul avant) par ta bonne humeur (malgré les aléas des transports en commun normands) et ton humour si fin!

Comment parler d'humour sans citer Michel Boulouard? Un grand merci pour cette bonne humeur communicative, tes jeux de mots et ton comique de répétition me manqueront. Merci aussi à Christelle Jozet-Alves pour son aide précieuse en statistiques et sa participation dans la team mots croisés avec Valentine Bouet, que je remercie aussi pour sa bonne humeur et son accent plein de soleil !

Merci également à François Dauphin et à Marianne Leger pour leur aide et leur patience devant mes questions sur l'école doctorale ou devant mes interrogations scientifiques posées à brule pourpoint et hors de tout contexte. Merci aussi aux autres membres de l'équipe Ethos, Anne-Sophie Darmaillacq, Ludovic Dickel et Cécile Bellanger pour leur aide et leur contribution à la bonne ambiance régnant au labo !

REMERCIEMENTS

Un grand merci aux doctorants avec qui j'ai passé autant de moments studieux que de moments de détente. Merci à Katia, Rachel, Caitleen, Christophe, Lou, Nawel, Solenn et la petite dernière Eva ! merci pour votre aide et pour ces moments de rigolade dans le bureau des doctorants !

Je tiens également à remercier Isabelle Chevalier pour son aide administrative, merci aussi à Gérard Née, Stacy Largillière et Mélanie Coolzaet pour leur aide à l'animalerie et leur patience devant mes (si rares[^]) oublis concernant le change des cages... Merci également à Sophie Corvaisier, Nadège Naud et Céline Thomasse pour leur aide en salle d'histo et leur attachement aux bonnes pratiques de laboratoire.

Un grand merci à mes parents, pour leur soutien tout au long de ces (très) longues années d'études et ce malgré mes nombreux changements de parcours.

Merci, bien sûr, à ma compagne Hélène pour son amour, son soutien indéfectible et sa patience tant mise à l'épreuve.

Enfin, merci à mon fils, Auguste, pour m'avoir préparé au rush de fin de thèse : toutes ces nuits blanches que j'ai passées grâce à toi m'ont habitué au manque de sommeil !

Abréviations :

5-HIAA : acide 5-hydroxy-indole acétique
5-HT : sérotonine
5-HT4R : récepteurs sérotoninergiques de type 4
5-HTP : 5-hydroxytryptophane
5-MeOT : 5-methoxytryptamine
A β : amyloïde beta
AC : adénylate cyclase
aCSF: liquide céphalo-rachidien artificiel
AKAP 110 : protéine d'ancrage des kinases A
AMPA : acide α -Amino-3-hydroxy-5-Méthylisozol-4-Propionate
AMPc : adénosine monophosphate cyclique
APP: peptide précurseur amyloïde
APV: acide 2-amino-5-phosphonopentanoïc
AUC: aire sous la courbe
BACE: beta sécrétase 1
BDNF : facteur neurotrophique dérivé du cerveau
CA1 (ou3): Cornu Ammonis 1 (ou 3)
CamKII: kinase dépendante du calcium et de la calmoduline
CGRP : peptide lié au gène de la calcitonine
CREB : cAMP-response element-binding
DAAA : décarboxylase des acides aminés aromatiques
DAG : di-acylglycérol
DG: gyrus denté
DHPG: (S)-3,5-Dihydroxyphenylglycine
DMSO : di-méthylsulfoxyde
eCB: endocannabinoïde
ERK: kinase régulée par les signaux extracellulaires
ERM : ezrine/radixine/moesine
fEPSP: potentiel post-synaptique excitateur de champ
fIRM : imagerie par résonance magnétique fonctionnelle
GABA : acide gamma-amino butyrique
GAD65: glutamate decarboxylase 65
GR: récepteur aux glucocorticoïdes
GRK5 : kinase 5 régulée par les protéines G
hERG: human Ether-à-go-go-Related Gene
HFS : stimulation haute fréquence
MAO : inhibiteur de la monoamine oxydase
I/O: input/output
IP₃: inositol triphosphate
IPSC : courant post-synaptique inhibiteur
IRSNA : inhibiteur de recapture de la sérotonine et de la noradrénaline
ISRS : inhibiteur sélectif de recapture de la sérotonine
LFS: stimulation basse-fréquence
LTP : potentialisation à long terme
MA : maladie d'Alzheimer
MAO-A : monoamine-oxydase de type A
MAPK (mitogen-associated protein kinase

MCI: mild cognitive impairment
mIPSC : mini courant post-synaptique inhibiteur
MR: récepteur aux minéralocorticoïdes
mRNA: acide ribonucléique messenger
NBQX: 2,3-Dioxo-6-nitro-1,2,3,4-tetrahydrobenzo [f]quinoxaline-7-sulfonamide
NHERF : facteur régulateur de l'échange sodium-hydrogène
NMDA: récepteur glutamatergique sensible au N-méthyl D aspartate
PKC: protéine kinase C
PKA : protéine kinase A
PLC: phospholipase C
PP1: protéine phosphatase 1
PPF: facilitation appariée
PPI: inhibition appariée
Pr: probabilité de libération du neurotransmetteur
PSD: densité post-synaptique
PTP: potentialisation post-tétanique
RhoA : homologue des protéines Ras, membre A
RRP: réserve de vésicules disponible à la libération
rTMS: stimulation magnétique trans-crânienne répétée
RT-PCR : réaction en chaîne par polymérase avec une transcriptase inverse
sAPP α : soluble amyloïd precursor protein
SERT : transporteur sérotoninergique
SNC : système nerveux central
SNX 27 : membre 27 de la famille des nexines de triage
STDP: plasticité dépendante du timing de stimulation
TARP: transmembrane AMPAR regulatory proteins
TBS: stimulation thêta-burst
TPH2: tryptophane hydroxylase
TrkB: récepteur tyrosine kinase B
Trp: tryptophane
VA: volée afférente
VIP : peptide vasoactif intestinal
VMAT : vesicular monoamine transporter de type 2

Table des matières :

INTRODUCTION.....	1
LES RECEPTEURS SEROTONINERGIQUES DE TYPE 4	4
I. GENERALITES SUR LE SYSTEME SEROTONINERGIQUE	4
1. <i>La sérotonine</i>	4
2. <i>Les récepteurs à la sérotonine</i>	8
3. <i>Rôles physiologiques et implications physiopathologiques de la sérotonine</i>	11
II. CARACTERISTIQUES DU RECEPTEUR 5-HT ₄	14
1. <i>Historique</i>	14
2. <i>Structure et fonctionnement du récepteur 5-HT₄</i>	15
3. <i>Localisation du récepteur 5-HT₄</i>	18
4. <i>Approches expérimentaux de modulation de l'activité du récepteur 5-HT₄</i>	22
5. <i>Rôles physiologiques et implications physiopathologiques du récepteur 5-HT₄</i>	25
III. INTERETS THERAPEUTIQUES DE LA MODULATION DU RECEPTEUR 5-HT ₄	27
1. <i>Traitements actuellement commercialisés</i>	27
2. <i>Perspectives de traitement : données de recherche clinique</i>	28
LA MEMOIRE.....	30
I. GENERALITES	30
1. <i>Classifications de la mémoire</i>	30
II. NEURO-ANATOMIE FONCTIONNELLE DE LA MEMOIRE	34
1. <i>Bases structurelles de la mémoire</i>	35
2. <i>Neurotransmission de la mémoire</i>	38
III. ROLE DES RECEPTEURS 5-HT ₄ DANS L'APPRENTISSAGE ET LA MEMOIRE.....	44
1. <i>Rôle des récepteurs 5-HT₄ dans la mémoire chez l'animal</i>	44
2. <i>Rôle des récepteurs 5-HT₄ dans la mémoire chez l'homme</i>	49
LA PLASTICITE SYNAPTIQUE.....	50
I. HISTORIQUE	50
II. LA PLASTICITE SYNAPTIQUE, FORMES ET MECANISMES	51
1. <i>Plasticité synaptique à court terme</i>	52
2. <i>Plasticité synaptique à long terme</i>	58
III. PLASTICITE SYNAPTIQUE ET MEMOIRE	72
1. <i>Potentialisation à long terme et mémoire</i>	73
2. <i>Dépression à long terme et mémoire</i>	76
IV. FACTEURS MODULATEURS DE LA PLASTICITE.....	77
1. <i>Les modulations physiologiques de la plasticité synaptique</i>	78
2. <i>Modulation de la plasticité synaptique par les récepteurs 5-HT₄</i>	83
3. <i>Les modulations pathologiques de la plasticité synaptique</i>	88

LA MALADIE D'ALZHEIMER.....	90
I. GENERALITES.....	90
1. Epidémiologie et facteurs de risque.....	90
2. Symptomatologie de la maladie d'Alzheimer.....	92
3. Physiopathologie de la maladie d'Alzheimer.....	94
II. TRAITEMENTS PHARMACOLOGIQUES DE LA MALADIE D'ALZHEIMER.....	105
1. Traitements actuels.....	105
2. Approches de traitement en développement.....	107
III. INTERET DES RECEPTEURS 5-HT ₄ DANS LE TRAITEMENT DE LA MALADIE D'ALZHEIMER.....	111
1. Devenir des récepteurs 5-HT ₄ au cours de la MA.....	111
2. Effets de l'activation des récepteurs 5-HT ₄ dans la maladie d'Alzheimer.....	112
OBJECTIFS.....	119
METHODOLOGIE GENERALE.....	125
I. ANIMAUX.....	125
II. TRAITEMENTS PHARMACOLOGIQUES.....	125
III. TESTS COMPORTEMENTAUX.....	126
1. Test de l'alternance spontanée.....	126
2. Test de l'évitement passif.....	127
IV. ELECTROPHYSIOLOGIE EXTRACELLULAIRE.....	128
1. Préparation des coupes d'hippocampe.....	128
2. Enregistrements des potentiels de champs.....	129
3. Protocoles de stimulation.....	131
V. PATCH-CLAMP.....	133
1. Préparation des coupes d'hippocampe.....	133
2. Enregistrements des courants GABAergiques évoqués.....	133
VI. ANALYSES STATISTIQUES.....	134
RESULTATS.....	137
I. ETUDE DE L'INTERET DE L'ASSOCIATION D'UN AGONISTE DES RECEPTEURS 5-HT ₄ A UN INHIBITEUR DE L'ACETYLCHOLINESTERASE PRESENTANT UNE ACTIVITE MODULATRICE ALLOSTERIQUE DES RECEPTEURS NICOTINIQUES : ETUDE COMPORTEMENTALE CHEZ LA SOURIS NMRI ADULTE EN CONDITION DE DEFICIT MNESIQUE.....	137
1. Objectifs.....	137
2. Article 1: "Co-modulation of an allosteric modulator of nicotinic receptor-cholinesterase inhibitor (galantamine) and a 5-HT ₄ receptor agonist (RS-67333): effect on scopolamine-induced memory deficit in the mouse".....	138

II. ETUDE DES EFFETS DE LA MODULATION DE L'ACTIVITE DES RECEPTEURS 5-HT ₄ SUR LA PLASTICITE SYNAPTIQUE MESUREE SUR TRANCHES D'HIPPOCAMPE CHEZ LA SOURIS JEUNE NMRI: IMPLICATION DU SYSTEME GABAERGIQUE.....	149
1. Objectifs.....	149
2. Article 2: «Interplay between GABAergic system and 5-HT ₄ receptors in the synaptic plasticity of hippocampal CA1 region »	150
3. Données complémentaires à l'article	176
4. Discussion des données complémentaires	181
III. ETUDE DES EFFETS DE LA STIMULATION DES RECEPTEURS 5-HT ₄ SUR LA PLASTICITE SYNAPTIQUE MESUREE SUR TRANCHES D'HIPPOCAMPE DANS UN MODELE MURIN D'HYPER-AMYLOÏDOGENESE, LA SOURIS 5xFAD	185
1. Objectifs.....	185
2. Résultats.....	186
3. Discussion.....	194
DISCUSSION GENERALE.....	201
I. L'ASSOCIATION D'UN AGONISTE DES RECEPTEURS 5-HT ₄ ET D'UN INHIBITEUR DE L'ACETYLCHOLINESTERASE EXERCE DE FAÇON SYNERGIQUE DES EFFETS ANTI-AMNESIANTS DANS LA MEMOIRE DE TRAVAIL SPATIALE ET LA MEMOIRE AVERSIVE A LONG TERME CHEZ LA SOURIS.....	201
I. L'ACTIVATION DES RECEPTEURS 5-HT ₄ ENTRAINE, PAR UNE ACTION SUR LA TRANSMISSION GABAERGIQUE, UNE DIMINUTION DE LA LTP INDUITE PAR STIMULATION THETA SUR TRANCHE D'HIPPOCAMPE DE SOURIS.....	207
II. L'ACTIVATION AIGUË DES RECEPTEURS 5-HT ₄ NE SUFFIT PAS A RETABLIR DES PARAMETRES D'ACTIVITE SYNAPTIQUE NORMAUX CHEZ LES SOURIS 5xFAD	215
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	223
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	227

Table des illustrations :

Figures :

Figure 1: Structure chimique de la sérotonine.....	4
Figure 2: Représentation schématique de la synthèse de sérotonine au niveau central dans un neurone des noyaux du raphé. (de David et Gardier, 2016)	5
Figure 3: Schéma d'une vue sagittale de cerveau humain détaillant les voies sérotoninergiques	7
Figure 4: Structure générale d'un récepteur couplé aux protéines G (adapté de Weis et Kobillka, 2018).....	8
Figure 5: Représentation des principales voies de signalisation associées à la stimulation des récepteurs sérotoninergiques couplés aux protéines G.	9
Figure 6: Variants d'épissage du gène humain des récepteurs 5-HT ₄ (d'après Bockaert et al, 2004).....	15
Figure 7: Voies de transduction du récepteur 5-HT ₄ (d'après Woehler et Ponimaskin, 2009).....	17
Figure 8: Distribution régionale des ARNm des récepteurs 5-HT ₄ dans le cerveau de rat (d'après Vilaró et al, 1996).....	19
Figure 9: Autoradiographie des 5-HT ₄ R dans un cerveau humain, coupe frontale (d'après varnäs et al, 2003)	20
Figure 10: Représentation schématique du circuit de la mémorisation (adapté d'Atkinson et Shiffrin 1968)	31
Figure 11: Représentation schématique des composants de la mémoire de travail (d'après Baddeley 2000)	32
Figure 12 : Représentation schématique du modèle dichotomique de la mémoire à long terme selon Squire, Zola Morgan et Tulving	33
Figure 13 : Taxonomie de la mémoire (adaptée de Squire 2004)	35
Figure 14: Illustration expérimentale de la théorie standard de la consolidation systémique et de la théorie des traces multiples chez l'animale (adapté d'après Frankland et Bontempi, 2005).....	37
Figure 15: Principales voies glutamatergiques centrales chez l'Homme (adapté de Meunier et Shavaloﬀ, 1992).....	40
Figure 16: Principales voies cholinergiques chez l'Homme (adapté de Meunier et Shavaloﬀ, 1992).....	41

Figure 17: PPF (d'après Jackman et Regehr, 2017).....	52
Figure 18 : Décours temporel typique d'une potentialisation et d'une dépression (d'après Jackman et Regehr, 2017)	53
Figure 19: Mécanismes de la dépression à court terme (d'après Fioravante et Regehr, 2011).....	54
Figure 20: Mécanismes de la facilitation synaptique (d'après Fioravante et Regehr, 2011),.....	56
Figure 21: Mécanismes de la PTP/augmentation (d'après Fioravante et Regehr, 2011)	57
Figure 22: Illustration de l'allure typique d'une LTP et d'une LTD (d'après Citri et Malenka, 2008).....	59
Figure 23: La coupe transverse d'hippocampe	60
Figure 24: Activation du récepteur NMDA (d'après Malenka et Nicoll, 1999)	61
Figure 25: Mécanisme d'expression de la LTP (d'après Citri et Malenka, 2008)	63
Figure 26: L'ampleur de l'influx calcique détermine le signe et l'amplitude de la variation de la force synaptique (d'après Debanne et Thompson, 1994)	66
Figure 27: Mécanisme d'expression de la LTD NMDA dépendante (d'après Citri et Malenka, 2008).....	67
Figure 28: Mécanismes de la LTD mGluR dépendante (d'après Pinar et al, 2017)	70
Figure 29: Evolution de l'intensité de la LTD chez le rat en fonction de l'âge (d'après Pinar et al, 2017)	79
Figure 30: Variation du sens de la plasticité synaptique en fonction de la fréquence de stimulation (d'après Hagedorn et Manahan-vanuaughan, 2016)	85
Figure 31: Evolution des symptômes au cours des différents stades de la maladie d'Alzheimer (d'après Ferris et Fralow, 2013).....	93
Figure 32: Représentation schématique du clivage de l'APP (d'après Claeysen et al, 2012).....	96
Figure 33: Effets bénéfiques pour la mémoire du peptide A β à faible dose (d'après Morley et Farr, 2014)	97
Figure 34: Effets toxiques du peptide amyloïde β	99
Figure 35: Mécanisme de formation des neurofibrilles de protéine tau (adapté de Šimić et al., 2016).....	100
Figure 36: Progression des dégénérescence neurofibrillaires au cours de la maladie d'Alzheimer	101

Figure 37: Mécanisme d'action double de la galantamine.....	106
Figure 38: Classification des différents types de molécules et cibles par marqueur physiopathologique (d'après Hung et Fu, 2017)	107
Figure 39: Représentation schématique des voies de transduction supposées menant de l'activation des 5-HT ₄ R à l'activation de l' α -sécrétase (d'après Pimenova et al, 2014)	113
Figure 40: Photographie et représentation schématique du labyrinthe en Y.....	127
Figure 41: Photographie de la boîte d'évitement passif.....	128
Figure 42: Placement des électrodes autour de la cuve d'enregistrement (gauche) et vue de la coupe transverse d'hippocampe dans la cuve d'enregistrement (droite)	129
Figure 43: Etireuse de capillaire (Narishige, PB7).....	130
Figure 44: Représentation schématique des différents stimulus conditionnant utilisé pour les mesures de plasticité.....	132
Figure 45: Courbe I/O : effet de l'agoniste des 5HT ₄ R, RS67333 sur la transmission de base à différentes concentrations et différentes intensités de stimulation.....	176
Figure 46: Effet de l'agoniste des 5HT ₄ R, RS67333 à différentes concentrations sur la PPF	177
Figure 47: Courbe I/O, effet du blocage des récepteurs 5-HT ₄ par l'antagoniste RS39604, sur la transmission de base AMPA à différentes intensités de stimulation.....	177
Figure 48 : Effet du blocage des récepteurs 5-HT ₄ par l'antagoniste RS39604 sur la PPF	178
Figure 49: Effet de l'agoniste des 5-HT ₄ R, le RS67333, à différentes concentrations, sur la LTD	178
Figure 50: Effet du blocage des récepteurs 5-HT ₄ sur la LTD	179
Figure 51: Blocage des effets de l'agoniste RS67333 par l'antagoniste RS39604 sur la transmission de base.....	180
Figure 52: Blocage des effets de l'agoniste des 5-HT ₄ R, RS 67333, sur la PPF par l'antagoniste RS 39604.	180
Figure 53: Blocage des effets de l'agoniste des 5-HT ₄ R RS67333 sur la LTD par l'antagoniste RS39604	181
Figure 54: Comparaison de la transmission de base entre les souris C57/BL6 et les souris 5xFAD	186
Figure 55: Comparaison de la PPF entre les souris C57 /BL6 et les souris 5xFAD ..	187
Figure 56: Comparaison de la LTP entre les souris 5xFAD et les souris C57	187
Figure 57: Comparaison de la LTD entre les souris 5xFAD et les souris C57	188

Figure 58: Effet de l'agoniste 5-HT ₄ R, le RS67333, sur la PPF chez la souris C57/BL6	189
Figure 59: Courbe I/O, Effet de la stimulation des récepteurs 5-HT ₄ par le RS67333 sur la transmission de base à différentes intensités de stimulation chez la souris C57/BL6.....	189
Figure 60: Effet du RS67333 à différentes concentrations et différentes intensités sur la transmission de base chez la souris 5xFAD	190
Figure 61: Effet de l'agoniste des 5-HT ₄ R, le RS67333, à différentes concentrations sur la PPF chez la souris 5xFAD.....	191
Figure 62: Effet de l'agoniste des 5-HT ₄ R, le RS67333, sur la LTP chez la souris C57	191
Figure 63: Effet de l'agoniste des 5-HT ₄ R, le RS67333, sur la LTD chez la souris C57/BL6	192
Figure 64: Effet de l'agoniste des 5-HT ₄ R, le RS67333, sur la LTP chez la souris 5xFAD.....	193
Figure 65: Effet de l'agoniste des 5-HT ₄ R, le RS67333, sur la LTD chez la souris 5xFAD.....	194
Figure 66: Schéma expliquant l'implication du récepteur GABAB dans l'induction de la LTP par TBS	211

Tableaux :

Tableau 1: Principaux ligands des récepteurs 5-HT ₄ (adapté d'après Bockaert et al, 2004).....	23
Tableau 2: Effets du blocage des récepteurs 5-HT ₄ dans diverses tâches d'apprentissage et de mémoire dépendantes de l'hippocampe (modifié d'après Hagena et Manahan-Vaughan, 2016).....	45
Tableau 3: Effets de l'activation des récepteurs 5-HT ₄ dans diverses tâches d'apprentissage et de mémoire dépendante de l'hippocampe (modifié d'après Hagena et Manahan-Vaughan, 2016).....	45
Tableau 4: Effets sur la plasticité synaptique hippocampique de la modulation pharmacologique des récepteurs 5-HT ₄	86
Tableau 5: Effets de la modulation de l'activité des récepteurs 5-HT ₄ sur la transmission de base et la plasticité synaptique hippocampique de la région CA1	181
Tableau 6: Effets de la stimulation des récepteurs 5-HT ₄ par l'agoniste RS67333 sur la transmission de base et sur la plasticité synaptique, comparaison entre les souris C57/BL6 et 5xFAD sans traitement.....	194
Tableau 7: Récapitulatif des résultats obtenus suite à l'administration de RS67333 et de galantamine seuls ou associés, dans un test d'alternance spontanée et un test d'évitement passif en conditions normales ou de déficit induit par la scopolamine (1mg/kg)	202
Tableau 8: Tableau récapitulatif des effets de la stimulation ou du blocage des récepteurs 5-HT ₄ sur l'activité des récepteurs NMDA et AMPA et sur la PPF.....	207
Tableau 9: Tableau récapitulatif des résultats obtenus sur la plasticité synaptique	208
Tableau 10: Tableau récapitulatif de la caractérisation électrophysiologique de la souris 5xFAD par rapport à sa souche de référence la souris C57et des effets du RS67333 sur ces deux souches de souris	215

INTRODUCTION

Introduction

Les facultés de mémoire et d'apprentissage sont essentielles pour le comportement humain puisqu'elles nous permettent de répondre de façon optimale et de s'adapter aux situations auxquelles nous sommes confrontés dans la vie de tous les jours. C'est sur les bases de notre mémoire que la personnalité de chacun se bâtit : elle est le fruit de notre vécu et de nos expériences. De plus, notre aptitude à anticiper et à se projeter dans le futur dépend, elle aussi, de nos capacités mnésiques puisque c'est à l'aune de nos expériences passées que l'on peut se livrer à la prédiction des conséquences de nos actes présents et futurs.

Des dysfonctionnements dans ces capacités cognitives cruciales se produisent dans des conditions physiologiques comme le vieillissement ou dans des conditions traumatiques, comme lors de chocs violents au niveau de l'encéphale. Ils peuvent aussi se produire dans une grande variété de pathologies psychiatriques et neurologiques chroniques telles que l'addiction, l'anxiété, la dépression, la schizophrénie ou au cours de maladies neurodégénératives comme la maladie d'Alzheimer.

Les stratégies thérapeutiques actuelles pour le traitement des déficits d'apprentissage et de mémoire sont cruellement limitées tant d'un point de vue de la quantité que de la qualité. Ainsi, en ce qui concerne plus particulièrement la maladie d'Alzheimer (MA), seuls 4 médicaments, appartenant à deux classes thérapeutiques, les inhibiteurs d'acétylcholinestérase et les antagonistes des récepteurs NMDA, sont actuellement disponibles sur le marché. De plus, étant donné leur faible Service Médical Rendu, l'ensemble de ces médicaments sont déremboursés en France depuis le 1^{er} Aout 2018 (Arrêté du 29 Mai, 2018). Il y a donc un réel enjeu de santé publique et d'importants efforts sont menés dans l'objectif de mieux comprendre les mécanismes de cette fonction extrêmement complexe qu'est la mémoire afin de trouver des approches thérapeutiques nouvelles et efficaces pour prévenir ou guérir les troubles cognitifs associés à la MA.

De par son implication dans la mémoire et l'apprentissage, le système sérotoninergique semble être une cible thérapeutique de choix. De nombreuses études, menées à la fois chez l'Homme et chez l'animal, ont mis en évidence l'intérêt d'une intervention pharmacologique sur les récepteurs de la sérotonine pour améliorer des déficits de mémoire et d'apprentissage (Meneses, 2017; Smith et al., 2017) .

Parmi les 7 différents sous-types de récepteurs à la sérotonine, le récepteur sérotoninergique de type 4 (5-HT₄R), a attiré sur lui une attention considérable en tant que cible thérapeutique de choix dans le traitement des troubles de la mémoire et de l'apprentissage dans le cadre de la MA. En effet de nombreuses études chez l'animal ont montré que son activation facilite l'apprentissage et permet de compenser des déficits de mémoire dans des modèles d'amnésie, et ce dans de nombreux types de mémoire différents (Hagena and Manahan-Vaughan, 2016). Par ailleurs, il semblerait que la densité de ces récepteurs soit diminuée dans la maladie d'Alzheimer (Reynolds et al., 1995) et qu'ils pourraient jouer un rôle dans certaines cascades physiopathologiques de cette maladie (Robert et al., 2001).

L'objectif de cette thèse est donc d'étudier l'intérêt des récepteurs sérotoninergiques de type 4 dans le traitement de la maladie d'Alzheimer en utilisant des techniques d'électrophysiologie et de comportement sur des souris.

La maladie d'Alzheimer étant une pathologie complexe et multifactorielle, plusieurs études s'accordent à dire qu'un traitement agissant de concert sur plusieurs cibles thérapeutiques serait plus à même de produire un effet satisfaisant. Au moyen d'une approche comportementale, nous avons donc testé l'intérêt de l'association d'un agoniste des récepteurs sérotoninergiques de type 4 à un inhibiteur de l'acétylcholinestérase (qui, à l'heure actuelle, fait partie des traitements utilisés chez l'Homme) sur les performances de mémoire chez la souris. Nous avons utilisé des doses sub-actives pour chaque agent pharmacologique pris indépendamment afin de mettre en évidence un éventuel effet synergique.

Dans un deuxième temps, au moyen d'une approche électrophysiologique, nous nous sommes attachés à étudier les effets de la stimulation pharmacologique des 5-HT₄R par un agoniste de ces récepteurs sur la plasticité synaptique hippocampique (une structure primordiale dans les processus de mémoire et d'apprentissage) chez la souris adulte et saine. En effet, même si quelques études en électrophysiologie *in vivo* ont été menées sur le sujet (Kemp and Manahan-Vaughan, 2005; Matsumoto et al., 2001), des différences existent, notamment concernant les effets de la stimulation des 5-HT₄R sur la LTP (absence d'effets ou augmentation). Afin de simplifier le modèle d'étude, nous avons choisi d'effectuer nos expérimentations *ex vivo* sur le modèle de la coupe transverse d'hippocampe. Dans ce modèle de tranches d'hippocampe de souris, nous avons ainsi caractérisé les effets de la stimulation de ces récepteurs sérotoninergiques de type 4 sur la plasticité synaptique, puis cherché à en comprendre les mécanismes par différentes approches pharmacologiques.

Enfin, au moyen de la même approche électrophysiologique, nous avons cherché à étudier ces mêmes effets de l'activation des récepteurs sérotoninergiques de type 4 sur la plasticité synaptique hippocampique, mais ici dans un modèle murin transgénique de pathologie amyloïde, les souris 5xFAD. En effet, des déficits de mémoire et plasticité synaptique ont été décrits dans ce modèle et il a été démontré qu'une activation chronique des 5-HT₄R peut rétablir des performances de mémoire normales chez ces souris. En revanche aucune étude n'a étudié les effets d'une stimulation des 5-HT₄R sur la plasticité synaptique dans ce contexte.

Les récepteurs sérotoninergiques de type 4

I. Généralités sur le système sérotoninergique

1. La sérotonine

La sérotonine, aussi appelée 5-hydroxytryptamine, est une mono-amine de la famille des indolamines (*figure 1*).

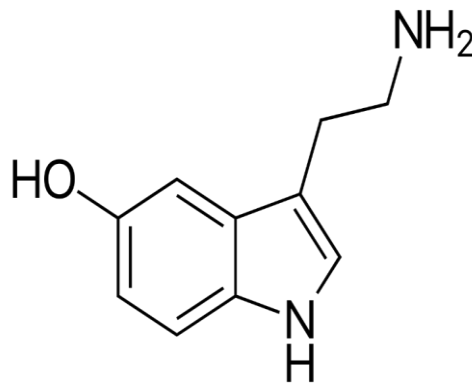


Figure 1: structure chimique de la sérotonine

Historique

La sérotonine a été pour la première fois identifiée dans la muqueuse gastrique du lapin et a alors été nommée « entéramine » (Erspamer et Vialli 1937). Par la suite, une autre équipe de chercheurs travaillant sur l'étiologie et le traitement de l'hypertension artérielle, a isolé et purifié une substance présente dans le sang coagulé qu'ils ont dénommée « sérotonine » du fait de sa provenance et de son action vasoconstrictrices (Rapport et al., 1948). Ce n'est que quelques années plus tard que la sérotonine et l'entéramine furent identifiées comme une seule et même substance (Erspamer et Asero 1952). Elle sera identifiée en 1953 dans le système nerveux central (SNC) des mammifères (Twarog et Page 1953), où elle joue un rôle de neuromédiateur.

Localisation et métabolisme

La sérotonine est présente de façon très importante au niveau de la muqueuse gastro-intestinale (on y retrouve à peu près 80% de la sérotonine de l'organisme), ainsi que dans les plaquettes sanguines et dans les neurones du SNC.

Au niveau de la muqueuse gastro-intestinale, la sérotonine est synthétisée et stockée par les cellules entérochromaffines. Ces cellules la libèrent par exocytose dans la lumière où elle intervient dans la motilité intestinale en régulant l'activité des cellules des ganglions entériques et en contractant les muscles lisses intestinaux, gastriques et œsophagiens. Les plaquettes sanguines ne disposent pas des enzymes nécessaires à la synthèse de la sérotonine mais vont puiser la sérotonine circulante dans le plasma sanguin pour la stocker. La sérotonine libérée par les plaquettes, lors de l'agrégation plaquettaire, entraîne une vasoconstriction (*via* les récepteurs 5-HT₁ des muscles lisses vasculaires). Enfin, au niveau du SNC, la sérotonine est produite, stockée et libérée par les neurones sérotoninergiques. L'organisation au niveau centrale de la neurotransmission sérotoninergique sous forme de système diffus sera évoquée dans la suite du manuscrit.

La sérotonine est synthétisée dans les cellules sérotoninergiques (*figure 2*), exclusivement à partir de l'acide aminé essentiel L-tryptophane, dont le seul apport provient de l'alimentation. Ainsi une carence de cet acide aminé signifie automatiquement une déplétion en sérotonine (Nishizawa et al., 1997). Absorbé dans l'intestin, le L-tryptophane est ensuite véhiculé par la circulation générale jusqu'au SNC où il va pouvoir traverser la barrière hémato-encéphalique, au contraire de la sérotonine qui en est incapable. Après entrée du tryptophane dans le neurone par le biais d'un transporteur non spécifique, la synthèse de la sérotonine est réalisée en deux étapes.

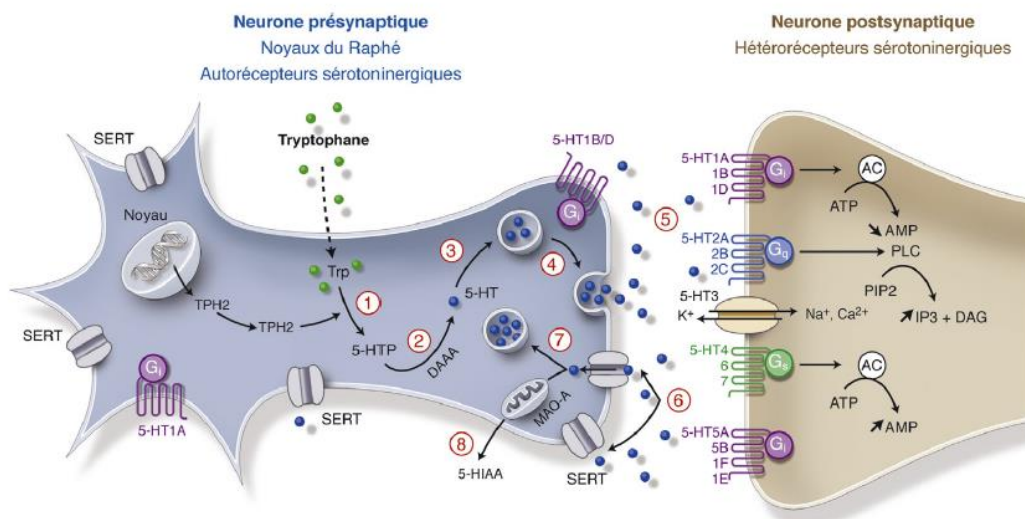


Figure 2: Représentation schématique de la synthèse de sérotonine au niveau central dans un neurone des noyaux du raphé. (de David et Gardier, 2016)
 Trp : tryptophane, 5-HT : sérotonine, 5-HTP : 5-hydroxytryptophane, TPH2 : tryptophane hydroxylase, DAAA : décarboxylase des acides aminés aromatiques, VMAT : vesicular monoamine transporter de type 2, SERT : transporteur sérotoninergique, MAO-A : monoamine-oxydase de type A, 5-HIAA : acide 5-hydroxy-indole acétique

Dans un premier temps, le L-tryptophane est hydroxylé en 5-hydroxytryptophane sous l'action enzymatique de la tryptophane hydroxylase. Il est à noter que cette hydroxylation est l'étape limitante de la biosynthèse de la sérotonine. Le 5-hydroxytryptophane est ensuite décarboxylé en 5-hydroxytryptamine (5-HT ou sérotonine) par une autre enzyme, la décarboxylase des acides aminés aromatiques. Après sa synthèse, la sérotonine va subir un sort dépendant de sa localisation. Au sein du SNC, à l'exception de l'épiphyse (ou glande pinéale), où la sérotonine est transformée de manière photo-dépendante en mélatonine (ou hormone du sommeil), elle sera stockée dans des vésicules situées au niveau des terminaisons pré-synaptiques des neurones. Suite à l'arrivée d'un influx nerveux provoquant une dépolarisation membranaire au niveau de l'élément pré-synaptique, elle sera alors libérée par exocytose. A la périphérie, la sérotonine est libérée dans la circulation sanguine et stockée dans les plaquettes.

Une fois libérée, la sérotonine se fixe sur ses récepteurs spécifiques, afin d'exercer ses effets physiologiques. Son activité, dépendante de son temps de présence et de sa concentration dans le milieu extracellulaire, est limitée par deux processus qui assurent son élimination et permettent de réguler sa concentration dans l'espace extracellulaire : un mécanisme de recapture et un mécanisme de dégradation enzymatique. La recapture de la sérotonine met en jeu un système de transport actif assuré par une protéine membranaire spécifique, le transporteur de la sérotonine (SERT) ainsi qu'un transporteur non spécifique, le transporteur vésiculaire des monoamines (VMAT). Ces transporteurs font passer la sérotonine de l'espace extracellulaire vers le compartiment cytoplasmique où elle pourra être dégradée ou recyclée. La dégradation enzymatique de la sérotonine est effectuée en premier lieu par la monoamine oxydase de type A (MAO-A) qui conduit à la production de 5-hydroxyindole acétaldéhyde, lui-même ensuite oxydé par l'aldéhyde déshydrogénase pour former l'acide-5-hydroxyindole-acétique. Ce dernier est le métabolite principal de la sérotonine, il est inactif et éliminé dans les urines.

Voies sérotoninergiques centrales

Au niveau central, le système de neurotransmission sérotoninergique est dit diffus. En effet, regroupés en petits amas, appelés noyaux au niveau du tronc cérébral, les neurones sérotoninergiques vont innervent la quasi-totalité des aires cérébrales. Plus précisément, les voies sérotoninergiques centrales (*Figure 3*) trouvent leur origine au sein des noyaux du raphé dans le tronc cérébral, où les corps cellulaires des neurones sérotoninergiques sont regroupés dans neuf noyaux numérotés de B1 à B9 (Dahlström and Fuxe, 1964). Ces noyaux sont grossièrement

séparés en deux groupes selon leur localisation anatomique, supérieur et inférieur, de la manière suivante (Jacobs and Azmitia, 1992):

- groupe supérieur : noyaux caudal linéaire, raphé médian et dorsal, noyau pontique et région supralémniscale
- groupe inférieur : noyaux du raphé *obscurus*, *pallidus*, *magnus*, neurones de la moelle ventrolatérale et de l'*area postrema*

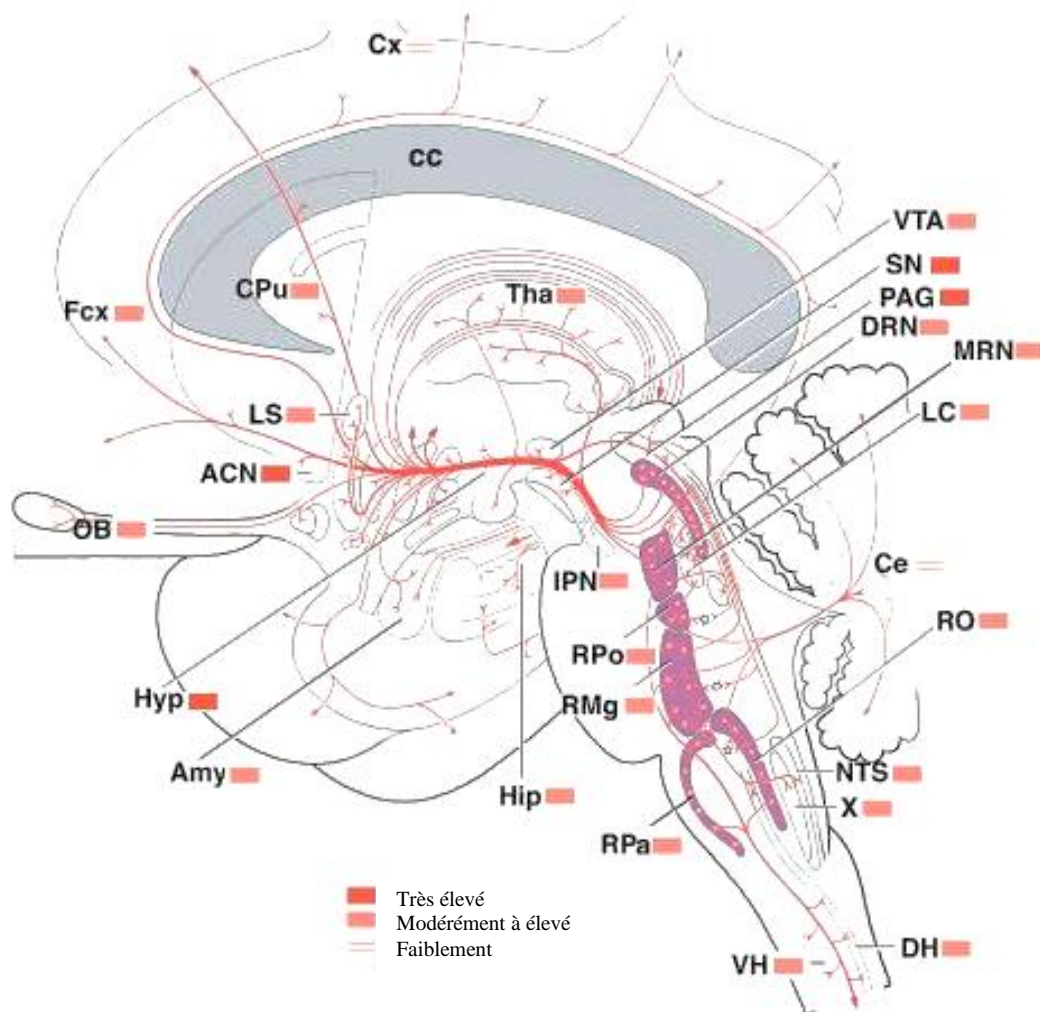


Figure 3: Schéma d'une vue sagittale de cerveau humain détaillant les voies sérotoninergiques

Les noyaux du raphé apparaissent en violet et les projections sérotoninergiques en rouge. Le niveau de densité d'axones arrivant dans les zones cibles est représenté par les carrés colorés. X, noyau dorsal du nerf vague; ACN, noyau accumbens; Amy, amygdale; cc, corpus calleux; Ce, cervelet; CPu, noyau caudé-putamen; Cx, cortex; DH, corne dorsale de la moelle épinière; DRN, noyau du raphé dorsal; Fcx, cortex frontal; Hip, hippocampe; Hyp, hypothalamus; IPN, noyau interpédonculaire; LC, locus coeruleus; LS, septum lateral; MRN, noyau du raphé médian; NTS, noyau du tractus solitaire; OB, bulbe olfactif; PAG, substance grise périaqueducule; RMg, noyau du raphé magnus; RO, noyau du raphé obscurus; Rpa, noyau du raphé pallidus; RPo, noyau du raphé pontique; SN, substance noire; Tha, thalamus; VH, corne ventrale de la moelle épinière; VTA, aire tegmentale ventrale (adaptée de (Nieuwenhuys, 1985))

On peut distinguer trois principales voies de projections sérotoninergiques. Les neurones sérotoninergiques des noyaux du bulbe rachidien vont envoyer leurs projections vers la moelle épinière et ceux du pont vont se projeter vers le cortex cérébelleux (Steinbusch, 1984). Les neurones sérotoninergiques des noyaux du mésencéphale, quant à eux, vont innervier quasiment le reste du cerveau. Ainsi, les fibres provenant des neurones sérotoninergiques du noyau du raphé médian innervent fortement l'hippocampe, le septum, l'hypothalamus, le cortex cingulaire, le cortex occipital et l'amygdale. Les fibres originaires du noyau du raphé dorsal se projettent vers le locus coeruleus, la substance noire, le striatum, le noyau accumbens, le thalamus, l'hypothalamus, l'amygdale, le cortex entorhinal, le cortex frontal et l'hippocampe. On peut noter que les plus fortes densités de terminaisons sérotoninergiques sont retrouvées dans l'hypothalamus, la substance noire, les noyaux accumbens et la substance grise périaqueducule (Charnay and Leger, 2010).

2. Les récepteurs à la sérotonine

Les récepteurs à la sérotonine sont subdivisés en 7 familles (5-HT₁R à 5-HT₇R). A l'exception du 5-HT₃R, qui est un récepteur canal, ils font tous partie de la superfamille des récepteurs couplés aux protéines G (*figure 4*, (Weis and Kobilka, 2018)).

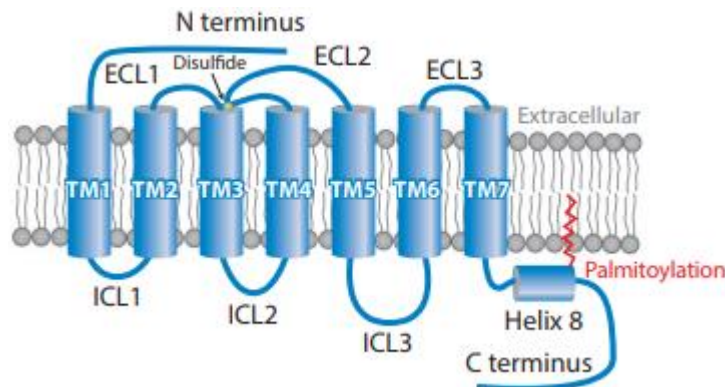


Figure 4: structure générale d'un récepteur couplé aux protéines G (adapté de Weis et Kobilka, 2018)
 TM : domaines trans-membranaires, ECL : boucles extracellulaires, ICL : boucles intracellulaires

Ces récepteurs sont caractérisés par la présence de 7 domaines transmembranaires, une partie amino-terminale extracellulaire et une carboxy-terminale intracellulaire. C'est par leur interaction avec les protéines G que ces récepteurs peuvent moduler l'activité de différents effecteurs intracellulaires.

Les récepteurs à la sérotonine sont couplés aux principales protéines G ($G\alpha_i$, $G\alpha_s$ et $G\alpha_q$), ce qui permet à cette famille de récepteurs d'influer de manière très complexe sur un grand nombre de processus physiologiques et pathologiques qui seront évoqués dans un chapitre ultérieur (figure 5).

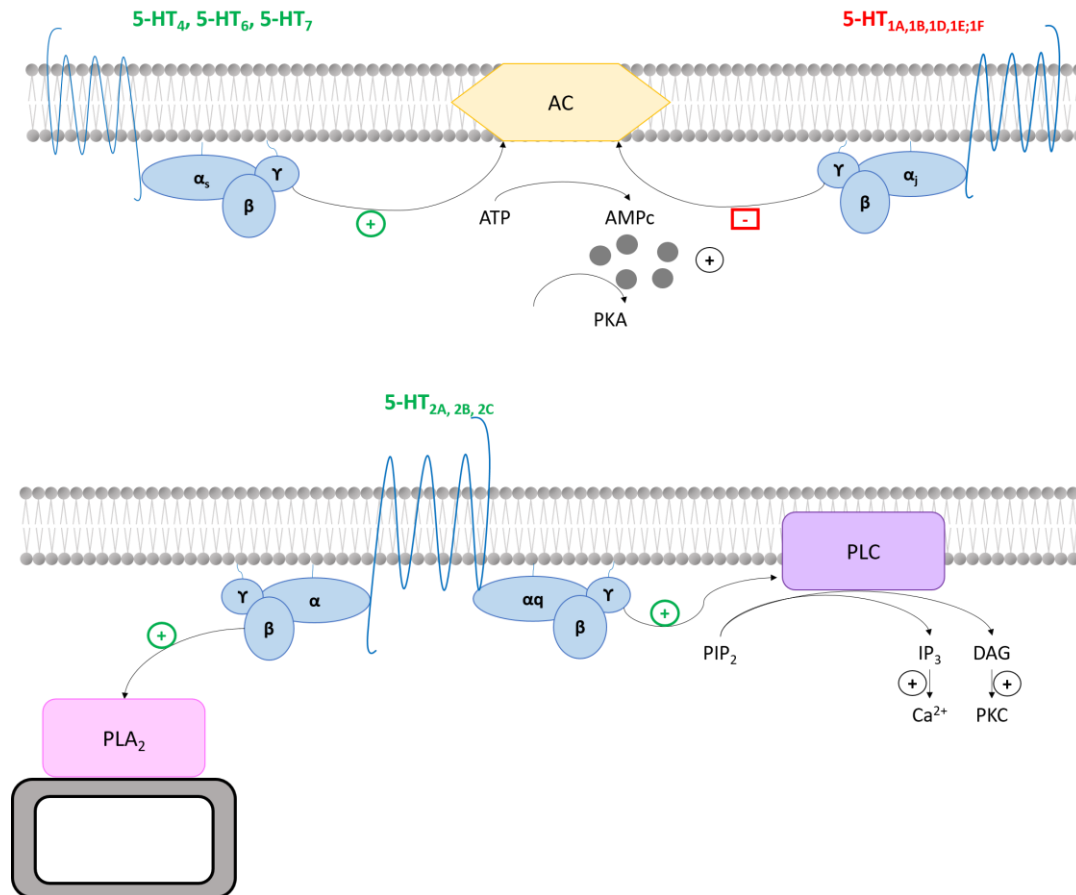


Figure 5: Représentation des principales voies de signalisation associées à la stimulation des récepteurs sérotoninergiques couplés aux protéines G.

AC : adénylate cyclase, ATP : adénosine triphosphate, AMPc : adénosine monophosphate cyclique, PKA : protéine kinase A, PLC : phospholipase C, PLA₂ : phospholipase A₂, PIP₂ : phosphatidyl inositol diphosphate, IP₃ : inositol triphosphate, DAG : diacylglycérol, PKC : protéine kinase C, AA : acide arachidonique

Parmi les récepteurs à la sérotonine couplés aux protéines $G\alpha_i$, on retrouve les 5-HT_{1R} et 5-HT_{5R}. La famille des 5-HT_{1R} comprend 5 sous-types (a, b, d, e et f, le c ayant été reclassé dans la famille des 5-HT₂) et sont usuellement couplés à la protéine $G\alpha_{i2}$ qui inhibe l'adénylate cyclase et entraîne une diminution de l'AMP cyclique (AMPc) (Bockaert et al., 1987).

De cette famille, le récepteur 5-HT_{1aR} est le plus étudié. Il est présent à la fois au niveau pré-synaptique au niveau des noyaux du raphé, où il inhibe la libération de la sérotonine dans le reste du SNC, et au niveau post-synaptique dans le cortex préfrontal médian et d'autres régions corticales, notamment l'hippocampe (Altieri et al., 2013; Bockaert et al., 1987).

Les représentants de la famille des récepteurs 5-HT₅R (a et b) sont assez peu connus, seul le récepteur 5-HT_{5a}R a été mis en évidence au niveau du SNC, au niveau du cortex et du cervelet (Pasqualetti et al., 1998).

Les récepteurs couplés à la protéine G α_q sont les représentants de la famille 5-HT₂R (a, b et c) et entraînent l'activation de la phospholipase C. Il en résulte une production d'inositol triphosphate (IP₃) et di-acylglycerol (DAG) et, *in fine*, une augmentation de la concentration intracellulaire de calcium (Roth et al, 1998). Les 5-HT_{2a}R (Willins et al., 1997) et 5-HT_{2c}R (Molineaux et al., 1989) sont densément répartis dans l'ensemble du SNC alors que les 5-HT_{2b}R sont très exprimés au niveau des reins et du foie avec une faible présence dans l'ensemble du cerveau (Bonhaus et al., 1995).

Les 5-HT₄R, 5-HT₆R et 5-HT₇R sont couplés à la protéine G α_s qui va activer l'adénylate cyclase et entraîner une augmentation d'AMPC. Les récepteurs 5-HT₄ sont présents dans l'ensemble de l'encéphale mais de façon hétérogène ; ainsi ils sont le plus fortement exprimés dans le système limbique. Les 5-HT₆R sont très fortement présents au niveau du striatum et, de façon bien moindre, dans l'hippocampe le cortex et l'amygdale (Marazziti et al., 2012). Les 5-HT₇R sont quant à eux très densément présents au niveau du thalamus antérieur et du gyrus denté et de manière moins dense au niveau de l'hypothalamus, du gyrus cingulaire antérieur, de l'amygdale et du reste de l'hippocampe (Varnäs et al., 2004).

Enfin, comme évoqué précédemment les 5-HT₃R sont les seuls représentants de la famille des récepteurs à la sérotonine à ne pas être de type métabotropiques. Ce sont des récepteurs canaux, de la superfamille des récepteurs Cys-Loop, dont l'activation entraîne l'ouverture et l'entrée de cations. Ces récepteurs sont constitués de 5 sous-unités, dont il existe 5 sous-types a, b, c, d, et e, qui peuvent être assemblées de manière homo-pentamérique (uniquement pour 5-HT_{3a}R) ou hétéro-pentamérique (5-HT_{3ab}R, 5-HT_{3ac}R, 5-HT_{3ad}R et 5-HT_{3ae}R). Il est à noter que la spécificité de conductivité ionique est affectée par la constitution du récepteur, ainsi les homo-pentamères laissent passer indifféremment sodium et calcium alors que les hétéro-pentamères favorisent le passage du sodium (pour revue (Barnes et al., 2009)). Chez l'homme, ces récepteurs sont très présents dans le complexe vagal dorsal au niveau du tronc cérébral, zone qui comprend notamment les noyaux du faisceau solitaire et l'*area postrema* (Pratt et al., 1990). Ils sont aussi présents de manière diffuse au niveau central avec une plus forte densité (mais beaucoup plus faible que dans le tronc cérébral) au niveau de l'hippocampe et du striatum (Parker et al., 1996).

3. Rôles physiologiques et implications physiopathologiques de la sérotonine

La sérotonine étant présente dans tous les compartiments du corps, à la fois au niveau central et périphérique, et ayant une telle multiplicité de cibles, il n'est pas surprenant de constater qu'elle participe à de nombreuses fonctions de l'organisme. On peut par exemple citer la thermorégulation, les comportements alimentaires et sexuels ou encore le cycle veille/sommeil. Nous allons maintenant détailler certaines fonctions pour lesquelles les récepteurs à la sérotonine constituent une cible thérapeutique avérée.

Au niveau périphérique

Au niveau intestinal, la sérotonine contribue à la régulation de la mobilité du contenu alimentaire. L'arrivée du bol alimentaire entraîne une distension des parois stomacales et intestinales ce qui provoque la sécrétion de la sérotonine par les cellules entérochromaffines. La sérotonine libérée va alors stimuler les fibres nerveuses sensibles tout au long du tube digestif et agir sur les 5-HT₃R et 5-HT₄R pour stimuler les réflexes péristaltique et sécrétoire (Kadowaki et al., 1996). Même si des études plus récentes semblent démontrer que la sécrétion de la sérotonine est plus une conséquence qu'une cause de la mobilité intestinale (Bertrand, 2006), on observe tout de même une inhibition de cette mobilité en présence d'antagonistes des 5-HT₃R et 5-HT₄R (Sia et al., 2013). La stimulation des 5-HT₄R est donc utilisée en thérapeutique pour le traitement de la constipation (ex : le prucalopride).

La stimulation des 5-HT₃R au niveau de l'*area postrema*, une zone cérébrale dépourvue de barrière hémato-encéphalique et donc à même de capter les toxiques circulants dans le sang, provoque une sensation de nausée et des vomissements. La famille thérapeutique dite des «sétrons» (dolansétron, granisétron, tropisétron, ondansétron), des antagonistes des récepteurs 5-HT₃R, est utilisée pour traiter les nausées et les vomissements provoqués par les médicaments anticancéreux (Billio et al., 2010) ainsi qu'en prévention des vomissements post-opératoires.

Les agonistes des 5-HT₄R sont particulièrement efficaces au niveau de l'œsophage où ils exercent un effet anti-reflux par stimulation de la motricité du tube digestif. Le cisapride (Prépulsid®), agoniste des 5-HT₄R et agoniste partiel des 5-HT₃R, a été largement utilisé pour traiter le reflux gastro-oesophagien et la gastroparésie. En raison d'effets indésirables graves d'origine cardiaque, il a depuis été retiré du marché aux Etats-Unis. En France, il est encore utilisé mais soumis à une prescription initiale hospitalière après échec des autres traitements et doit être suivi étroitement par des spécialistes de la pathologie concernée. Le tégaserod,

agoniste des 5-HT₄R a été mis sur le marché en 2002 aux Etats-Unis et dans divers pays sauf en Europe, dans le traitement du syndrome du côlon irritable et de la constipation. Il a été retiré du marché en 2007 à cause de nombreux effets indésirables digestifs et cardio-vasculaires.

Au niveau central

La sérotonine est hautement impliquée dans le contrôle de nos émotions ; elle est donc sans surprise très étudiée dans le contexte de la dépression. La théorie monoaminergique de la dépression date du milieu des années 1960. Selon cette théorie, une baisse de l'activité monoaminergique (en particulier sérotoninergique et noradrénergique) serait à l'origine de la dépression mentale et cette maladie pourrait être traitée par des médicaments qui augmentent l'activité de ces neurotransmetteurs (Schildkraut, 1965). Cette hypothèse s'est développée suite à l'observation qu'environ 15% des patients traités par la réserpine (un médicament initialement prescrit contre l'hypertension artérielle) développaient des troubles de l'humeur, et notamment des épisodes dépressifs. En étudiant le mode d'action de la réserpine, sa capacité de blocage du transporteur vésiculaire des monoamines, le VMAT, fut mise en évidence. Ceci empêche la sérotonine (et les autres monoamines) d'être stockée dans des vésicules et la rend donc plus vulnérable à la dégradation par les monoamines oxydases. A peu près à la même période, l'isoniazide (Rimifon®), un antibiotique utilisé dans le traitement de la tuberculose, s'est avéré avoir des effets de type « euphorisant » chez les patients dépressifs atteints de cette infection. Il a par la suite été démontré que cette molécule est capable d'inhiber les monoamines oxydases et donc la dégradation de la sérotonine et des autres monoamines. L'iproniazide (Marsilid®), un dérivé de l'isoniazide dépourvu d'effets antituberculeux, fut alors développé comme premier antidépresseur de la classe des inhibiteurs de monoamines oxydases (IMAO). Par la suite, des IMAO sélectifs de la MAO de type A ont été synthétisés. A l'heure actuelle, un seul IMAO-A est commercialisé en France : le moclobémide (Moclamine®).

Une autre classe thérapeutique de médicaments à visé antidépressive plus récente et largement prescrite a pour mécanisme d'action le maintien d'un taux de sérotonine synaptique normal en inhibant sa recapture : ce sont les inhibiteurs sélectifs de recapture de la sérotonine (ISRS). Cette classe comprend de nombreux représentants dont les plus prescrits sont la fluoxétine (Prozac®), la fluvoxamine (Floxyfral®), le citalopram (Seropram®), l'escitalopram (Seroplex®), la paroxétine (Deroxat®) et la sertraline (Zoloft®) (Owens, 2004). Ces molécules se lient au SERT, mais ne sont pas transportés à l'intérieur de la cellule, ils vont donc bloquer durablement son action. La résultante est une augmentation de la concentration extracellulaire

de sérotonine par défaut d'élimination, car celle-ci n'est plus récupérée depuis la fente synaptique vers la terminaison nerveuse pré-synaptique. Enfin il existe une dernière classe thérapeutique très proche, ayant un mode d'action similaire mais moins spécifique : ce sont les inhibiteurs de recapture de la sérotonine et de la noradrénaline (IRSNA) parmi lesquels on compte la venlafaxine (Effexor®), le milnacipran (Ixel®) et la duloxétine (Cymbalta®).

Une autre pathologie dans laquelle la sérotonine est une cible intéressante est la schizophrénie. C'est une pathologie psychiatrique caractérisée par une triade de symptômes : des symptômes dits « positifs » ou productifs (hallucinations, pensées délirantes, hyperactivité...), des symptômes négatifs ou déficitaires (retrait social, perte de volonté...) et des symptômes cognitifs (d'ailleurs parmi les premiers à apparaître au cours de la maladie) comme par exemple des pertes de mémoire ou des déficits de l'attention. Si, en premier lieu c'est la dopamine qui a été le système de neurotransmission le plus étudié dans le contexte de cette pathologie, la découverte d'une activité antagoniste des 5-HT₂R par les médicaments neuroleptiques dits « atypiques » (clozapine, loxapine, olanzapine, rispéridone et aripiprazole) a suscité un intérêt pour l'étude de la sérotonine dans cette pathologie (Meltzer and Huang, 2008). Par ailleurs, certains de ces neuroleptiques atypiques comme la clozapine sont aussi des agonistes partiels des 5-HT_{1a}R (Rollema et al., 1997). Enfin, des antagonistes des 5-HT₆R sont à l'étude en tant que traitements adjuvants des thérapies classiques pour leur intérêt au niveau des troubles cognitifs associés à la schizophrénie (Nikiforuk, 2014).

La sérotonine semble aussi être impliquée dans la génération de la crise de migraine. Cette maladie se caractérise par des céphalées intenses, pulsatiles, classiquement unilatérales et s'accompagne souvent de nausées, de vomissements et de photo/phonophobie. Ce sont ici les propriétés vaso-constrictrices de la sérotonine qui sont responsables du processus pathologique. En effet, l'origine de la migraine est une diminution du flux cérébral par vasoconstriction, suivie d'une vasodilatation réactionnelle qui est responsable des céphalées. Plusieurs récepteurs sérotoninergiques, de par leur présence au niveau vasculaire, peuvent être impliqués dans la vasoconstriction cérébrale caractéristique de la migraine. La classe thérapeutique des « triptans » (sumatriptan, zolmitriptan...) est constituée d'agonistes sélectifs des 5HT_{1B/D}R. La stimulation de ces récepteurs, présents au niveau post-synaptique sur les artères cérébrales, provoque une vasoconstriction qui va s'opposer à la vasodilatation réflexe. De plus, la liaison de ces agonistes aux autorécepteurs 5HT_{1B/D} pré-synaptiques inhibe la libération de molécules pro-inflammatoires (peptide lié au gène de la calcitonine (CGRP), peptide vasoactif intestinal (VIP), substance P) et des facteurs vasodilatateurs impliqués dans la physiopathologie de la crise

migraineuse. Les dérivés de l'ergot de seigle (ergotamine, méthysergide...) sont utilisés en traitement préventif de la migraine et sont eux aussi capables d'interagir avec le système sérotoninergique.

Enfin, de nombreuses études mettent en évidence un intérêt majeur de la sérotonine dans les processus cognitifs, notamment dans l'apprentissage et la mémoire, ce qui fera l'objet d'un chapitre ultérieur.

II. Caractéristiques du récepteur 5-HT₄

Nous allons maintenant évoquer en détail les caractéristiques du 5-HT₄R, qui fait l'objet principal de ce mémoire de thèse.

1. Historique

Le 5-HT₄R, dont l'existence a longtemps fait face au scepticisme, a été pour la première fois décrit dans la fin des années 1990 (1988-1989) comme un récepteur à la sérotonine activant la production d'AMPC et insensible aux antagonistes des 5-HT₁R, 5-HT₂R et 5-HT₃R classiquement utilisés, à l'exception du tropisétron (pour lequel une faible activité antagoniste 5-HT₄R fut par la suite identifiée) (Dumuis et al., 1988). Par la suite, les benzamides (comme le metoclopramide ou le cisapride) furent reconnus comme de puissants agonistes de ces récepteurs. Ils permirent de faire le lien avec un autre récepteur à la sérotonine non classifié et responsable d'effets pro-kinétiques dans l'iléon de cochon d'inde. Ces effets n'étaient pas bloqués non plus par les antagonistes des 5-HT₁R, 5-HT₂R et 5-HT₃R classiquement utilisés, à l'exception encore une fois du tropisétron (Ford and Clarke, 1993). C'est donc de la synthèse de nombreuses études émanant de différentes équipes dont les travaux portaient sur des sujets très variés (activité de l'adénylate cyclase dans les tissus neuronaux de rongeurs, contractions de l'intestin chez le cochon d'inde, relaxation des muscles lisses de l'œsophage de rat ou encore activité des muscles cardiaques) que le 5-HT₄R a été identifié, regroupant sous un même nom de nombreux récepteurs « orphelins » de la sérotonine. Par la suite, le développement de ligands plus spécifiques permit d'étudier la distribution de ce récepteur dans l'organisme (Reynolds et al., 1995) avant que son gène ne soit cloné, d'abord chez le rongeur (Claeyssen et al., 1996; Gerald et al., 1995) puis chez l'homme (Blondel et al., 1997; Claeyssen et al., 1999) et localisé sur le chromosome 5.

2. Structure et fonctionnement du récepteur 5-HT₄

Le 5-HT₄R, comme la majorité des récepteurs à la sérotonine appartient à la famille des récepteurs à 7 domaines transmembranaires et, comme évoqué précédemment, il est classiquement couplé à la protéine G_{αs}. Cependant de nombreuses particularités structurales impactant le fonctionnement de ce récepteur ont été décrites.

Isoformes du récepteur 5-HT₄

Le premier clonage de ce récepteur a été réalisé chez le rat en 1995 (Gerald et al., 1995). Cette équipe a isolé deux ADNc qu'ils ont appelés 5-HT_{4S} et 5-HT_{4L} (s pour short et l pour long) et qu'on nomme maintenant 5-HT_{4a} et 5-HT_{4b}. Par la suite de nombreux autres ADNc ont été isolés chez le rat, la souris et l'homme. L'alignement de leurs séquences d'acides aminés révèle que leur séquence est commune jusqu'à la leucine 358, et que les séquences qui suivent cette position diffèrent et définissent les 8 variants d'épissage clonés chez l'humain (a, b, c, d, e, f, g, n). Une neuvième isoforme, h, présente uniquement dans le variant 5-HT_{4b} (d'où son appellation 5-HT_{4hb}) présente une insertion de 14 acides aminés supplémentaires dans la seconde boucle extracellulaire du récepteur (*figure 6*, (Bockaert et al., 2004)).

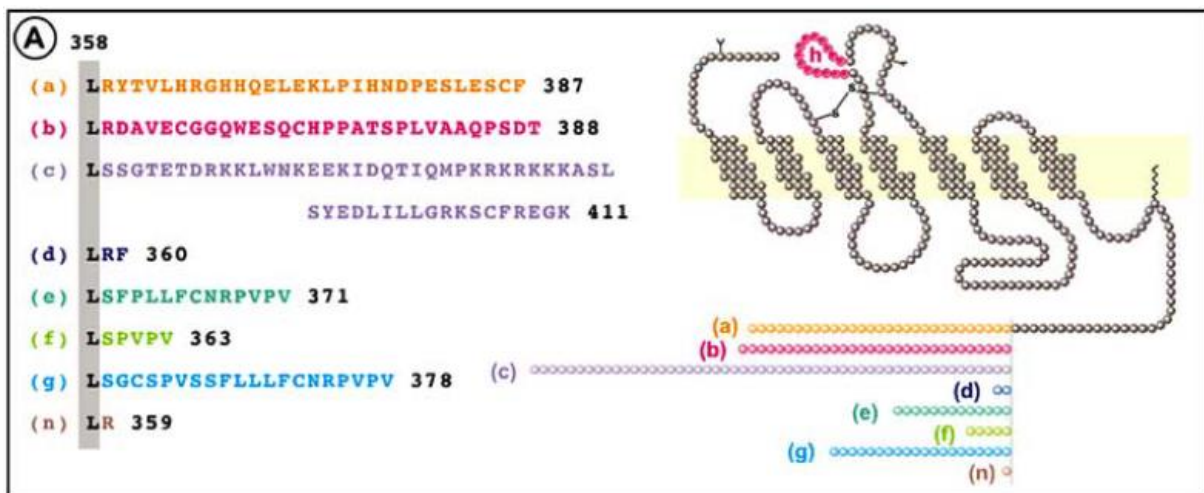


Figure 6 : Variants d'épissage du gène humain des récepteurs 5-HT₄ (d'après Bockaert et al., 2004)

Enfin, une autre étude ajoute à ces 9 isoformes, l'isoforme i qui a une séquence commune à la b avec 120 paires de bases en plus au niveau c-terminal et sépare l'isoforme g en deux isoformes distinctes g1 et g2 (Brattelid et al., 2004).

Ces isoformes présentent des répartitions variables dans les tissus : ainsi l'isoforme 5-HT_{4b} est la plus présente dans l'atrium humain (Lezoualc'h et al., 2007), alors que les isoformes e et f ne sont pas détectées au niveau périphérique (Claeyssen et al., 1999). Il a même été rapporté la possibilité d'un polymorphisme individuel au niveau de l'expression de ces isoformes chez l'homme, avec une expression et une répartition pouvant varier d'un individu à un autre (Bender et al., 2000).

Les différences de distribution de ces isoformes du 5-HT₄R ont d'autant plus d'importance d'expression que, même s'il a été démontré qu'elles partagent des caractéristiques pharmacologiques similaires au niveau des études de liaison (Bender et al., 2000), ce n'est pas toujours le cas au niveau fonctionnel. Ainsi on peut citer de nombreux exemples : le GR113808, un antagoniste de référence, se comporte comme un agoniste partiel avec l'isoforme 5-HT_{4hb} (Bender et al., 2000). Les 5-HT_{4d}R sont plus facilement découplés de l'adénylate cyclase que les 5-HT_{4e}R, signifiant une désensibilisation plus rapide de cette isoforme (Mialet et al., 2003). Ou encore, exprimé dans des cellules HEK 293, le variant 5-HT_{4b} est couplé à la fois à la protéine G_{αs} et à G_{αi/o} ce qui n'est pas le cas du 5-HT_{4a} qui n'est couplé qu'à G_{αs} (Pindon et al., 2002).

Par ailleurs, indépendamment du couplage ou de la susceptibilité variable à un ligand donné, ces récepteurs ont une particularité qui va dépendre de l'isoforme considérée : leur activité constitutive. En effet, il apparaît que toutes les isoformes du 5-HT₄R ont une activité constitutive marquée. Cependant le niveau de cette activité est inversement proportionnel à la longueur de la chaîne C terminale (Claeyssen et al., 1999). Ainsi les isoformes e et f, plus courtes que les isoformes a et b, ont une activité constitutive qui leur est deux fois supérieure.

Signalisation intracellulaire du récepteur 5-HT₄

Classiquement le 5-HT₄R est couplé à la protéine G_{αs}. Cependant des voies de couplage avec d'autres protéines G ont été décrites dans la littérature (*figure 7*). De même il existerait pour ce récepteur des voies de signalisation indépendantes de l'activation des protéines G (pour revue (Woehler and Ponimaskin, 2009)). Ainsi, en plus du classique couplage avec la protéine G_{αs}, il a été montré que l'isoforme 5-HT_{4b} peut être couplé à la protéine G_{αi/o} (Pindon et al., 2002) comme évoqué précédemment.

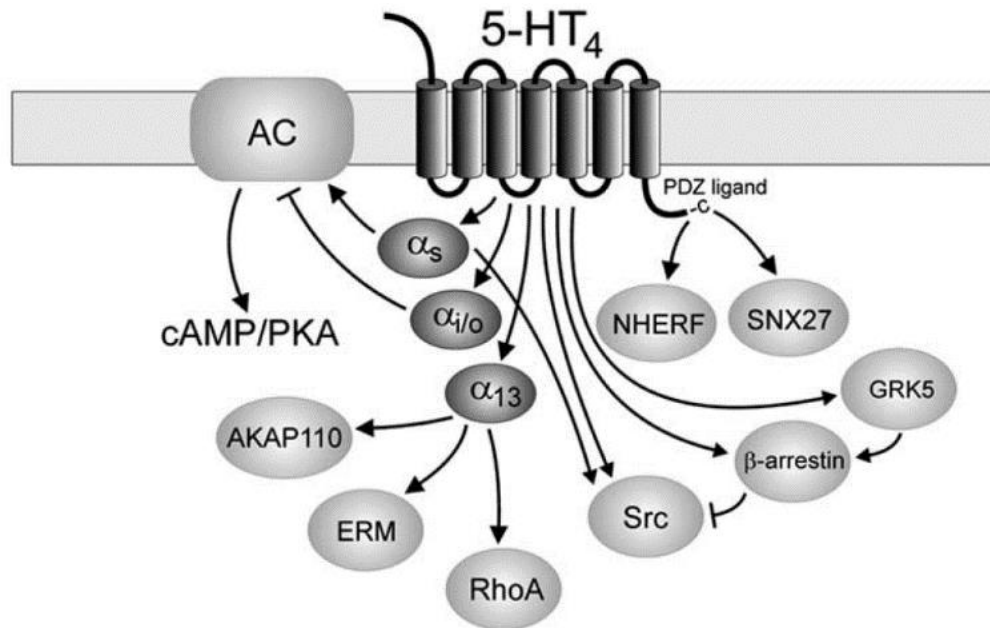


Figure 7: voies de transduction du récepteur 5-HT₄ (d'après Woehler et Ponimaskin, 2009)

AC : adénylate cyclase ; PKA : protéine kinase A ; cAMP : adénosine monophosphate cyclique ; AKAP 110 : protéine d'ancrage des kinases A ; ERM : ezrine/radixine/moésine ; RhoA : homologue des protéines Ras, membre A ; NHERF : facteur régulateur de l'échange sodium-hydrogène ; SNX27 : membre 27 de la famille des nexines de triage ; GRK5 : kinase 5 régulée par les protéines G

De plus un couplage avec la protéine $G_{\alpha 13}$ a été mis en évidence, permettant l'activation de la petite GTPase RhoA et des protéines de la famille ERM (Ezrine/Radixine/Moésine), ces deux effecteurs ayant un rôle régulateur au niveau du cytosquelette, et menant à la rétraction de neurites et à l'arrondissement cellulaire (Ponimaskin et al., 2002). Par ailleurs la protéine $G_{\alpha 13}$ est aussi capable de provoquer la libération de PKA par AKAP110, ce qui aboutit à une activation AMPc-indépendante de la PKA (Niu et al., 2001). Enfin la possibilité d'un couplage avec la protéine $G_{\alpha q}$ a été, elle aussi, mise en évidence et de nombreux agonistes des 5-HT₄R ont démontré leur aptitude à entraîner la production d'inositol triphosphate (IP₃) (Gaven et al., 2013). Il est cependant important de noter que ces voies de couplage « secondaires » ont été observées dans des systèmes hétérologues, l'existence *in vivo* de ces mécanismes restant donc encore à prouver.

La principale voie de transduction des 5-HT₄R indépendante des protéines G est l'activation de la tyrosine kinase SRC qui active par la suite la voie ERK (Extracellular signal-regulated kinases), une voie notamment impliquée dans l'apprentissage et la mémoire (Barthet et al., 2007). Enfin des protéines peuvent interagir directement avec la partie C-terminale du 5-HT₄R, notamment avec l'isoforme 5-HT_{4a} pour les protéines NHERF et SNX27 qui joueraient un rôle dans l'adressage du 5-HT₄R (Joubert et al., 2004).

Mécanismes de désensibilisation du récepteur 5-HT₄

Les 5-HT₄R sont sensibles à des mécanismes de sensibilisation lorsqu'ils sont activés régulièrement. Cette désensibilisation se traduit par un découplage du récepteur avec ses effecteurs et donc une perte d'activité avec, par la suite, la possibilité d'internalisation du récepteur. Une désensibilisation homologue des récepteurs a été décrite au niveau du *colliculus* chez la souris (Ansanay et al., 1992), de l'œsophage chez le rat (Ronde et al., 1995) ou encore au niveau du cœur chez l'homme (Kaumann et al., 1990) avec des degrés d'intensité variable entre les études. Ce dernier élément fut confirmé par la suite par une autre étude démontrant que l'ampleur de la désensibilisation varie selon l'isoforme du récepteur concernée (Mialet et al., 2003). De même, l'internalisation des récepteurs est elle aussi dépendante de l'isoforme (Mnie-Filali et al., 2010).

Barthet et ses collaborateurs (Barthet et al., 2005) ont démontré que la désensibilisation de la voie de transduction protéine G-dépendante nécessite une expression élevée de la protéine GRK2 (G protein-coupled receptor kinase) au contraire de l'internalisation qui, elle, nécessite la présence d'une zone riche en sérine et thréonine présente dans la queue C-terminale de toutes les isoformes du 5-HT₄R. La même équipe démontrera par la suite que la voie protéine G-indépendante est désensibilisée par la β -arrestine après phosphorylation par la GRK5 (Barthet et al., 2009).

3. Localisation du récepteur 5-HT₄

La distribution du 5-HT₄R dans l'organisme a été très étudiée, à la fois chez le rongeur et chez l'homme. Les premiers résultats proviennent d'études de liaison utilisant des antagonistes radiomarqués, essentiellement le [³H]GR113808 réalisées avant le clonage du récepteur. Par la suite s'ajoutèrent des études utilisant l'hybridation *in situ* et la RT-PCR ainsi que des études utilisant des anticorps spécifiques du 5-HT₄R (dont la spécificité fait cependant débat) et des études électrophysiologiques.

Système nerveux central

Les 5-HT₄R sont très présents dans les structures du système limbique (hypothalamus, hippocampe, noyaux *accumbens*, amygdale, *figure 8*), au niveau des ganglions de la base, des tubercules olfactifs et dans la substance noire (Vilaró et al., 1996, 2005). Chez le rat et la souris, les sites de liaison avec le [³H]GR113808 sont plus densément présents sur l'enveloppe des noyaux *accumbens* qu'au centre (Compan et al., 1996).

Chez le rat, la densité de récepteur est plus importante dans le striatum latéral que médial. De même si l'on observe une densité moyenne de récepteurs dans l'ensemble des zones corticales, une prédominance apparaît au niveau du cortex préfrontal en comparaison des régions fronto-pariétales (Compan et al., 1996). La densité de 5-HT₄R est modérée dans les sous-structures thalamiques et hypothalamiques et faible dans les noyaux du raphé (Bockaert and Dumuis, 1997; Waeber et al., 1995).

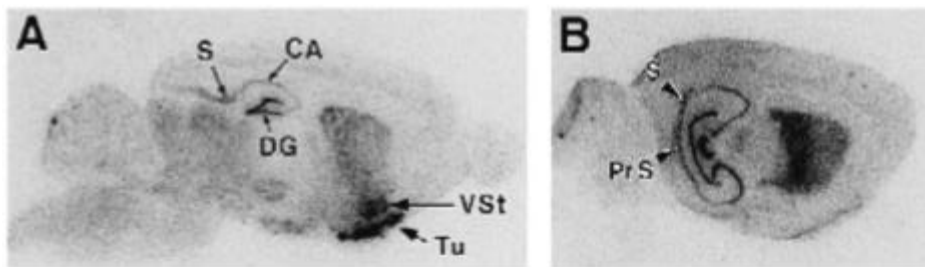


Figure 8: distribution régionale des ARNm des récepteurs 5-HT₄ dans le cerveau de rat (d'après Vilaró et al, 1996)

Chez l'homme, une étude *post-mortem* a rapporté une distribution similaire, avec de fortes densités de fixation dans les ganglions de la base et l'hippocampe, ainsi que le cortex et l'amygdale (Reynolds et al., 1995)(Varnäs et al., 2003, *figure 9*), ce qui sera d'ailleurs confirmé par une étude ultérieure réalisée chez le sujet sain en tomographie par émission de positrons (Marner et al., 2010).

Au niveau cellulaire, une étude menée en hybridation *in situ* a mis en évidence l'absence d'ARNm des 5-HT₄R sur les neurones cholinergiques du prosencéphale basal. Dans cette même étude, les auteurs ont pu observer que les ARNm des 5-HT₄R sont en revanche présents au niveau des populations de neurones GABAergique et glutamatergiques situés dans cette même région cérébrale. Par ailleurs, des transcrits des 5-HT₄R sont également retrouvés dans les neurones glutamatergiques des zones cibles des projections cholinergiques que sont l'hippocampe et le cortex (Peñas-Cazorla and Vilaró, 2015).

Au niveau du cortex, d'après des études électrophysiologiques (Cai et al., 2002), 60% des neurones glutamatergiques expriment des 5-HT₄R. Il a aussi été rapporté une augmentation de la libération d'acétylcholine dans le cortex frontal suite à la stimulation des 5-HT₄R, suggérant la présence de ces récepteurs au niveau pré-synaptique de neurones cholinergiques (Consolo et al., 1994).

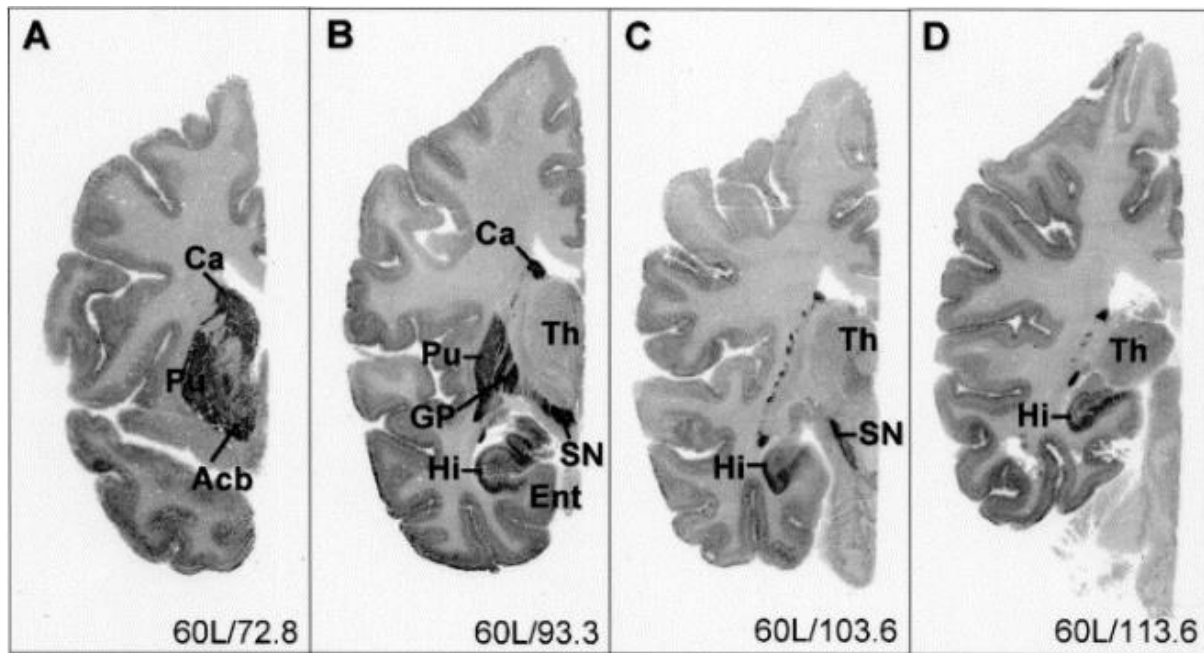


Figure 9: autoradiographie des 5-HT₄R dans un cerveau humain, coupe frontale (d'après Varnäs et al, 2003)
 Acb, noyaux accumbens; Ca, noyaux caudés; DG, gyrus denté; Ent, cortex entorhinal; GP, globus pallidus; Hi, hippocampe ;
 Pu, putamen; SN, substantia nigra; Th, thalamus.

Au niveau de l'hippocampe, des études électrophysiologiques chez le rongeur révèlent la présence des 5-HT₄R au niveau des cellules pyramidales de la région CA1 (Bickmeyer et al., 2002; Matsumoto et al., 2001) et des neurones granulaires du gyrus denté (Bijak and Misgeld, 1997). Une étude ayant réalisé des marquages par hybridation in situ indique la présence des ARNm des 5-HT₄R dans les régions CA1 à CA3 et dans le gyrus denté. En revanche, on n'observe pas de co-localisation entre le marquage de ces ARNm et ceux de la GAD65 qui révèle les interneurons : il semblerait donc que les 5-HT₄R ne soient pas présents sur les interneurons GABAergiques du gyrus denté et des régions CA1 à CA3 (Peñas-Cazorla and Vilaró, 2015). Une étude de liaison avec un ligand radiomarqué chez le rat et le cochon d'Inde indique une présence des 5-HT₄R à un niveau similaire entre ces deux régions (Vilaró et al., 2005).

La répartition de ces récepteurs se fait en couches, dans la région CA1 on observe une plus forte densité au niveau de la *stratum oriens* et *stratum radiatum* par rapport à la *stratum pyramidale* où sont localisés les corps cellulaires des neurones pyramidaux. Dans la région CA3, on observe une répartition similaire avec en plus un fort marquage dans la *stratum lucidum*. Dans le gyrus denté le marquage est plus fort au niveau de la couche moléculaire que dans la couche des cellules granulaires. Ces observations suggèrent que les 5-HT₄R ont plutôt une localisation dendritique et axonale (le fort marquage dans la *stratum lucidum* de la région CA3 reflète la présence de ces récepteurs sur les fibres myélinisées qui sont les projections

axonales des neurones granulaires du gyrus denté). La même étude a également procédé à des marquages par hybridation *in situ* et rapporte en revanche une différence d'expression des ARNm de ces récepteurs entre le gyrus denté et les régions CA1 et CA3. Ainsi les ARNm des 5-HT₄R sont plus fortement exprimés dans le gyrus denté que dans les régions CA3 et CA1. Cette différence tiendrait à une plus forte expression des isoformes b dans le gyrus denté alors que les isoformes a et e sont exprimées au même niveau dans ces différentes zones. Chez l'homme, une étude de binding post-mortem avec un ligand radiomarqué indique que les 5-HT₄R sont plus densément présents dans la région CA1 et le subiculum que dans le gyrus denté et la région CA3 (Varnäs et al., 2003).

Tractus digestif

Au niveau du tractus digestif les 5-HT₄R sont présents en grande quantité. Ils sont notamment présents dans l'estomac (plexus myentérique et couche musculaire de l'antra et du fundus) et le colon (plexus myentérique et couche musculaire), dans des proportions similaires chez l'homme et le cochon d'Inde, bien que la densité de récepteurs au niveau du plexus myentérique soit plus élevée vis à vis de la couche musculaire chez le cochon d'Inde par rapport à l'humain chez qui les niveaux sont proches entre les deux couches (Taniyama et al., 2000). Une étude chez la souris a démontré des résultats similaires avec la présence d'ARNm des 5-HT₄R dans l'intestin grêle et le colon avec une plus grande présence de transcrits dans la sous-muqueuse vis-à-vis du plexus myentérique (Liu et al., 2005). Chez le rat, la présence de 5-HT₄R a été rapportée dans l'iléon et le colon mais pas dans le duodénum (Gerald et al., 1995).

Cœur

C'est dans l'atrium qu'on retrouve la présence de 5-HT₄R chez le rat, à l'inverse du ventricule qui en est dépourvu (Gerald et al., 1995). De même, il a été reporté la présence de transcrits 5-HT_{4a} et b (Liu et al., 2005) dans l'oreillette chez la souris bien qu'une étude plus récente indique que ces ARNm disparaissent après la naissance (Kamel et al., 2007).

Une étude de PCR quantitative chez l'humain a permis de montrer des résultats similaires, démontrant la présence d'ARNm des 5-HT₄R dans l'atrium avec une nette prédominance de l'isoforme b (Lezoualc'h et al., 2007). De plus, des études d'hybridation *in situ* ont révélé la présence d'ARNm des 5-HT₄R à la fois dans l'atrium et dans le ventricule (Bach et al., 2001; Brattelid et al., 2004).

Autres viscères

La présence de 5-HT₄R en périphérie a été mise en évidence dans plusieurs autres organes parmi lesquels on compte la vessie, les glandes surrénales et les vaisseaux sanguins, notamment respiratoires. En revanche, il n'a pas été détecté de 5-HT₄R dans le foie (Liu et al., 2005).

4. Approches expérimentaux de modulation de l'activité du récepteur 5-HT₄

Pour étudier les effets des 5-HT₄R dans l'organisme, la mise au point d'outils a été nécessaire et est encore aujourd'hui poursuivie avec des techniques de plus en plus pointues. Nous allons maintenant détailler les moyens pharmacologiques et génétiques utilisées pour explorer l'activité des 5-HT₄R.

Modulation pharmacologique du récepteur 5-HT₄

Les ligands des 5-HT₄R sont regroupés, sauf quelques exceptions, dans 5 grandes familles chimiques : les dérivés de la sérotonine (indoles), les benzamides, les benzoates, les arylcétones et les benzimidazoles (*tableau 1*).

La mise au point d'agonistes spécifiques des 5-HT₄R a commencé par la recherche de composés très proches de la sérotonine. Ainsi une simple méthylation de la fonction alcool de la sérotonine a donné la 5-méthoxytryptamine (5-MeOT) qui perd du fait toute affinité pour les 5-HT₃R, mais reste non sélective vis-à-vis des autres récepteurs à la sérotonine.

Le tegaserod, fruit de modifications structurales plus conséquentes (groupement carbazimidamide) présente une forte affinité associée à une activité moyenne et une grande sélectivité (Buchheit et al., 1995).

La seconde classe d'agonistes est la famille des benzamides et a donné de très nombreux représentants, dont les plus connus ont été, ou sont encore, commercialisés en tant que médicament. La première génération conservait une affinité pour les 5-HT₃R (métopropramide, zacopride), mais de subséquentes modifications ont permis d'obtenir une meilleure sélectivité vis-à-vis des 5-HT₃R (comme le cisapride qui conserve malgré tout une haute affinité pour les récepteurs α 1 et les 5-HT₂R). Enfin la dernière génération a vu encore une amélioration de la sélectivité pour les 5-HT₄R (prucalopride, mosapride) (Briejer et al., 2001; Kato et al., 1996).

Agonistes	pK _i	pEC ₅₀	Efficacité	Sélectivité	Statut
5-HT	7.1 - 7.5	7.4 - 8	E	Aucune	
5-MeOT	6.2	7.7 - 7	E	5-HT ₄ >>5-HT ₃	
Tegaserod	8	8.8	P	Sélectif	Médicament (Zelnorm®)
Cisapride	7.1	7.25	E	5-HT ₂ , α ₁ , hERG	Médicament (Prepulsid®)
SC 53116	7.5 – 8.1	7.64	P/E	Sélectif	
Prucalopride	8 – 8.6	7.5 – 7.8	P	Très sélectif	Médicament (Resolor®)
Mosapride	6.8 – 7	7.1	P	Sélectif	Médicament
LS-65 0155	8.78	6.7 – 8.3		Très sélectif	Phase II
Velusetrag	7.7	7.9 – 8.3	E	Très sélectif	Phase II
RS 67333	8.7	8.4	P	Très sélectif	
RS 67506	8.8	8.6	P	Très sélectif	
YKP 10811	8.3		P	Très sélectif	Phase II
Revexepride					Phase II
BIMU 1	6.4 – 7	6.5 – 8.4	P/E	Faiblement sélectif	
BIMU 8	7 – 7.5	7.1 – 8.1	E	Faiblement sélectif	
Antagonistes					
GR 113808	9.2 – 9.8	8.8 – 9.5		Sélectif	
SB 203186	9	8.3 - 8.7		Très sélectif	
SB 204070	9.2	10.5		Très sélectif	
ML 10375	8.5 – 9	9		Très sélectif	
ATBI 221	8.54	8.3		Très sélectif	
RS 39604	9.1	9.3		Très sélectif	
Agonistes inverses					
GR 125478	10 – 10.4	9.75 - 10		Très sélectif	
SB 207266A	9.5 – 10	10.6		Très sélectif	Phase II

Tableau 1: principaux ligands des récepteurs 5-HT₄ (adapté d'après Bockaert et al, 2004)

E : agoniste entier, *P* : agoniste partiel, *pK_i* : logarithme négatif de la constante d'affinité, *pEC₅₀* : logarithme négatif de la concentration produisant 50% de l'effet maximal d'un agoniste

D'autres classes d'agonistes ont ensuite vu le jour ; ainsi un remplacement de la liaison amide des benzamides par une fonction ester donna la famille des benzoates dont le LS-65 0155 est un représentant doué d'une excellente sélectivité malgré une affinité non négligeable pour les récepteurs σ et α₁D (Moser, 2002). La classe des arylcétones dérive des benzoates mais ne partage pas leur sensibilité à l'hydrolyse et présente une bonne affinité ainsi qu'une excellente biodisponibilité et la capacité à traverser la barrière hémato-encéphalique (Eglen et al., 1995).

Un représentant notable de cette classe est le RS67333. Ce composé a une haute affinité ($pK_i = 8.7$) et une grande sélectivité pour les 5-HT₄R. En effet il présente une faible affinité pour tous les autres récepteurs testés (pK_i aux alentours de 6) à l'exception des récepteurs σ pour lesquels il a une affinité similaire aux 5-HT₄R (Eglen et al., 1995). Ces propriétés en font un outil pharmacologique extrêmement utilisé dans la littérature pour l'observation des effets de la stimulation des 5-HT₄R autant *in vitro* que *in vivo*. Enfin, les molécules de la classe des benzimidazolones, dont les représentants sont le BIMU 1 et BIMU 8, présentent une très bonne affinité et activité mais sont peu sélectifs (haute affinité 5-HT₃ et σ_2) (Bonhaus et al., 1993).

Parmi les antagonistes des 5-HT₄R, le GR 113808, de la famille des indoles, a été le premier à associer une haute affinité pour les 5-HT₄R et une faible pour les 5-HT₃R (Gale et al., 1994). De plus, il a été le premier radio-ligand des 5-HT₄R disponible dans le commerce et a donc été d'une importance fondamentale pour les études de distribution des 5-HT₄R dans l'organisme (Grossman et al., 1993). Parmi les antagonistes il n'y a pas de représentant de la famille des benzamides qui sont tous agonistes. En revanche, quand l'amide est substitué par un ester on obtient un antagoniste. On peut citer le ML10375 et le SB 204070 comme exemples de cette particularité (Gaster and Sanger, 1994). La classe des arylcétone contient des molécules ayant plusieurs avantages : le remplacement de l'ester par une cétone donne une meilleure biodisponibilité ; ces molécules ont aussi la capacité de traverser la barrière hémato-encéphalique. Le représentant le plus utilisé de cette classe est le RS 39604 qui présente une excellente affinité ($pK_i = 9.1$) et une très bonne sélectivité (pK_i aux alentours de 6 pour la majorité des récepteurs testés) pour les 5-HT₄R (Hegde et al., 1995).

Modifications de l'expression du gène codant pour le récepteur 5-HT₄

En complément des méthodes pharmacologiques, il est possible d'étudier le rôle des 5-HT₄R, par exemple, par l'utilisation de modèles génétiques de souris chez lesquels le gène codant pour le récepteur est modifié.

Un seul modèle de souris KO, n'exprimant pas le 5-HT₄R, a été produit (Compan et al., 2004). Ces souris ont été générées par l'insertion d'une mutation au niveau de l'exon codant pour la troisième boucle transmembranaire du récepteur. Au final, des souris hétérozygotes de fond génétique 129/SV ont été obtenues et leur croisement permet la génération de 18% de souris homozygotes. Ces souris ont un développement normal, bien que la proportion d'individus homozygotes produits soit anormale (la génétique Mendélienne supposerait une proportion de 25%), ce qui suggère une mortalité fœtale un peu supérieure.

Un autre modèle de souris transgénique, surexprimant le 5-HT₄R humain dans les tissus cardiaques a été créé (Gergs et al., 2010, 2013). Ce modèle a été produit afin d'étudier les effets cardiaques provoqués par l'activation des 5-HT₄R chez l'homme en tirant parti du fait que ces récepteurs ne sont présent au niveau cardiaque que durant le développement chez la souris (Kamel et al., 2007).

5. Rôles physiologiques et implications physiopathologiques du récepteur 5-HT₄

La connaissance des effets périphériques de la modulation de l'activité des 5-HT₄R dans l'optique d'un traitement central ciblant ces récepteurs est capitale afin de prévoir et si possible éviter d'éventuels effets indésirables.

C'est dans le tractus digestif que le rôle des 5-HT₄R a le plus été étudié au niveau périphérique. Dans ce système, l'activation des récepteurs 5-HT₄ a un effet pro-kinétique et va, de manière générale, favoriser l'avancée du contenu gastro-intestinal. Dans ce sens, il a été rapporté une augmentation de la sécrétion muqueuse et une augmentation du réflexe péristaltique (pour revue Hegde and Eglen, 1996). Une étude réalisée sur le colon humain a montré que ces effets pro-kinétiques passeraient par une augmentation de la libération d'acétylcholine (Cellek et al., 2006). Cependant, des études récentes ont indiqué que la sérotonine endogène ne semble pas vraiment impliquée dans le contrôle de la motilité intestinale (Bertrand, 2006; Li et al., 2011b; Spencer et al., 2011) alors même que l'administration d'antagonistes des 5-HT₃R et 5-HT₄R inhibe le réflexe péristaltique et la mobilité gastro-intestinale (Heredia et al., 2009; Kadowaki et al., 1996). On peut donc supposer que les 5-HT₄R auraient plus un rôle modulateur qu'un rôle générateur de la motilité intestinale.

L'observation du modèle de souris KO pour les 5-HT₄R permet de plus de révéler la nécessité de leur présence pour la croissance et la maintien des neurones au niveau du système nerveux entérique (Liu et al., 2009).

Au niveau cardiaque, la stimulation des 5-HT₄R aurait un rôle inotrope et chronotrope positifs (Blondel et al., 1997). On suppose donc que l'action d'agonistes des 5-HT₄R pourrait entraîner des arythmies cardiaques. Au niveau des vaisseaux sanguin, l'activation des 5-HT₄R entraine un relâchement vasculaire (pour revue Hegde and Eglen, 1996).

Au niveau de la vessie, l'effet d'une activation de ces récepteurs favorise la miction en modulant la transmission cholinergique (l'incontinence urinaire étant d'ailleurs un des effets

secondaires du cisapride). L'activation des 5-HT₄R au niveau des glandes surrénales entraîne une augmentation de la libération de cortisol, de corticostérone et d'aldostérone.

Au niveau central, les effets d'une modulation des 5-HT₄R sur les processus de mémoire et d'apprentissage ont été beaucoup étudiés comme nous le développerons dans un chapitre ultérieur.

Par ailleurs, les 5-HT₄R ont été plus récemment considérés comme une cible thérapeutique intéressante pour le traitement de la dépression. En effet une étude *post-mortem* réalisée sur les cerveaux de victimes de suicides violents, n'ayant pas suivi de traitement antidépresseur, a démontré une augmentation de la densité de 5-HT₄R et d'AMPC au niveau du cortex frontal et des noyaux caudés par rapport aux cerveaux de sujets témoins (Rosel et al., 2004). Par la suite, une étude réalisée chez le rongeur a mis en évidence que suite à l'activation des 5-HT₄R pendant 3 jours, on pouvait observer une réduction de l'immobilité dans le test de la nage forcée, une réduction de l'hyper-locomotion induite par ablation du bulbe olfactif et le rétablissement à la normale de la consommation de sucrose suite à un stress chronique (Lucas et al., 2007). Cette étude démontre non seulement la viabilité de cette stratégie thérapeutique dans le traitement de la dépression mais aussi révèle un profil d'action très intéressant car les effets antidépresseurs sont observés après un traitement beaucoup plus court que pour les thérapies classiques (3 jours contre 2 à 3 semaines pour les ISRS). Une telle particularité est d'une importance fondamentale en clinique car le délai d'action des antidépresseurs utilisés à l'heure actuelle est souvent une période critique pendant laquelle le risque de passage à l'acte (tentative de suicide) est augmenté.

De nombreuses autres études ont depuis démontré un lien, si ce n'est un intérêt, entre les 5-HT₄R et la dépression (Bai et al., 2014; Castello et al., 2018; Darcet et al., 2016; Licht et al., 2009; Tamburella et al., 2009). Par ailleurs, des travaux menés sur les souris KO pour les 5-HT₄R rapportent que l'absence de ces récepteurs affecte négativement l'effet des ISRS (Amigó et al., 2016).

De plus, malgré un comportement normal en conditions basales, ces souris présentent des réponses comportementales et alimentaires anormales en conditions de stress (Compan et al., 2004). Il a aussi été observé une diminution de l'activité électrique spontanée des neurones des noyaux du raphé associée à une diminution des niveaux tissulaires de la sérotonine et de son principal métabolite (Conductier et al., 2006).

III. Intérêts thérapeutiques de la modulation du récepteur 5-HT₄

L'étude des 5-HT₄R a mené à la commercialisation de nombreux médicaments et est, à l'heure actuelle, toujours d'un intérêt majeur dans la recherche clinique avec de nombreuses études en cours sur des pathologies aussi variées que la distribution de ces récepteurs est large.

1. Traitements actuellement commercialisés

Seulement 6 composés ont à l'heure actuelle été commercialisés dans le monde en tant que médicaments sur la base de leurs propriétés agonistes des 5-HT₄R et tous concernent le traitement des troubles gastro-intestinaux.

Le métopramide (Primpéran[®]) est un agoniste des 5-HT₄R et un antagoniste des 5-HT₃R commercialisé en France et dans de nombreux autres pays. Il est indiqué dans la prévention des nausées et vomissements, notamment dans le contexte de stratégies anticancéreuses, en raison de ses propriétés stimulantes de la motricité gastrique et intestinale.

Le clébopride (Clebutec[®]) est un agoniste des 5-HT₄R et un antagoniste des récepteurs D₂ et des 5-HT₃R, non commercialisé France. Il est indiqué dans le traitement symptomatiques des nausées et vomissement, de la dyspepsie et dans la préparation à l'exploration radiologique et endoscopique du tractus gastro-intestinal.

Le mosapride (Mosar plus[®]) n'est, lui non plus, pas commercialisé en France. C'est un agoniste des 5-HT₄R, dont le principal métabolite a une activité antagoniste des 5-HT₃R. Il est indiqué dans le traitement du reflux gastro-œsophagien, le syndrome du côlon irritable et les dyspepsies fonctionnelles.

Le tegaserod (Zelnorm[®]) n'a pas été commercialisé en Europe mais l'a été aux USA à partir de 2002. Il possède en plus de son activité agoniste des 5-HT₄R un effet agoniste des 5-HT₁R et antagoniste des 5-HT₂R, son indication était le traitement de l'intestin irritable et de la constipation mais en raison d'effets indésirables rares mais graves, comme des angors ou des accidents vasculaires cérébraux, la FDA a décidé de le retirer du commerce en 2007.

Le cisapride (Prepulsid[®]) est commercialisé en France. Cependant la survenue de troubles cardiaques graves a conduit à une réévaluation de son indication, ainsi que de ses modalités de délivrance : il est aujourd'hui soumis à une prescription initiale hospitalière annuelle réservée aux spécialistes dans le traitement de troubles gastro-intestinaux après échec des autres traitements et son renouvellement est réservé à ces mêmes spécialistes à l'hôpital et

en ville. Ces effets indésirables sont dus à une forte affinité pour un type de canal au potassium, les canaux hERG (human Ether-à-go-go Related Gene) dont le blocage par le cisapride entraîne un allongement de l'intervalle QT et potentiellement des fibrillations et un arrêt cardiaque.

Le prucalopride (Resolor®) est commercialisé en France depuis 2009, c'est un agoniste des 5-HT₄R très spécifique. Il est indiqué dans le traitement de la constipation.

2. Perspectives de traitement : données de recherche clinique

Si des traitements utilisant les propriétés des 5-HT₄R existent pour soigner certains troubles gastro-intestinaux, la recherche clinique poursuit dans cette voie, notamment en ce qui concerne la sécurité d'emploi de ces molécules.

Traitement des troubles de la mobilité gastrique

Un grand nombre de molécules ont atteint les essais cliniques dans ce domaine (par exemple, le revexepride a atteint les études de phase II mais n'a pas démontré d'effets supérieurs à un placebo sur les reflux gastro-œsophagiens) mais à l'heure actuelle peu d'études sont en cours dans ce domaine. Le RQ-00000010 est en phase I pour le traitement de la gastroparésie et de la constipation chez les malades atteints de la maladie de Parkinson. Le TAK 954 est en étude de phase II pour le traitement de patients développant une intolérance à la nutrition entérale. Le velusetrag (TD 5108) a complété la phase II pour le traitement de la gastroparésie idiopathique ou d'origine diabétique. Enfin l'ATI 7505 (naronapride) a lui aussi complété avec succès les études de phase II pour le traitement de la constipation idiopathique chronique et du reflux gastro-œsophagien.

Traitement des troubles cardiaques

Le piboserod a complété la phase II des essais cliniques dans le traitement de l'insuffisance cardiaque congestive en 2007, mais depuis il semble qu'aucun nouvel essai clinique n'ait été poursuivi.

Traitement de la dépression

Comme précédemment évoqué, la modulation des 5-HT₄R est aujourd'hui une piste thérapeutique majeure pour le développement de traitements antidépresseurs efficaces et d'action rapide (Samuels et al., 2016). A l'heure actuelle, 4 études sont référencées sur les sites de l'EudraCT et Clinicaltrial.gov concernant ce sujet. Deux de ces études sont en phase I, et

explorent les effets du PF-04995274 (un agoniste des 5-HT₄R) chez des patients dépressifs, soit dans un contexte de dépression non traitée (identifiant d'essai clinique : NCT03516604) soit dans un contexte de dépression résistante aux traitements conventionnels (NCT03515733). Une troisième étude porte sur les effets du prucalopride chez des volontaires sains, leurs facultés cognitives et émotionnelles seront évaluées conjointement à des mesures en IRM (NCT03572790).

Enfin, la dernière étude ne porte pas sur les effets d'un agoniste des 5-HT₄R, mais vise à identifier à travers différentes techniques dont la tomographie par émission de positrons (administration d'un antagoniste 5-HT₄R radiomarqué), les facteurs prédictifs de la réponse aux traitements antidépresseurs. Les auteurs cherchent à utiliser notamment l'association entre la densité de 5-HT₄R et le tonus sérotoninergique (Haahr et al., 2013) pour évaluer l'évolution du tonus sérotoninergique au cours d'un traitement antidépresseur classique (NCT02869035).

Traitement des troubles cognitifs

Relativement peu de molécules font l'objet d'essais cliniques dans ce domaine en dehors du traitement de la MA que nous développeront dans un prochain chapitre. Le prucalopride est actuellement testé dans une étude clinique chez le volontaire sain pour déterminer si un traitement court (7 jours) permet d'améliorer les performances dans des tests cognitifs (NCT03572790). La dose testée est la moitié de celle utilisée dans le traitement de la constipation, 1mg. Une autre molécule, elle aussi agoniste des 5-HT₄R, le SUVN-D4010 a été intégrée dans deux études de phase I pour évaluer sa sécurité d'emploi et ses caractéristiques pharmacocinétiques (NCT02575482) ainsi que l'effet sur ces dernières caractéristiques de la nourriture, de l'âge et du sexe (NCT03031574).

Nous avons donc vu que les récepteurs à la sérotonine, et plus particulièrement les 5-HT₄R, sont impliqués dans de nombreuses fonctions physiologiques chez les mammifères. Ils constituent de ce fait des cibles thérapeutiques intéressantes pour le traitement d'un grand éventail de pathologies au niveau périphérique et central. Nous allons maintenant nous intéresser à une fonction centrale majeure : la mémoire et au rôle que jouent les 5-HT₄R dans la régulation de celle-ci.

La mémoire

I. Généralités

D'un point de vue fonctionnel, le processus de mémoire est un travail de stockage et de conservation des informations jugées utiles, qui pourront ensuite être rappelées pour une réutilisation. On peut donc ainsi résumer les différentes phases de la mémoire (*figure 9*) :

- L'acquisition (ou encodage) consiste en un traitement des informations provenant des sens pour en faire une mémoire, de façon consciente ou non.
- La consolidation est la phase suivante et crée une trace mnésique stable à partir des informations traitées lors de l'acquisition, de la stabilité de cette trace mnésique dépend la fidélité et la persistance de l'information stockée
- La récupération (ou rappel), comme son nom l'indique permet le rappel de l'information pour utilisation, encore une fois de façon conscient ou non.

Le phénomène d'apprentissage est en relation directe avec la mémoire. Il est en effet défini comme la faculté de tirer de l'environnement des informations qui, une fois traitées et stockées, peuvent être ensuite réutilisées pour modifier la réponse comportementale de manière à s'adapter au mieux à une situation sur la base de l'expérience.

Enfin, on oppose à la mémoire le phénomène de l'oubli, qui correspond à une suppression de la trace mnésique ou à une incapacité à y accéder (de façon ponctuelle ou permanente) et dont l'origine peut être aussi bien de nature physiologique que pathologique.

1. Classifications de la mémoire

De nombreux modèles ont été avancés pour tenter de représenter l'organisation de la mémoire en tant qu'entité unique constituée de multiples sous-éléments caractérisés par une temporalité et/ou une fonctionnalité différentes.

Modèle en série de la mémoire

Dans leur modèle, appelé « modèle modal de la mémoire » Atkinson et Shiffrin (Atkinson and Shiffrin, 1968) proposent une division de la mémoire en trois sous-éléments discriminés par leur durée et mis en jeu de manière séquentielle : registre sensoriel, mémoire à court terme et mémoire à long terme (*figure 10*).

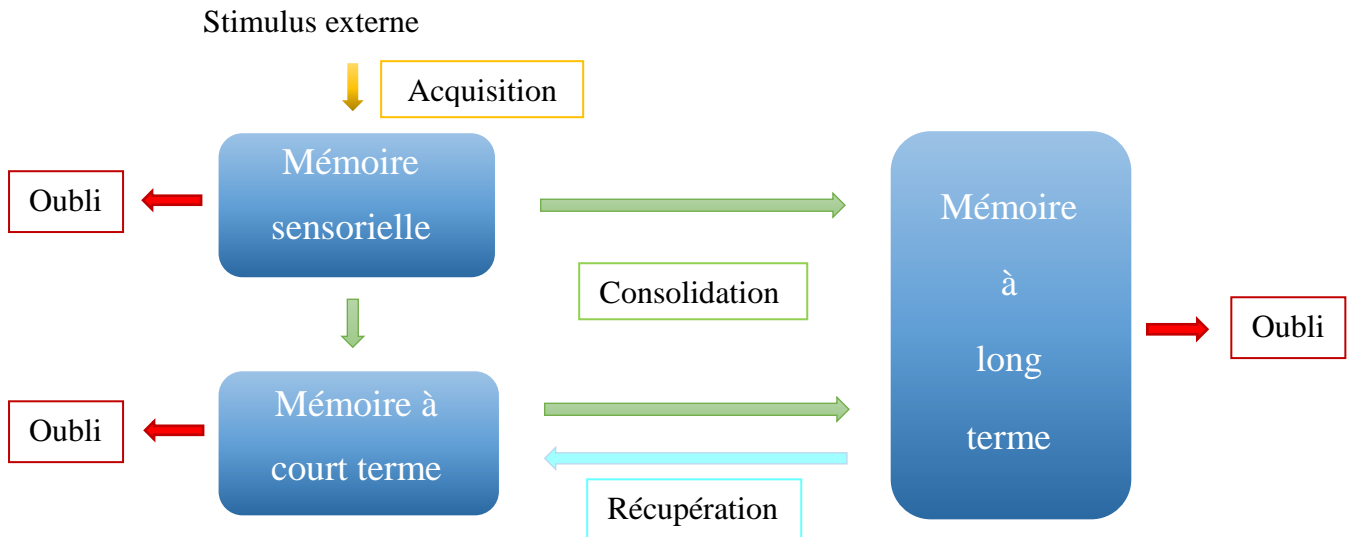


Figure 10: représentation schématique du circuit de la mémorisation (adapté d'Atkinson et Shiffrin 1968)

Mémoire sensorielle

La mémoire sensorielle regroupe les informations provenant des 5 sens, elle a une capacité considérable ainsi qu'une fidélité exceptionnelle, mais une durée très réduite. Cette dernière va varier en fonction de la modalité sensorielle (ex : une image persistera près d'une demi seconde alors qu'un son persistera jusqu'à quatre secondes).

Mémoire à court terme

Le registre suivant, la mémoire à court terme renommée par la suite mémoire de travail (Baddeley and Hitch, 1974), permet un maintien temporaire et une manipulation de l'information pour la réalisation de tâches cognitives ou d'apprentissage. Ce registre, capable de traiter des informations provenant de différentes sources (notamment de souvenirs provenant de la mémoire à long terme) a une capacité limitée (7 ± 2 items) et une durée de quelques secondes à quelques minutes.

L'exemple typique de l'utilisation de la mémoire de travail est la rétention de la suite de chiffres formant un numéro de téléphone le temps de le composer. On considère que la mémoire de travail est composée de plusieurs sous-éléments, un administrateur central qui met en jeu deux systèmes esclaves spécialisés dans le type spécifique d'information traitée par la mémoire de travail à un instant donné : la boucle phonologique et le registre visuo-spatial pouvant interagir l'un sur l'autre. La boucle phonologique assure le traitement de l'information verbale et le registre visuo-spatial permet quant à lui de maintenir pendant une courte durée des informations visuelles et spatiales ainsi que de représenter et manipuler des images mentales. Un troisième système esclave sera par la suite ajouté pour compléter le modèle : le buffer épisodique, qui permet d'intégrer de informations multimodales pour traitement et ferait lien avec la mémoire à long terme épisodique (Baddeley, 2000, *figure 11*).

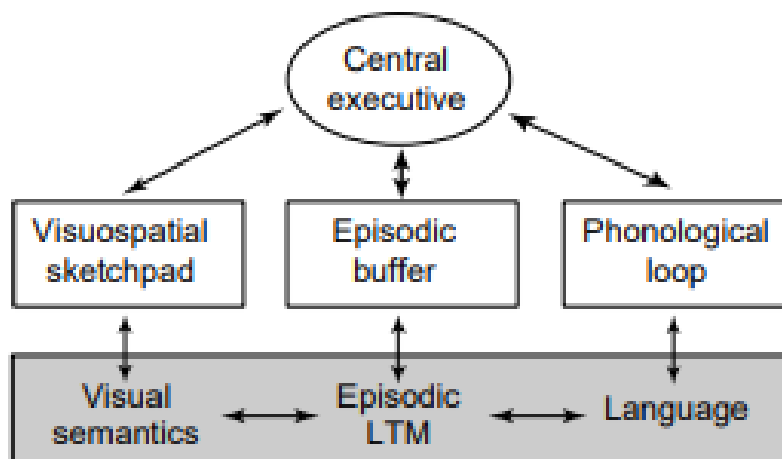


Figure 11: représentation schématique des composants de la mémoire de travail (d'après Baddeley 2000)

Mémoire à long terme

Pour un stockage plus permanent les informations doivent ensuite être transmises au registre de la mémoire à long terme par consolidation. Cette mémoire dispose théoriquement d'une capacité et d'une durée illimitées. Elle peut être séparée selon l'accès à la conscience en mémoire déclarative (ou explicite) ou mémoire non déclarative (implicite) : c'est le modèle dichotomique de la mémoire à long terme (Squire and Zola-Morgan, 1988, *figure 12*).

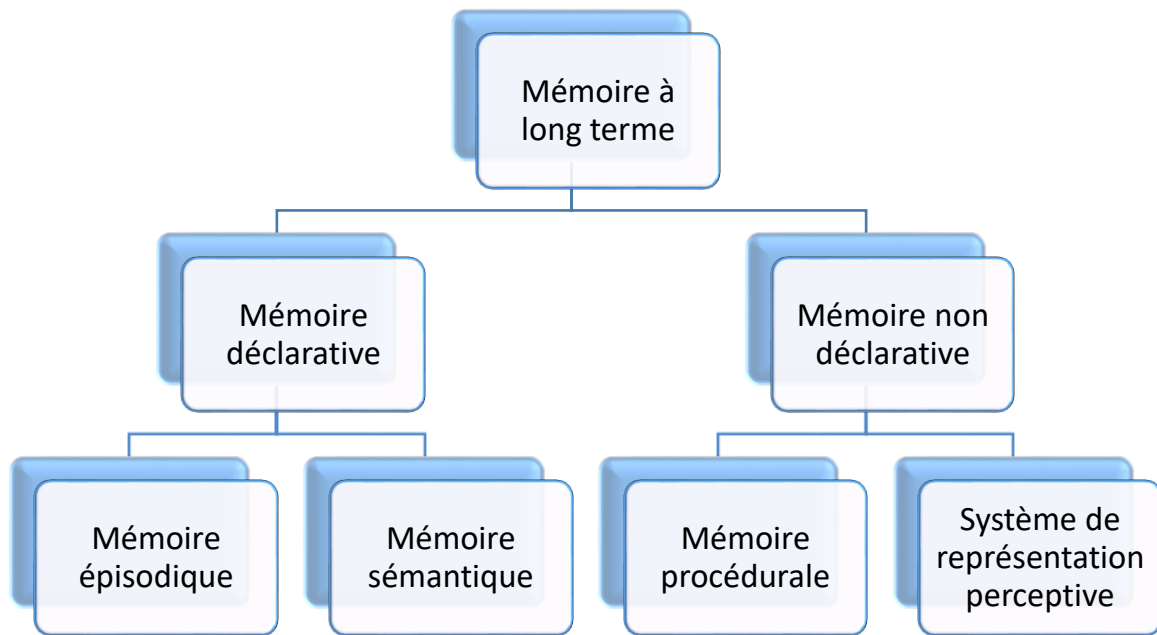


Figure 12 : représentation schématique du modèle dichotomique de la mémoire à long terme selon Squire, Zola Morgan et Tulving

La mémoire déclarative permet le stockage d'informations verbalisables et accessibles à la conscience de manière intentionnelle. Elle se divise elle-même en deux sous-types :

- La mémoire épisodique, où sont entreposés les souvenirs relatifs aux événements de la vie, c'est la mémoire des faits autobiographiques (ex : quand j'avais 8 ans j'ai lu ma première bande dessinée d'Astérix et Obélix). Chaque information stockée dans cette mémoire est relative à un contexte spatio-temporel précis (quoi, quand et où ?) et intègre de plus de multiples détails perceptivo-sensoriels comme notamment l'état émotionnel au moment de l'encodage.
- La mémoire sémantique quant à elle, est la mémoire des connaissances générales et des faits appris (ex : Lima est la capitale du Pérou) : connaissances sur le monde, définition de concepts abstraits... Cette mémoire, permettant notamment l'utilisation du langage, stocke des informations situées en dehors de tout contexte d'encodage.

La mémoire non déclarative (ou implicite) permet le stockage d'informations non verbalisables et non accessibles à la conscience, là encore cette mémoire est elle-même subdivisée en différents sous-types de mémoires (Tulving, 1995).

- La mémoire procédurale regroupe les connaissances procédurales et les habiletés perceptivo-motrices, c'est la mémoire du savoir-faire (ex : savoir faire du vélo). C'est un système permettant la réalisation automatique de tâches sans avoir à faire appel consciemment à des expériences passées similaires. C'est une des mémoires les plus robustes, rarement affectée en cas d'amnésie. En revanche, certaines pathologies comme la maladie de Parkinson ou la maladie de Huntington peuvent perturber le fonctionnement de cette mémoire.
- Le système de représentation perceptive qui comprend l'effet d'amorçage (priming) et les effets de conditionnement (classique et opérant). L'effet d'amorçage est défini comme la résultante de la présentation préalable d'un stimulus (amorce) sur le traitement d'un stimulus consécutif (cible) identique ou associé à l'amorce. Cette effet se traduit généralement soit par une augmentation de la rapidité à analyser le stimulus amorcé, soit par une augmentation de la probabilité d'identifier ou de catégoriser correctement le stimulus amorcé (Tulving and Schacter, 1990). Le conditionnement est un processus d'apprentissage réflexe, dans le cas du conditionnement classique c'est la survenue d'un stimulus de manière régulière qui entraîne l'apparition d'une réponse réflexe alors que dans le cas du conditionnement opérant ce sont les conséquences positives ou négatives d'un comportement qui vont influencer sur son renforcement ou son extinction.

II. Neuro-anatomie fonctionnelle de la mémoire

Dans l'optique de mieux comprendre les bases fonctionnelles de la mémoire, la communauté scientifique s'est très tôt intéressée à déterminer les structures cérébrales ou substrats anatomiques des différents sous-types de mémoire.

De nombreux travaux ont été menés dans ce sens, sur la base d'études de cas cliniques de patients présentant diverses atteintes de la mémoire, d'études de lésions de zones spécifiques chez l'animal. Les approches électrophysiologiques (ex : potentiels évoqués), mais également l'avènement des nouvelles techniques d'imageries, notamment l'IRM fonctionnelle (fMRI), et leur utilisation en conditions physiologiques ou pathologiques, ont également permis de grandes avancées.

La *figure 13* (Squire, 2004) donne une vue d'ensemble des structures principales impliquées chez l'homme dans les différents types de mémoire évoqués précédemment.

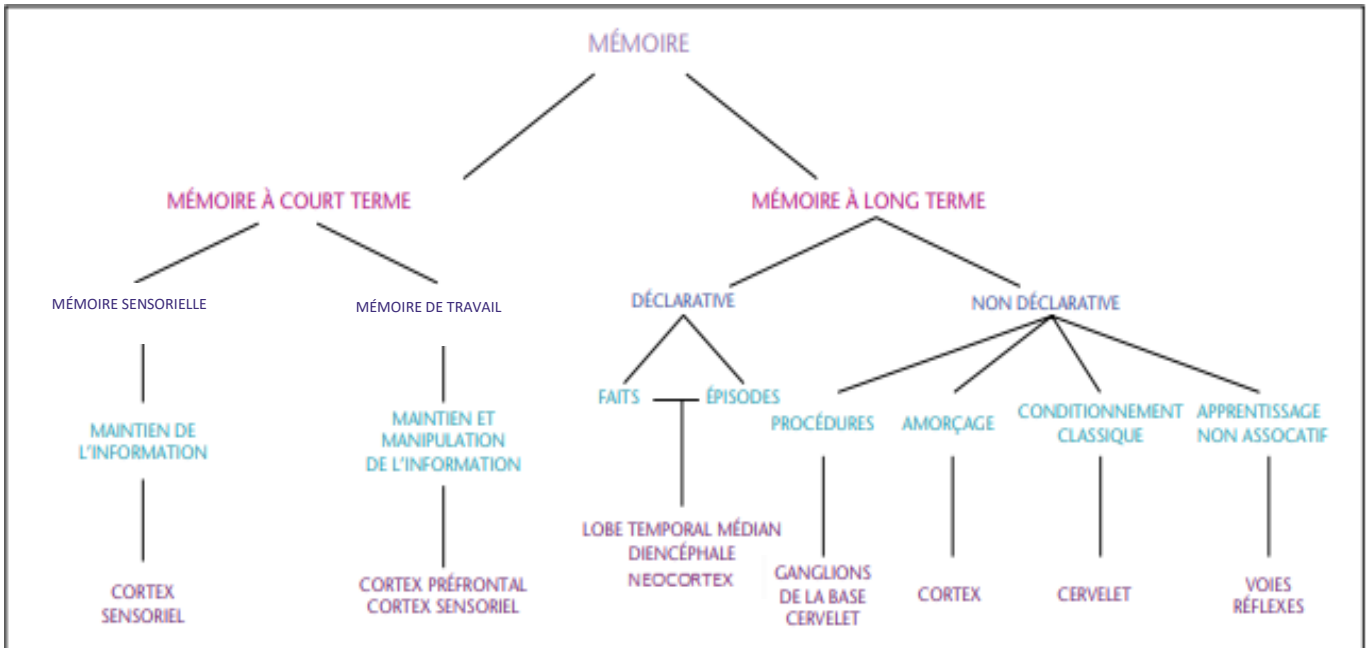


Figure 13 : taxonomie de la mémoire (adaptée de Squire 2004)

1. Bases structurelles de la mémoire

Mémoire à court terme

La mémoire sensorielle dépend des cortex sensoriels et est donc multiple : chaque modalité sensorielle est associée aux cortex sensoriel correspondant. Ainsi, un sujet peut présenter des traces mnésiques normales sur une modalité sensorielle et des traces mnésiques atteintes dans une autre modalité, pour peu que le cortex sensoriel associé à la première soit intact quand celui associé à la seconde est lésé.

La mémoire de travail met, elle aussi, en jeu les cortex sensoriels. Ainsi chaque système esclave est relié aux zones corticales traitant la modalité sensorielle qui leur correspond ; la boucle phonologique et le registre visuo-spatial sont donc liés aux cortex auditif et visuel respectivement ainsi qu'au cortex préfrontal (pour revue, Eriksson et al., 2015). Le buffer épisodique et l'administrateur central sont quant à eux supposés mettre en jeu le cortex préfrontal (Linden, 2007). Ainsi l'ablation du cortex préfrontal latéral chez le singe induit un déficit dans des tâches mettant en jeu la mémoire de travail (Jacobsen, 1931). De même, des enregistrements électrophysiologiques dans cette zone indiquent une intense activité lors de la réalisation de telles tâches (Fuster et Alexander, 1971).

Mémoire déclarative

La base historique de notre connaissance des structures impliquées dans la mémoire déclarative nous provient de l'étude du fameux patient HM pour Henry Molaison (Scoville, 1954; Scoville and Milner, 1957). Dans une intervention chirurgicale destinée à supprimer le foyer d'origine de crises d'épilepsies rebelles aux traitements, HM a subi une résection bilatérale du lobe temporal médian (comprenant l'hippocampe et les cortex parahippocampiques, périrhinal et entorhinal). Par la suite, le patient HM présenta des déficits de mémoire à long terme déclarative, sans atteinte ni de la mémoire non-déclarative, ni de la mémoire procédurale (par exemple HM pouvait améliorer ses performances dans une tâche de motricité fine sans avoir le souvenir de s'être entraîné à cette tâche les jours précédents) ou de la mémoire de travail. Ces déficits concernaient une incapacité à conserver des souvenirs à long terme de nouveaux faits ou événements (amnésie antérograde), ainsi qu'une perte de mémoire à long terme récente (amnésie rétrograde), alors que les souvenirs plus anciens étaient préservés, de même que les capacités cognitives ou la personnalité. Ces observations suggèrent une mise en jeu du lobe temporal médian dans l'acquisition du souvenir, puis un dégageement progressif de celui-ci lors de la consolidation de la trace mnésique qui serait stockée, *in fine*, dans d'autres structures. Il en découlera la théorie standard de la consolidation systémique, qui est une adaptation d'une hypothèse de T. Ribot (Ribot, 1882) selon laquelle la mémoire se réorganise selon un gradient temporel dépendant de l'ancienneté du souvenir. Cette théorie postule que les informations d'un événement ou d'un fait sont initialement prises en charge par des réseaux hippocampo-corticaux avant d'être progressivement stockées de manière systémique et hippocampo-indépendante (Dudai, 2004).

Cette théorie concerne la mémoire déclarative dans son ensemble et ne tient donc pas compte des différences entre la mémoire épisodique et la mémoire sémantique. Or de nombreuses études ont mis en évidence l'existence d'amnésies rétrogrades touchant les souvenirs sémantiques, mais laissant intacts les souvenirs épisodiques (Maguire et al., 2010) et *vice-versa* (Tulving et al., 1991).

Par la suite, il a donc été proposée la théorie des traces multiples (Nadel and Moscovitch, 1997). Cette théorie postule que pour des souvenirs avec une forte composante contextuelle (mettant donc en jeu la mémoire déclarative), l'hippocampe est impliqué dans la consolidation et dans le stockage à court et long terme.

En revanche, dans le cas de la mémoire épisodique il ne serait nécessaire que dans la consolidation et le stockage à court terme, les structures corticales prenant alors en charge le stockage à long terme. Ces deux modèles sont illustrés dans la *figure 14* (Frankland and Bontempi, 2005).

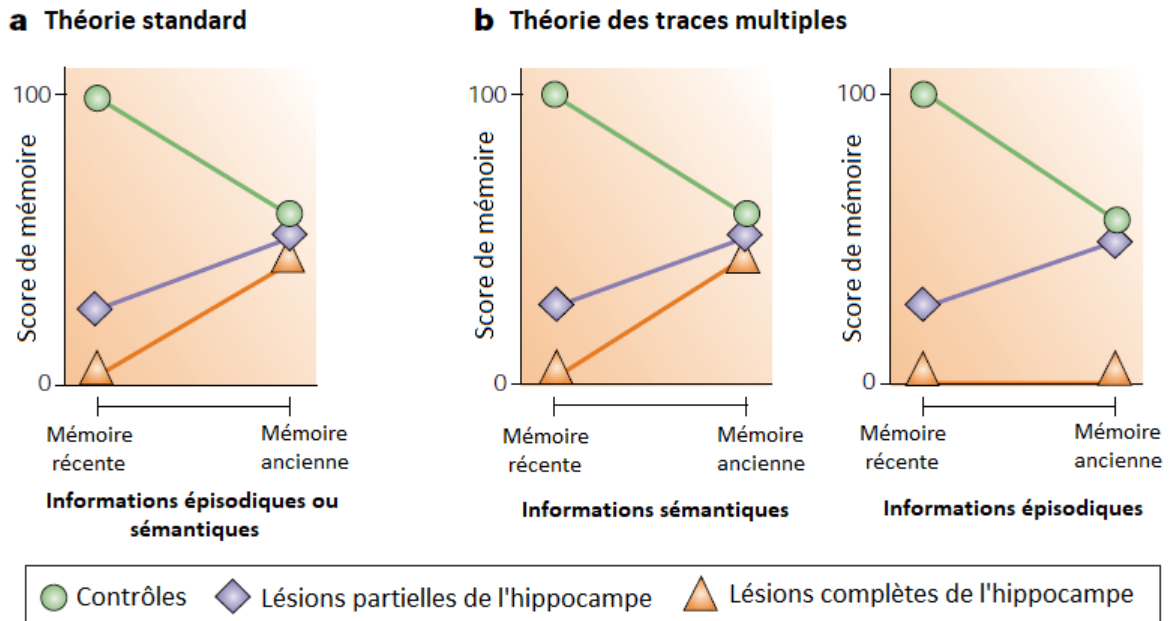


Figure 14 : Illustration expérimentale de la théorie standard de la consolidation systémique et de la théorie des traces multiples chez l'animale (adapté d'après Frankland et Bontempi, 2005)

Du fait de sa vulnérabilité au cours de pathologies comme la Maladie d'Alzheimer (MA) la mémoire épisodique a fait l'objet de nombreuses études qui ont permis, d'une part, de confirmer le rôle prépondérant de l'hippocampe et des aires para-hippocampiques en tant que support anatomique de cette mémoire et, d'autre part, d'identifier un certain nombre d'autres structures jouant un rôle dans le stockage de souvenirs épisodiques.

Ainsi, chez des patients atteints de la MA, aucune modification du métabolisme dans les cortex pariétaux et préfrontaux n'a pu être mise en évidence au cours de tâches impliquant la mémoire épisodique par rapport à des individus sains chez qui on observe une activation de ces zones au cours des mêmes tâches (Schwindt and Black, 2009). De même, des études lésionnelles indiquent un rôle du thalamus et des corps mamillaires dans la mémoire de reconnaissance, qui constitue un sous-type de la mémoire épisodique (Moscovitch and McAndrews, 2002).

La mémoire sémantique, en revanche, a été beaucoup moins étudiée car elle présente une plus grande robustesse et est beaucoup moins affectée au cours du vieillissement normal. Il semblerait que les circuits neuronaux supportant le stockage de la mémoire sémantique soient essentiellement corticaux, avec plus particulièrement une implication des cortex temporal (Hart and Grodon, 1990), pariétal et frontal gauches (Wiggs et al., 1998).

Mémoire non déclarative

La persistance de la mémoire implicite, notamment dans le cas du patient HM indique que les structures impliquées diffèrent de celles nécessaires au bon fonctionnement de la mémoire déclarative. Là encore, les études fonctionnelles en imagerie ont permis de rattacher à un type de mémoire les structures impliquées. Ainsi il a pu être mis en évidence que les effets d'amorçages perceptuels mettent en jeu les zones corticales sensorielles associatives correspondant aux modalités impliquées (Moldakarimov et al., 2010), alors que l'amorçage conceptuel met en jeu le cortex préfrontal inférieur gauche, une zone impliquée dans l'analyse sémantique des mots (Demb et al., 1995). L'apprentissage moteur peut être divisé en plusieurs étapes, une phase précoce de mouvements imprécis et lents nécessitant une importante mise en jeu des processus attentionnels pour corriger les actions par rétroaction des informations sensorielles (« feedback processing »), puis les gestes deviennent plus précis et rapides et la nécessité de correction disparaît. Les études fonctionnelles et cliniques menées sur le sujet ont révélé une implication de nombreuses zones corticales dans la phase initiale, notamment le cortex préfrontal (Toni and Passingham, 1999), des zones motrices secondaires comme l'aire supplémentaire motrice ou le cortex pré-moteur (Jenkins et al., 1994), ainsi que des ganglions de la base (en particulier le striatum) (Seitz et al., 1990) et du cervelet dans l'ensemble des phases de l'apprentissage moteur (pour revue, Halsband and Lange, 2006).

2. Neurotransmission de la mémoire

La mémoire est une fonction complexe et dépend de l'interconnexion entre de nombreuses structures cérébrales qui présentent des caractéristiques très différentes les unes des autres, notamment au niveau des neurotransmetteurs mis en jeu lors de la communication inter-neuronale. Ainsi, il est aisé de comprendre que les processus de mémoire et d'apprentissage vont faire intervenir de nombreux systèmes de neurotransmission différents (Reis et al., 2009). Parmi ceux-ci, deux systèmes sont reconnus pour jouer un rôle majeur dans l'apprentissage et la mémoire, les autres systèmes ayant en fait plutôt un rôle modulateur sur ces deux systèmes : le système glutamatergique et le système cholinergique.

Le système glutamatergique

Le principal neurotransmetteur excitateur du SNC est le glutamate, qui maintient, avec le GABA, l'équilibre activation/inhibition dans le cerveau. Il est intéressant de noter que le système glutamatergique forme des voies cortico-hippocampiques (*figure 15*) dont nous avons précédemment évoqué l'importance pour la consolidation et le stockage des souvenirs appartenant à la mémoire déclarative.

Le glutamate exerce son action par le biais de plusieurs types de récepteurs, des récepteurs de types métabotropiques, dits mGluR (sous-types 1 à 5), et trois récepteurs de type ionotropiques, les récepteurs AMPA (Acide α -Amino-3-hydroxy-5-Méthylisozol-4-Propionate), kainate et NMDA (N-Méthyl-D-Aspartate). Ces derniers récepteurs sont présents de manière particulièrement dense au niveau de l'hippocampe et du cortex cérébral, deux zones qui, comme déjà évoqué, jouent un rôle majeur dans la mémoire déclarative (Monaghan and Cotman, 1986).

De nombreuses études chez l'animal, et en particulier le rongeur, ont permis d'étayer l'hypothèse d'un rôle majeur du glutamate dans la mémoire. Ainsi, dès 1986, des études comportementales ont démontré que l'administration d'un antagoniste des récepteurs NMDA, l'acide 2-amino-5-phosphonovalérique (APV), chez le rat lors d'une tâche d'apprentissage spatial hippocampo-dépendant, le labyrinthe aquatique de Morris (où l'animal doit utiliser des repères visuels extérieurs à la piscine pour trouver une plateforme immergée), entraînait une baisse des performances et donc un effet amnésiant (Morris et al., 1986).

De même dans un test d'évitement passif chez la souris, l'injection d'APV dans l'hippocampe entraînerait une perte de mémoire alors que l'injection de glutamate provoquerait un résultat opposé et donc un effet pro-mnésiant (Izquierdo et al., 1992). Chez l'Homme, des résultats allant dans le même sens ont été obtenus, avec la description d'un effet amnésiant chez des volontaires traités à la kétamine, un inhibiteur des récepteurs NMDA aussi utilisé comme anesthésique, dans le test figure complexe de Rey-Osterrieth (qui consiste à reproduire de mémoire un dessin complexe) (Grunwald et al., 1999).

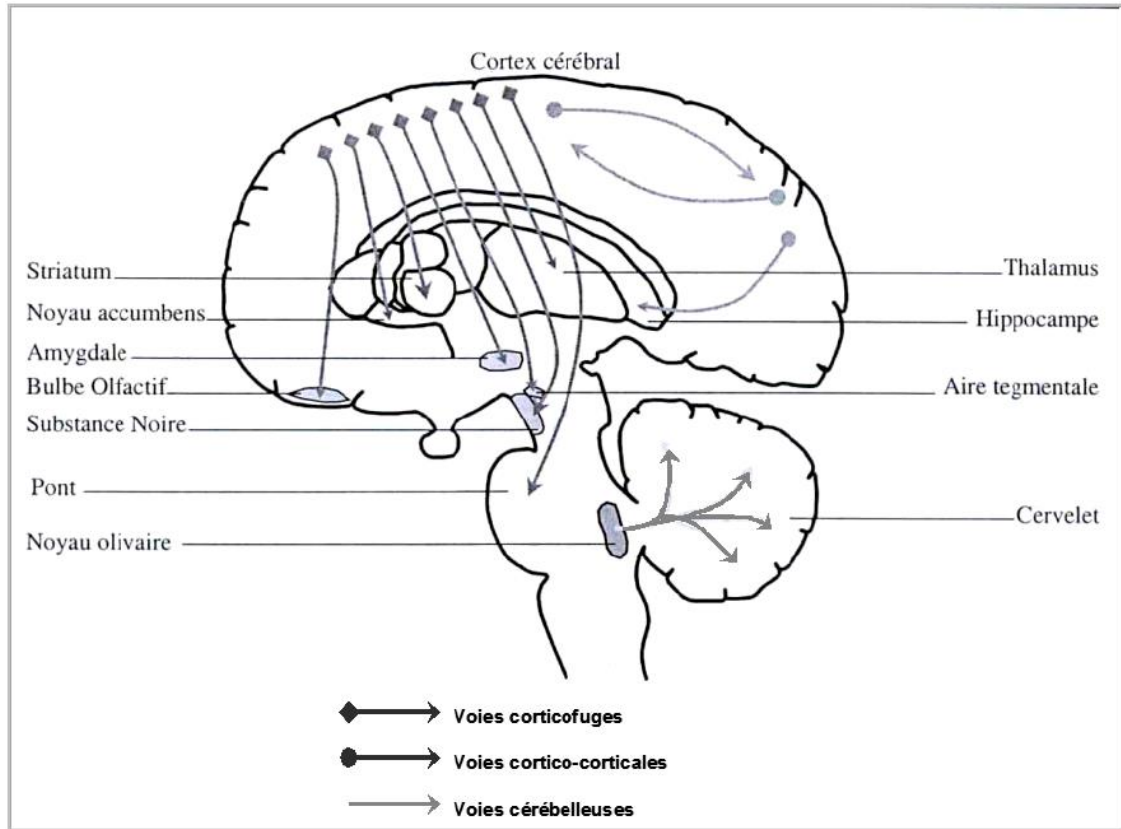


Figure 15 : Principales voies glutamatergiques centrales chez l'Homme (adapté de Meunier et Shavloff, 1992)

Enfin, chez des patients atteints de la MA, qui est la cause de déficits de mémoire la plus fréquente chez l'Homme, des altérations du système glutamatergique ont été rapportées. On observe notamment une diminution importante du nombre de récepteurs au glutamate dans l'hippocampe et dans certaines zones corticales, cette baisse de la densité de récepteurs dans ces zones cruciales pour la mémoire pourrait donc aggraver les troubles de la mémoire épisodique observés dans cette pathologie (Schaeffer and Gattaz, 2008). De façon intéressante, on suppose aussi qu'une augmentation de la transmission glutamatergique pourrait avoir des effets neurotoxiques et participer à l'évolution de la pathologie (Cacabelos et al., 1999).

Le système cholinergique

Le système cholinergique est très présent dans le SNC et l'acétylcholine y est donc un neurotransmetteur majeur impliqué dans de nombreuses fonctions telles que le contrôle du cycle veille-sommeil, la régulation du débit sanguin cérébral ou les processus d'apprentissage et de mémoire (Schliebs and Arendt, 2006).

Le prosencéphale basal cholinergique (*figure 16* (Meunier and Shavloff, 1992)) comprend le septum médian, les branches horizontales et verticales de la bande diagonale de Broca et le noyau basal de Meynert. C'est de ces zones que partent les principales projections cholinergiques vers le cortex et l'hippocampe (voies septo-hippocampique et basalo-corticale), deux zones reconnues comme étant impliquées dans la mémoire (McKinney et al., 1983).

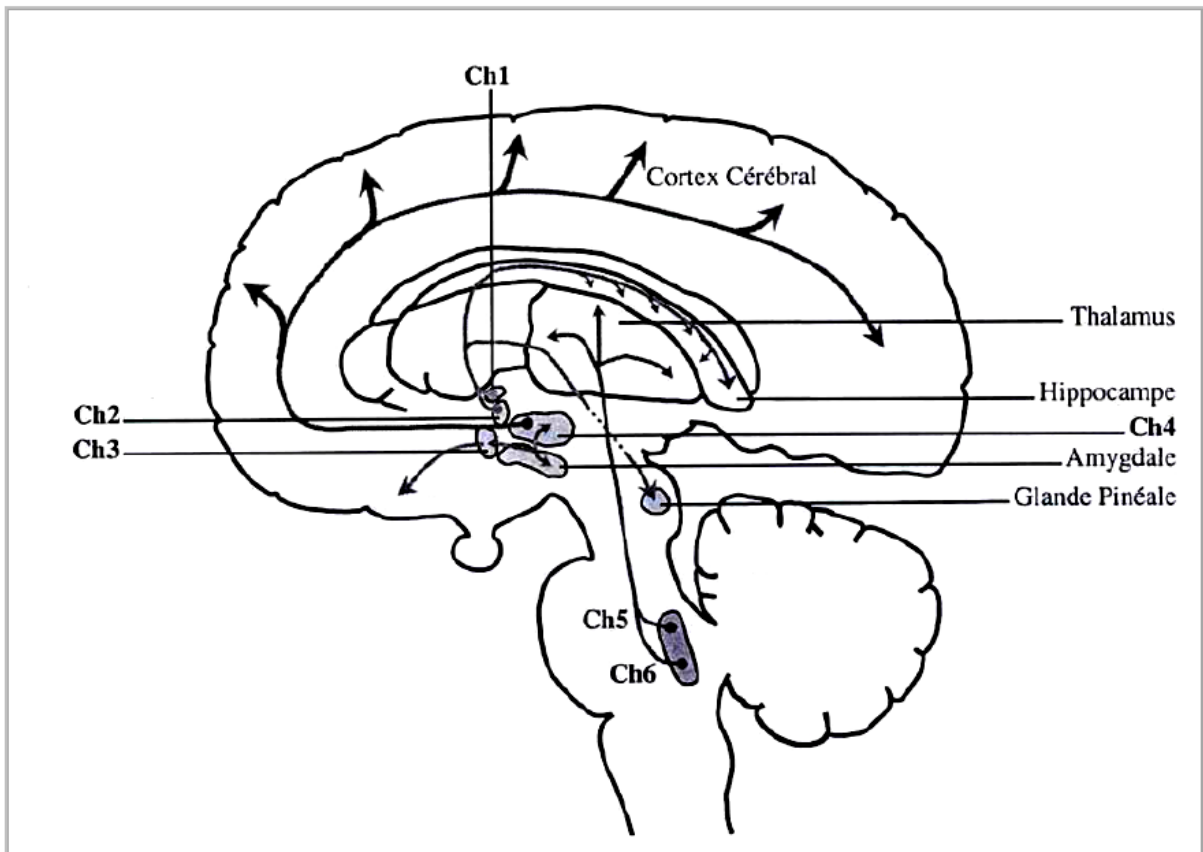


Figure 16 : Principales voies cholinergiques chez l'Homme (adapté de Meunier et Shavloff, 1992)

Ch1 : noyau médian du septum, Ch2 : bras vertical de la bande diagonale de Broca, Ch3 : bras horizontal de la bande diagonale de Broca, Ch4 : noyau basal de Meynert, Ch5 : noyaux cunéiforme, pédonculaire et parabrachial, Ch6 : noyau tegmental latéral.

Les effets de l'acétylcholine sont médiés par le biais de deux familles de récepteurs qui sont tous les deux impliqués dans les processus de mémoire.

Les récepteurs muscariniques (dont il existe 5 sous-types, M1 à M5) qui sont métabotropiques et les récepteurs nicotiques (dont les principaux représentants dans le SNC sont les récepteurs homomères $\alpha 7$, essentiellement retrouvées dans certaines couches corticales ainsi que dans l'hippocampe et l'hypothalamus (Séguéla et al., 1993), et les hétéromères $\alpha 4/\beta 2$ qui sont ubiquitaires (Wada et al., 1989)) qui sont ionotropiques.

Ainsi il a pu être mis en évidence que l'administration d'un agoniste muscarinique, l'oxotremorine, au niveau de l'hippocampe entraînait une amélioration des performances de mémoire dans le test d'évitement passif chez le rat (Izquierdo et al., 1992). De façon inverse, un antagoniste de ces mêmes récepteurs, la scopolamine, qui provoque des déficits de mémoire chez l'animal (Anisman, 1975a) mais aussi chez l'homme (Ellis et al., 2005), est classiquement utilisée comme modèle d'amnésie pour tester les propriétés anti-amnésiantes de nouvelles molécules chez l'animal. De même l'activation ou le blocage pharmacologique des récepteurs nicotiques améliore ou altère, respectivement, les performances de mémoire (pour revue, Graef et al., 2011).

De plus, une altération de l'activité cholinergique a été décrite au cours du vieillissement avec une atrophie du prosencéphale basal cholinergique (région centrale du système cholinergique) et serait pour partie responsable des troubles de mémoire associés à l'avancée de l'âge (pour revue, Schliebs and Arendt, 2011).

Enfin, un autre argument en faveur de l'implication du système cholinergique dans les processus de mémoire nous est donnée par l'étude de patients atteints de la maladie d'Alzheimer. En effet l'hypothèse cholinergique de la maladie d'Alzheimer postule que la perte de neurones cholinergiques dans les noyaux du prosencéphale basal est responsable d'une baisse de la transmission cholinergique corticale et hippocampale entraînant des dysfonctions cognitives et notamment mnésiques (Bartus et al., 1982). Au-delà de la perte spécifique de neurones cholinergiques, d'autres altérations de ce système sont observées dans cette pathologie. Ainsi, il a par exemple été décrit une diminution de l'activité de l'enzyme de synthèse de l'acétylcholine, la choline acétyltransférase, dans les stades modérés à sévères de la maladie (pour revue, Schaeffer and Gattaz, 2008). Il résulte de ces constatations que certaines des thérapeutiques actuellement utilisées dans le traitement de la maladie d'Alzheimer visent à restaurer la transmission cholinergique, en inhibant l'enzyme de dégradation de l'acétylcholine, l'acétylcholinestérase. Malheureusement, l'efficacité de ces médicaments est limitée et a conduit à leur déremboursement (Arrêté du 29 Mai, 2018)

Systèmes neuro-modulateurs

On compte parmi les systèmes modulateurs, le système GABAergique, le système noradrénergique, le système dopaminergique et le système sérotoninergique. Ces systèmes vont exercer leur effet sur les fonctions de mémoire et d'apprentissage en exerçant notamment une influence sur les systèmes glutamatergique et cholinergique (Reis et al., 2009).

Le système GABAergique, dont les effets sont médiés par le GABA (acide gamma-aminobutyrique) en se fixant sur deux types de récepteurs les récepteurs GABA_A (récepteurs ionotropiques post-synaptiques) et GABA_B (récepteurs métabotropiques pré et post-synaptiques), est le système inhibiteur majeur du cerveau. Il va donc, par nature, s'opposer à l'action du glutamate : il entraîne une hyperpolarisation des neurones quand le glutamate va provoquer une dépolarisation. Chez l'animal, de nombreuses études ont montré les effets du système GABAergique sur la mémoire. Par exemple, d'importants déficits de mémoire ont pu être observés chez un modèle de souris transgénique sur-exprimant des récepteurs au GABA dans l'hippocampe (Tretter et al., 2009) ou encore chez le rat, ou des déficits d'apprentissage spatial sont observés après l'administration de muscimol, un agoniste GABA_A, (Brioni et al., 1990). Chez l'homme l'administration de benzodiazépines, agonistes des récepteurs GABA_A utilisés notamment comme anxiolytiques, provoque de même une amnésie touchant en particulier la mémoire épisodique (Lister, 1985).

Le système noradrénergique est impliqué dans la formation de souvenirs associés à une charge émotionnelle forte, en particulier lors d'événements stressants ou psychologiquement traumatisants (McGaugh, 2004). Il a été démontré que le blocage des fonctions noradrénergiques avec du propranolol (un β -bloquant) perturbe sélectivement les performances relatives à un stimulus émotionnellement stimulant (Cahill et al., 1994; Soeter and Kindt, 2011). A l'inverse, l'activation du système noradrénergique post-apprentissage par des agonistes (comme la yohimbine) améliore la consolidation de ce type de mémoire (Cahill and Alkire, 2003).

Le système dopaminergique exerce lui aussi un effet important sur les processus de mémoire et d'apprentissage. De nombreuses études menées sur différentes espèces convergent sur un certain nombre de points : élever ou réduire les niveaux de dopamine dans le cortex préfrontal réduit les performances de mémoire dans des tâches mettant en jeu la mémoire de travail. Cet effet médié par les récepteurs D₁ de la dopamine (l'implication des récepteurs D₂ étant plus sujette à controverse) suit une courbe en U.

C'est-à-dire qu'il existe un niveau optimal de dopamine au-dessus et en dessous duquel les performances sont altérées, et ce niveau est sensible à des changements d'états d'activité tels que la fatigue ou le stress (pour revue (Puig et al., 2014). Par ailleurs la dopamine serait aussi un élément majeur de l'acquisition et de l'extinction de la mémoire associée à la peur (Abraham et al., 2014).

Enfin, comme évoqué précédemment, le système sérotoninergique est également impliqué dans la modulation des phénomènes menant à l'apprentissage et au stockage de la mémoire comme en atteste un corpus de preuves sans cesse en expansion (Meneses, 2015; Perez-Garcia and Meneses, 2008). Ces effets sur la mémoire sont produits majoritairement par l'action du système sérotoninergique sur les autres systèmes de neurotransmission impliqués dans ce processus (pour revue (Seyedabadi et al., 2014)). Cette modulation est notamment rendue possible grâce à la multiplicité des types de récepteurs à la sérotonine et des voies de transduction associées ainsi que de la présence diffuse de projections sérotoninergiques dans l'ensemble du cerveau. Ainsi l'action d'un agoniste des 5-HT₇R (Perez-García and Meneses, 2005) ou d'un antagoniste des 5-HT_{1a}R (Ohno and Watanabe, 1996) permet de compenser les déficits de mémoire induits par la scopolamine. De tels exemples de modulation par la sérotonine d'un système de neurotransmission affectant la mémoire peuvent être donnés pour chaque autre système. Nous allons dans le chapitre suivant nous focaliser sur l'implication du récepteur de type 4 à la sérotonine dans l'apprentissage et la mémoire.

III. Rôle des récepteurs 5-HT₄ dans l'apprentissage et la mémoire

L'implication des 5-HT₄R dans les processus d'apprentissage et de mémoire a pu être mise en évidence à la fois chez l'animal, dans de nombreuses tâches de comportement explorant différents types de mémoires, et chez l'homme, notamment au moyen de techniques d'imagerie.

1. Rôle des récepteurs 5-HT₄ dans la mémoire chez l'animal

Les tableaux 2 et 3 présentent respectivement les effets observés du blocage ou de l'activation des 5-HT₄R dans des tests de comportement dépendants de l'hippocampe. Ces tests permettent d'évaluer les performances des animaux dans des tâches mettant en jeu des types de mémoires spécifiques comme la mémoire de reconnaissance ou la mémoire spatiale. Ces différentes mémoires font partie de la mémoire épisodique chez l'homme que l'on va qualifier de mémoire « épisodique-like » chez l'animal ou de mémoire hippocampo-dépendante.

Tâches comportementales	Antagoniste	Effets sur les performances	Références
Apprentissage associatif olfactif	GR125487	Annule les effets positifs de l'agoniste	Letty et al, 1997
	RS67532	Effets positifs (amélioration des performances)	Marchetti et al, 2000
	RS67532	Effets négatifs (amélioration des performances)	Marchetti et al, 2004
Labyrinthe aquatique de Morris	RS67532	Annule les effets positifs de l'agoniste	Fontana et al, 1997
	GR125487	Effets négatifs	Teixeira et al, 2018
Reconnaissance d'objets	SDZ205557	Annule les effets positifs de l'agoniste	Moser et al, 2002
	GR125487	Annule les effets positifs de l'agoniste	Lamirault et Simon, 2001
Evitement passif	SDZ205557	Effets négatifs	Galeotti et al, 1998
	GR125487		
Autoshaping task	SDZ205557	Pas d'effets seuls	Meneses et Hong, 1997
	GR125487	Annulent les effets négatifs de l'agoniste	
Alternance spontanée	GR125487	Annule les effets positifs de l'agoniste	Mohler et al, 1997

Tableau 2: effets du blocage des récepteurs 5-HT₄ dans diverses tâches d'apprentissage et de mémoire dépendantes de l'hippocampe (modifié d'après Hagera et Manahan-Vaughan, 2016)

Tâches comportementales	Agoniste	Effets sur les performances	Références
Apprentissage associatif olfactif	RS67333	Annule les effets négatifs de l'antagoniste	Marchetti et al, 2000
		Effets positifs	Marchetti et al, 2004
	BIMU 1	Effets positifs	Letty et al, 1997 Marchetti-Gauthier et al, 1997
Labyrinthe aquatique de Morris	RS67333	Effets positifs	Lelong et al, 2001
	SL650155	Effets positifs	Moser et al, 2002
	SSP002392	Annule les effets négatifs de la scopolamine	Lo et al, 2014
	BIMU 8	Effets positifs	Teixeira et al, 2018
Labyrinthe de Barnes	RS67333	Effets positifs	Darcet et al, 2016
Reconnaissance d'objet	RS67333	Effets positifs	Lamirault et Simon, 2001, Levallet et al, 2009, Hotte et al, 2012, Quiedeville et al, 2015, Darcet et al, 2016
Evitement passif	BIMU 1 / 8	Annule les effets négatifs de l'antagoniste, de la scopolamine ou de la dicyclomine	Galeotti et al, 1998
	SC53116	Annule les effets négatifs de la scopolamine	Matsumoto et al, 2001
	SSP002392	Annule les effets négatifs de la scopolamine	Lo et al, 2014
	RS67333	Effets négatifs	Nasehi et al, 2015
Annule les effets négatifs de la scopolamine		Freret et al, 2017	
Autoshaping task	BIMU 1 / 8	Effets positifs ou négatifs	Meneses et Hong, 1997
Alternance spontanée	VRX03011	Effets positifs	Mohler et al, 2007
	RS67333	Annule les effets négatifs de la scopolamine	Freret et al, 2017

Tableau 3: effets de l'activation des récepteurs 5-HT₄ dans diverses tâches d'apprentissage et de mémoire dépendante de l'hippocampe (modifié d'après Hagera et Manahan-Vaughan, 2016)

A la lecture de ces tableaux, les 5-HT₄R apparaissent jouer un rôle majeur dans les tâches d'apprentissage et de mémoire dépendant de l'hippocampe chez les animaux (Buhot, 1997; King et al., 2008). L'activation des récepteurs entraîne une amélioration des performances chez des animaux n'ayant pas de déficit préalable, ce qui suggère un effet pro-mnésiant (Lamirault and Simon, 2001; Lelong et al., 2001; Letty et al., 1997; Levallet et al., 2009; Marchetti et al., 2004; Marchetti-Gauthier et al., 1997; Mohler et al., 2007; Quiedeville et al., 2015; Teixeira et al., 2018). Mais on peut aussi observer un effet anti-amnésiant : ainsi, pour des animaux âgés chez lesquels les performances de mémoires sont diminuées, au même titre que l'expression des 5-HT₄R (Manuel-Apolinar et al., 2005; Waeber et al., 1995), l'activation de ces récepteurs permet de récupérer des performances normales (Darcet et al., 2016; Lamirault and Simon, 2001; Marchetti et al., 2011; Moser, 2002).

De même, on retrouve cet effet anti-amnésiant lorsque le déficit est induit de manière pharmacologique comme par l'administration de scopolamine, un antagoniste muscarinique aux propriétés amnésiantes (Galeotti et al., 1998; Lo et al., 2014). Enfin, des études menées sur des animaux transgéniques ont montré un effet bénéfique des agonistes des 5-HT₄R. En effet, dans un modèle d'anxiété/dépression (souris CORT), un traitement chronique par le RS67333 permet de restaurer des fonctions de mémoire et d'apprentissage normales (Darcet et al., 2016). De même, un traitement chronique par le RS67333 chez des animaux modèles de la maladie d'Alzheimer (souris 5xFAD) permet de restaurer ces mêmes fonctions (Baranger et al., 2017; Giannoni et al., 2013)

Deux études apportent des informations plus précises sur le rôle des 5-HT₄R d'un point de vue temporel. En effet, il a été rapporté que l'activation de ces récepteurs avant l'entraînement améliore les performances d'acquisition de la réponse conditionnée dans une tâche d'auto-conditionnement (« auto-shapping ») alors que leur activation après l'entraînement diminue la consolidation de l'apprentissage (Meneses et Hong, 1997). Ces résultats concordent avec ceux d'une autre étude du laboratoire indiquant qu'une augmentation de l'AMPc préalable à un apprentissage (reconnaissance d'objet) suivi par une diminution de l'AMPc dans les zones cérébrales impliquées est favorable à un apprentissage efficace (Hotte et al., 2012). Or l'activation des 5-HT₄R entraînant directement une élévation de la concentration en AMPc, il est logique que l'administration d'un agoniste de ces récepteurs après l'apprentissage puisse interférer dans le processus normal. Cet effet négatif des agonistes des 5-HT₄R administré après l'apprentissage est aussi retrouvé dans le test d'évitement passif (Nasehi et al., 2015). En revanche, toutes les études rapportant un effet positif de l'activation

des 5-HT₄R ont procédé à l'injection avant l'apprentissage. On peut donc raisonnablement penser que l'activation des 5-HT₄R nécessite un calendrier précis pour moduler favorablement les processus d'apprentissage et de mémoire. Il apparaît cependant que l'effet de l'activation des 5-HT₄R diffère suivant le type de mémoire considérée. Ainsi, la mémoire de reconnaissance de place est améliorée si l'injection de l'agoniste est réalisée avant l'entraînement alors que la reconnaissance d'objet est améliorée, que l'injection soit faite avant ou après l'apprentissage (Lamirault and Simon, 2001). Par ailleurs, dans cette même étude, on peut observer que l'effet de l'agoniste des 5-HT₄R n'est pas identique entre les animaux jeunes (une injection avant l'acquisition augmentant les performances en reconnaissance d'objet et de place) et les animaux âgés (chez lesquels l'injection avant l'acquisition augmente les performances en reconnaissance de place alors que les performances en reconnaissance d'objet peuvent être augmentée à la fois par une injection avant ou après l'acquisition). De plus la dose entraînant un effet chez les jeunes n'entraîne pas d'effets chez les animaux âgés pour lesquels une dose plus forte est nécessaire afin d'obtenir un effet pro-mnésiant. Ces résultats indiquent que l'activation de ces récepteurs joue un rôle sur le traitement de l'information, qui diffère selon le stade de maturation et développement de l'animal.

En ce qui concerne les antagonistes des 5-HT₄R, leur effet semble en général s'opposer aux améliorations provoquées par un agoniste (Lamirault and Simon, 2001; Letty et al., 1997; Meneses and Hong, 1997; Mohler et al., 2007; Moser, 2002). Néanmoins, certaines études utilisant un antagoniste seul ont rapporté des effets pro-mnésiants lorsque son administration est effectuée avant l'apprentissage d'une tâche de mémoire olfactive associative (Marchetti et al., 2004) ou négatifs dans la même tâche et avec le même timing d'administration (Marchetti et al., 2000) ainsi qu'avec une administration juste après l'apprentissage dans une tâche d'évitement passif (Galeotti et al., 1998). On peut donc supposer une certaine activité tonique des récepteurs 5-HT₄.

Il est intéressant de noter, qu'en plus de données comportementales, des études analysant la morphologie des neurones ont mis en évidence un effet positif de l'activation des récepteurs 5-HT₄ sur la plasticité neuronale, et plus précisément sur la croissance des épines dendritiques (Restivo et al., 2008). Or de nombreuses études ont fait le lien entre ces effets et l'établissement de la mémoire à court et de la mémoire à long terme (Kasai et al., 2010; Lang et al., 2004; Nägerl et al., 2004; Okamoto et al., 2004). Une hypothèse expliquant ces observations met en jeu un processus de neurogénèse et la synthèse du facteur neurotrophique dérivé du cerveau (BDNF) de façon dépendante de l'activation des 5-HT₄R (Pascual-Brazo et al., 2012). En effet,

dans cette étude, les auteurs rapportent qu'un traitement chronique de 3 jours de RS67333 augmente de façon significative la neurogénèse hippocampique et la production de protéines associées à la neuroplasticité (comme BDNF et CREB). En accord avec cette observation, il a été démontré que non seulement le BDNF est associé à la synthèse de protéines requises pour la plasticité à long terme (Park and Poo, 2013), mais aussi qu'il est nécessaire pour la plasticité synaptique hippocampique à très long terme (supérieure à 24h) ainsi que pour le maintien de la mémoire spatiale et contexte dépendante chez l'animal (Aarse et al., 2016). L'activation des 5-HT₄R pourrait donc agir positivement sur l'apprentissage et la mémoire par le biais du BDNF et de la neurogénèse dans l'hippocampe.

Ces effets positifs de l'activation des 5-HT₄R ne sont pas limités à la mémoire hippocampo-dépendante. Ainsi il a été démontré dans une étude utilisant un test de conditionnement par la peur, ne mettant pas en jeu l'hippocampe mais l'amygdale, que l'activation ou le blocage des 5-HT₄R modulait l'amnésie provoquée par l'administration d'un agoniste du récepteur aux endocannabinoïdes CB1 (Nasehi et al., 2016).

Par ailleurs, une étude menée sur le modèle de souris KO pour les 5-HT₄R a permis de montrer que ces souris conservent des facultés d'apprentissage et de mémoire normales grâce à une compensation par une suractivation de l'activité cholinergique (Segu et al., 2010). En effet, l'injection de scopolamine à une dose n'induisant pas de déficits de mémoire chez des souris normales entraîne des déficits chez ces souris KO.

Considérées dans leur ensemble, ces études suggèrent une forte implication des récepteurs 5-HT₄ dans les processus de mémoire et d'apprentissage, qu'ils soient dépendants de l'hippocampe ou non. Il semblerait en effet que l'activation de ces récepteurs soit plutôt bénéfique pour la mémoire et l'apprentissage. L'ensemble de ces observations et l'association entre activité cognitive intense et niveau d'expression de ces 5-HT₄R, a ainsi amené certains auteurs à proposer ces récepteurs comme marqueurs de l'apprentissage et de la mémoire (Manuel-Apolinar et al., 2005; Meneses, 2015).

2. Rôle des récepteurs 5-HT₄ dans la mémoire chez l'homme

Les données étayant une association entre les processus de mémoire et d'apprentissage chez l'homme remontent pratiquement au début de l'histoire de ces récepteurs. Ainsi en 1995, une étude *post-mortem* sur cerveau humain a rapporté une expression hétérogène du récepteur 5-HT₄ avec une densité plus élevée dans des zones impliquées dans la mémoire et l'apprentissage : les ganglions de la base, les cortex temporal et frontal, l'hippocampe et l'amygdale (Reynolds et al., 1995). Par ailleurs, la même publication présente une comparaison avec des cerveaux de patients atteints de pathologies neurodégénératives, dont la maladie d'Alzheimer, connue pour les troubles de la mémoire qui lui sont associés. Chez ces patients, les auteurs rapportent une diminution de la densité de récepteurs 5-HT₄ au niveau de l'hippocampe et du cortex frontal. La répartition de ces récepteurs dans le cerveau d'individus sains sera par la suite confirmée par une seconde étude *post-mortem* utilisant un autre ligand radiomarqué (Varnäs et al., 2003). De plus, des analyses d'imagerie en tomographie par émission de positron utilisant un ligand 5-HT₄ radiomarqué chez des individus sains en train de réaliser une tâche d'apprentissage et de mémoire ont montré une corrélation entre la densité des 5-HT₄R, notamment au niveau de l'hippocampe et les performances de mémoire dans différents tests neuropsychologiques (Haahr et al., 2013; Stenbaek et al., 2017).

Des analyses génétiques sur d'importantes cohortes de populations ont rapporté que des polymorphismes génétiques des 5-HT₄R peuvent être associés chez l'homme à des pathologies psychiatriques affectant l'apprentissage et la mémoire, comme les troubles de l'attention et d'hyperactivité (Li et al., 2006) et la schizophrénie (Suzuki et al., 2003).

Par ailleurs, il a été démontré que l'activation des récepteurs 5-HT₄ était capable de favoriser la voie non-amyloïdogénique, à savoir la production du peptide sAPP α (aux propriétés neuro-protectrices et pro-mnésiantes) aux dépens du peptide A β , neurotoxique et amnésiant, dont l'accumulation forme l'une des grandes caractéristiques biochimiques de la maladie d'Alzheimer (Lezoualc'h and Robert, 2003; Robert et al., 2001). Par ailleurs, chez des patients à un stade précoce de la maladie Alzheimer, une étude a permis de mettre en évidence une corrélation négative entre la densité de récepteurs 5-HT₄ et la densité de peptide A β et, inversement une corrélation positive entre la densité de ces récepteurs et les fonctions cognitives (Madsen et al., 2011). Cette observation semble indiquer une surexpression des récepteurs dans le début de la maladie afin de contrer l'accumulation de peptide A β et de maintenir les fonctions cognitives.

La plasticité synaptique

Comme nous l'avons évoqué précédemment, les expériences que vit un individu ont un impact direct sur son cerveau. Cet impact se traduit par une modification de l'activité cérébrale à la fois de manière globale et localisée ainsi que d'une réorganisation de circuits cérébraux spécifiques, on parle alors de plasticité cérébrale. L'un des mécanismes constituant cette plasticité cérébrale est la capacité qu'ont les synapses de modifier de manière durable et adaptative l'efficacité de leur transmission : c'est la plasticité synaptique.

Associée à d'autres types de plasticité, comme la plasticité moléculaire (changement durable de l'activité de certaines protéines), la plasticité morphologique (création ou élimination de synapses) ou encore la plasticité cellulaire (neurogénèse), la plasticité synaptique est aujourd'hui considérée comme un support neurobiologique majeur de notre capacité à nous adapter aux situations nouvelles, à apprendre et à stocker des souvenirs, mais aussi à les effacer (Citri and Malenka, 2008; Takeuchi et al., 2013). En effet la plasticité synaptique est un phénomène bidirectionnel : la force de la communication entre deux neurones connectés par des synapses peut aussi bien être augmentée qu'être diminuée (allant jusqu'à la suppression même de la synapse) en fonction du niveau d'activité afférent à la connexion.

I. Historique

L'idée que l'apprentissage résulte d'une modification de la force de connexion entre deux neurones n'est pas nouvelle, puisqu' introduite dès la fin du 19^{ème} siècle par Santiago Ramon y Cajal (1894) sur la base d'observations anatomiques. Cette hypothèse fut ensuite développée par Donald Hebb, dont la célèbre phrase : "When an axon of Cell A is near enough to excite a Cell B and repeatedly or persistently takes part in firing it, some growth process or metabolic change takes place in one or both cells such that A's efficiency, as one of the cells firing B, is increased." (Hebb, 1949), pose les bases de la définition de la plasticité synaptique. Ce postulat, aussi appelé « théorie des assemblées de neurones » propose une idée de la façon dont les neurones vont s'adapter dans le cerveau au cours d'un apprentissage : la force d'interaction entre deux neurones augmente s'ils sont activés simultanément et va diminuer si leur activité est, au contraire, asynchrone.

La vérification expérimentale de cette hypothèse a nécessité la mise au point de techniques permettant de suivre l'activité des neurones en parallèle du comportement et les premiers essais ont utilisé des formes simples d'apprentissage telles que l'habituation ou la

sensibilisation sur des organismes simples. Ainsi, les travaux des Prs E. Kandel et L. Tauc ont travaillé sur le réflexe de retrait des branchies de l'aplysie (limace de mer) dont le faible nombre de neurones permettait facilement d'associer à un comportement des modifications du fonctionnement synaptique. Ils ont ainsi pu mettre en relation des modifications de la libération de neurotransmetteurs en relation avec des modifications comportementales spécifiques: la sensibilisation étant associée avec une augmentation de la libération de neurotransmetteur et l'habituation avec une diminution (Kandel and Tauc, 1965).

Suite aux travaux de Scoville et Milner sur le patient HM, les études précliniques s'intéressant aux mécanismes cérébraux de la mémoire et réalisés principalement chez le rongeur se sont concentrés sur la formation hippocampique. L'équipe d'O'Keefe enregistra l'activité électrique de neurones hippocampiques de rats vigiles et mobiles et mit en évidence un schéma d'activation dépendant de la position du rat dans son environnement (O'Keefe and Dostrovsky, 1971). Ces travaux mirent donc en évidence que les neurones de l'hippocampe sont capables d'enregistrer des informations multimodales pour former une carte virtuelle et donnèrent naissance à la notion de cellules de lieu. Dans le même temps, Bliss et Lømo mirent en évidence dans l'hippocampe de lapin anesthésié que les synapses sont capables de faire preuve de plasticité fonctionnelle durable (Bliss and Lømo, 1973) et que cette LTP suivait les postulats posées par Hebb : une activité pré-synaptique devant être associée à une activation post-synaptique. En effet, une stimulation haute fréquence des fibres afférentes en provenance du cortex entorhinal entraînait une potentialisation sur le long terme (pouvant durer plusieurs jours) de la réponse de l'élément post-synaptique qu'elles connectent (long term potentiation, LTP).

Cette propriété fut par la suite retrouvée dans l'ensemble des synapses et, avec la dépression à long terme (long term depression, LTD), phénomène inverse où l'activité est déprimée durablement, elle est aujourd'hui reconnue comme une base cellulaire incontournable des processus de mémoire et d'apprentissage (Bliss and Collingridge, 1993).

II. La plasticité synaptique, formes et mécanismes

Depuis près d'un siècle, la plasticité synaptique est proposée comme jouant un rôle central dans la capacité qu'a le cerveau d'intégrer une expérience éphémère en une trace durable. Elle est aussi supposée jouer un rôle clé dans le développement des réseaux cérébraux au début de la vie et il semble de plus en plus probable que des perturbations de ces mécanismes contribuent au développement de troubles cognitifs et neuropsychiatriques.

Étant donné la diversité des fonctions dans lesquelles la plasticité synaptique semble impliquée, il apparaît logique que celle-ci puisse prendre de nombreuses formes, chacune mettant en jeu des mécanismes différents. Dans les prochains chapitres, nous allons passer en revue les principales formes de plasticité synaptique ainsi que les mécanismes qui les sous-tendent ainsi que leurs localisations cérébrales.

1. Plasticité synaptique à court terme

De nombreuses formes de plasticité à court terme, d'une durée de quelques millisecondes à plusieurs minutes, existent dans toutes les synapses examinées à l'heure actuelle, quel que soit le type d'organisme (invertébrés, oiseaux, mammifères...) (Zucker and Regehr, 2002).

Les différentes formes de plasticité à court terme

Lorsque deux stimuli de même intensité et espacés d'un très court intervalle sont générés dans l'élément pré-synaptique d'une synapse, il en résulte une modification de la réponse au second stimulus par rapport au premier. Ce phénomène est appelé facilitation appariée (Paired-Pulse Facilitation, PPF) quand la seconde réponse est augmentée (*figure 16*) et inhibition appariée (Paired-Pulse Inhibition, PPI) quand elle est diminuée par rapport à la première.

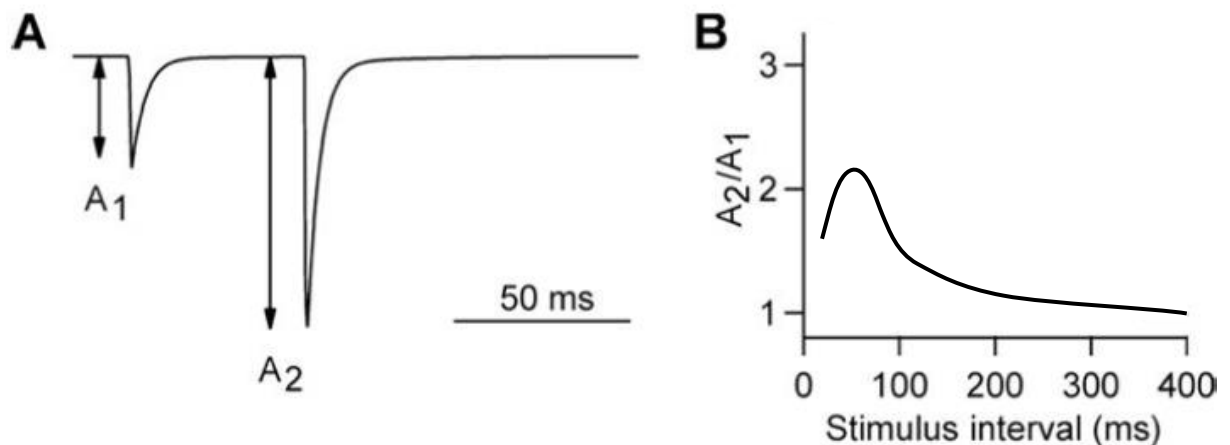


Figure 17 : PPF (d'après Jackman et Regehr, 2017)

A : allure classique des courants post-synaptiques évoqués lors d'une PPF à un intervalle de 50 ms, l'amplitude du second pic de courant est grandement augmenté par rapport au premier, c'est la PPF

B : déroulement temporel classique de la PPF en fonction de l'intervalle inter-stimuli, le rapport de l'amplitude du second pic sur celle du premier représente le degré de potentialisation

Le sens de la variation d'intensité de la seconde réponse va dépendre principalement de la synapse considérée et de son historique d'activation récent. En effet, cette forme de plasticité dépend essentiellement de la probabilité de libération (P_r) de neurotransmetteur de la synapse lors de l'arrivée du premier des stimuli. Ainsi une synapse avec une importante P_r aura tendance à avoir une seconde réponse diminuée, à l'inverse une synapse avec une faible P_r répondra plus fortement au second stimulus (Dobrunz and Stevens, 1997).

Un second facteur s'ajoute à la P_r pour déterminer le sens de variation d'intensité de la seconde réponse. En effet, la durée de l'intervalle inter-stimuli joue un rôle important. De façon générale, en dessous de 20ms la seconde réponse est diminuée. Cet effet est probablement dû à l'inactivation des canaux sodiques et calciques voltages dépendants (Citri and Malenka, 2008).

La facilitation (sensibilisation) et la dépression (habituation) synaptiques sont une généralisation du phénomène de PPF ou PPI lorsqu'on applique non plus seulement deux stimuli rapprochés, mais un train de stimulations (*figure 17*). Certaines synapses réagiront par une augmentation progressive de leur réponse jusqu'à atteindre un plateau, c'est la facilitation. D'autres synapses, au contraire, réagiront par une diminution progressive de leur réponse aux stimuli répétés jusqu'à atteindre un niveau minimal (Fioravante and Regehr, 2011) : c'est la dépression.

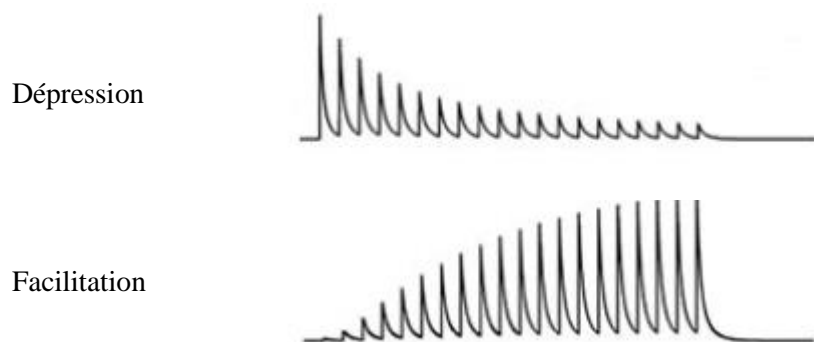


Figure 18 : décours temporel typique d'une potentialisation et d'une dépression (d'après Jackman et Regehr, 2017)

Là aussi c'est la probabilité de libération initiale du neurotransmetteur qui va dicter le comportement de la synapse, les synapses ayant une P_r élevée vont avoir tendance à répondre par une dépression et les synapses à faible P_r vont répondre par la potentialisation : la stimulation répétée à haute fréquence de synapses à faible P_r entraîne une augmentation progressive de la P_r et donc une augmentation la réponse post-synaptique.

Des formes de plasticité à court terme un peu plus durable peuvent être observées suite à la stimulation de synapses par des trains prolongés (de l'ordre de la demi-seconde à quelques secondes) de stimulations à haute fréquence (10 à 200 Hz) (Zucker and Regehr, 2002). Ces formes de plasticité sont distinguées essentiellement par leur durée.

Ainsi, alors que l'augmentation (ou diminution) est plus fugace et va persister pendant quelques secondes, la potentialisation (ou dépression) post-tétanique (PTP) peut perdurer pendant plusieurs minutes. Ces deux phénomènes se produisent au même moment et sont donc assez difficiles à distinguer de façon séparée.

Mécanismes de la plasticité à court terme

Comme nous l'avons déjà évoqué, le mécanisme commun à toutes les formes de plasticité à court terme est une modification de la probabilité de libération du neurotransmetteur, mais chacun de ses différents types de plasticité met en jeu différents effecteurs. La dépression synaptique et la PPI sont expliquées, à l'heure actuelle, par trois hypothèses non mutuellement exclusives et dont les variations de contributions relatives pourraient participer à la variabilité inter-synapse (*figure 19*).

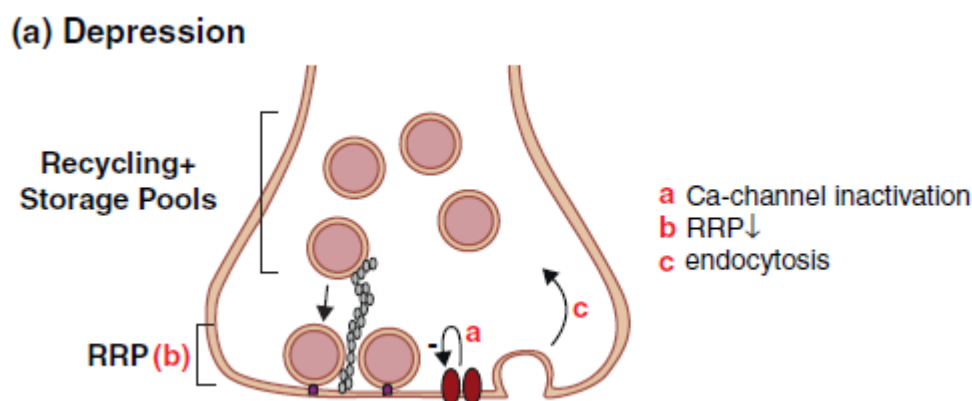


Figure 19: mécanismes de la dépression à court terme (d'après Fioravante et Regehr, 2011)
RRP : Readily Releasable Pool, réserve de neurotransmetteur disponible pour libération

La première de ces hypothèses est une réduction de l'influx calcique dans l'élément pré-synaptique. En effet, l'arrivée d'un potentiel d'action au niveau pré-synaptique provoque l'ouverture de canaux calciques voltage-dépendants. L'augmentation de la concentration intracellulaire de calcium qui en résulte va permettre la fusion des vésicules synaptiques avec la membrane, et conduire *in fine* à la libération des neurotransmetteurs dans la fente synaptique. La libération de neurotransmetteur étant donc extrêmement dépendante du calcium, on peut

penser qu'une faible variation de l'entrée de calcium en fonction de l'activité de la synapse peut entraîner des variations significatives de la plasticité pré-synaptique (Neher and Sakaba, 2008). Cette hypothèse a pu être démontrée notamment au niveau du calice de Held, une grosse synapse dans le tronc cérébral impliquée dans l'audition, où une diminution de calcium dépendante de l'influx calcique contribue à la dépression synaptique (Xu and Wu, 2005). De même, la délétion d'un domaine de liaison entre la calmoduline (une protéine sensible au calcium) et un canal calcique pour prévenir son inactivation réduit la dépression synaptique (Mochida et al., 2008).

La deuxième hypothèse est l'épuisement du pool de vésicules synaptiques compétent pour la libération (readily releasable pool, RRP). Dans l'élément pré-synaptique, seule une partie des vésicules synaptiques (5% environ) est immédiatement disponible pour libérer les neurotransmetteurs (Rizzoli and Betz, 2005). Comme ce nombre de vésicules est limité, si un potentiel d'action entraîne la libération d'une importante fraction de celles-ci, un second stimulus rapproché ne pourra pas en libérer autant car le RRP n'aura pas eu le temps d'être réapprovisionné (Zucker and Regehr, 2002). On comprend donc pourquoi les synapses avec une forte probabilité de libération des neurotransmetteurs sont plus sujettes à la dépression synaptique.

Enfin, la dernière hypothèse est que l'exocytose d'une vésicule synaptique à un endroit de la membrane plasmique empêche toute exocytose à cette même place pendant une courte durée. Ce délai pourrait refléter le temps nécessaire pour évacuer de la membrane les protéines qui y ont été intégrées suite à la fusion vésiculaire et qui gêneraient une fusion suivante (Neher and Sakaba, 2008). Il y aurait un rôle de l'endocytose dans ce mécanisme qui faciliterait ce « nettoyage » de la membrane et donc diminuerait la dépression synaptique, car lorsque l'endocytose est bloquée, la dépression est facilitée (Hosoi et al., 2009).

En ce qui concerne la facilitation (et la PPF), c'est essentiellement la disponibilité du calcium qui va jouer sur le phénomène (*figure 20*).

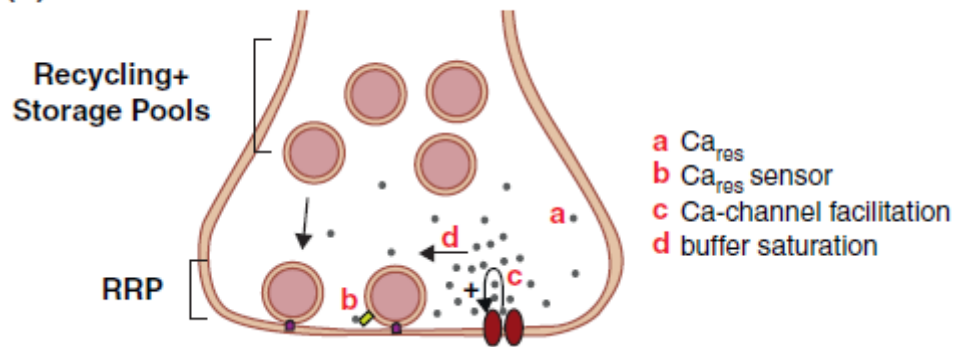
(b) Facilitation

Figure 20 : mécanismes de la facilitation synaptique (d'après Fioravante et Regehr, 2011),
 RRP : readily Releasable Pool ; Ca_{res} : concentration de calcium résiduel

On a longtemps supposé que c'était la présence de calcium résiduel (Ca_{res}) suite aux stimuli précédents qui était responsable de l'augmentation de la libération de neurotransmetteur (Zucker and Regehr, 2002). Or cette hypothèse n'a pas encore pu être définitivement démontrée. Il a par la suite été supposé (Tang et al., 2000) que ce calcium résiduel pouvait influencer sur un détecteur de calcium autre que celui déclenchant la fusion vésiculaire (la synaptotagmine) et dont l'activité s'ajouterait à celle de la synaptotagmine. Néanmoins, un tel détecteur n'a pour l'instant pas été mis en évidence.

L'augmentation de l'influx calcique pourrait contribuer à la facilitation en augmentant la probabilité de libération de neurotransmetteur lors de la survenue du stimulus suivant. Il est en effet connu que les canaux calciques peuvent voir leur action augmentée de manière activité-dépendante (Ishikawa et al., 2005). Enfin, un autre argument en faveur de cette hypothèse est que la mutation d'un canal calcique de type P en vue d'empêcher la libération calcique dépendante du calcium a eu pour résultat de supprimer complètement la facilitation synaptique (Mochida et al., 2008).

La dernière hypothèse est la saturation des systèmes calciques tampons présents au niveau pré-synaptique et dont le rôle est de capter le calcium avant que celui-ci n'atteigne les sites de libérations de neurotransmetteur. Si le premier stimulus permet déjà l'occupation d'un certain nombre de ces sites de séquestration, alors un second stimulus rapproché permettra à plus de calcium d'atteindre le site de libération des neurotransmetteurs entraînant ainsi une augmentation de la P_r. Un tel mécanisme a été démontré dans certaines synapses à haute concentration d'une protéine liant le calcium, la calbindine (Blatow et al., 2003).

De nombreux mécanismes ont été proposés pour expliquer la PTP et l'augmentation (figure 21).

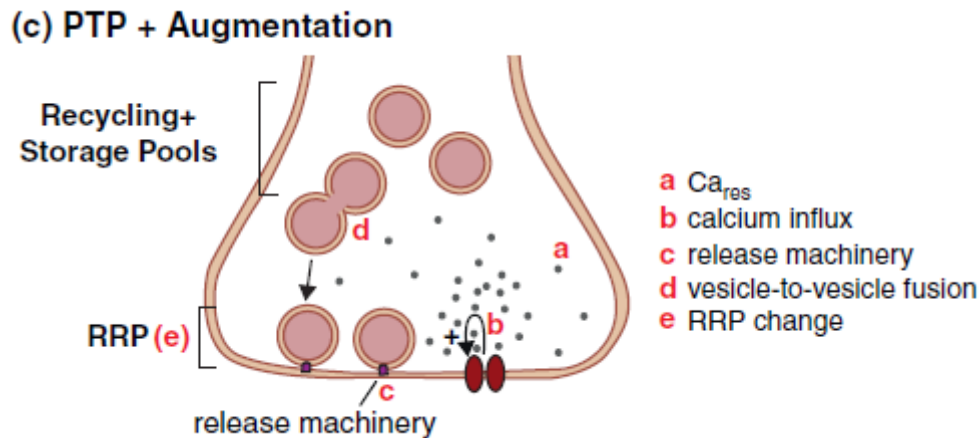


Figure 21: mécanismes de la PTP/augmentation (d'après Fioravante et Regehr, 2011)

En premier lieu, la PTP diminue la PPF, elle est donc associée à une augmentation de la P_r . Cette augmentation de la P_r peut être due soit à une augmentation de l'influx calcique, soit à des modifications des mécanismes de libération en fonction de la synapse considérée. Ainsi, dans certaines synapses, comme la synapse du calice de Held (Habets and Borst, 2006), mais pas dans d'autres, comme les neurones des ganglions cervicaux supérieurs (Mochida et al., 2008), l'augmentation du flux calcique est corrélée à la PTP. Néanmoins, il a également été démontré qu'une modification de la machinerie calcique sous l'action de la PKC, pouvait induire un influx de calcium à même de déclencher la libération de plus de vésicules synaptiques (Lou et al., 2008).

Quoi qu'il en soit, s'il a été démontré que la P_r peut être affectée indépendamment de l'influx calcique, notamment *via* la PKC (Korogod et al., 2007), les signaux calciques au sein de l'élément pré-synaptique jouent un rôle central dans les mécanismes proposés pour la PTP. Dans la synapse du calice de Held, une stimulation téτανique élève le calcium résiduel de plus de 100nM et cette élévation diminue selon un décours similaire à celui de la PTP (Habets and Borst, 2006; Korogod et al., 2007). En revanche dans l'hippocampe le décours de la PTP est plus lent que celui du calcium résiduel (Regehr et al., 1994), il semble donc que le calcium résiduel active des cascades biochimiques ayant des cinétiques plus lentes pour réguler la PTP. Il semblerait aussi que l'application d'un choc téτανisant (une stimulation répétée et prolongée à haute fréquence) entraîne la fusion de vésicules synaptiques entre elles avant l'exocytose ce qui mènerait à une libération accrue de neurotransmetteurs pour une même P_r (He et al., 2009).

De même ce type de stimulation est capable de modifier le RRP. Dans des conditions normales, seules les vésicules à proximité directe des canaux calciques sont libérées, alors qu'en réponse à une stimulation tétanique il est possible que l'augmentation massive des niveaux de calcium permette aussi aux vésicules plus éloignées d'être libérées (Lee et al., 2008).

Implication fonctionnelle de la plasticité à court terme

La plasticité synaptique à court terme a été à l'origine considérée comme importante dans l'étude du comportement des organismes simples, comme l'aplysie (Kandel and Tauc, 1965). Dans le cerveau des mammifères, elle trouve son importance dans le traitement de l'information qui provient aux synapses et permet à celles-ci de jouer un rôle de filtre.

Ainsi, une synapse avec une haute probabilité de libération de neurotransmetteurs va entrer en dépression suite à l'arrivée de signaux à hautes fréquences et ne transmettra efficacement que les premiers influx se comportant donc comme un filtre passe-bas. Elle transmettra donc sans difficulté les influx nerveux de basse fréquence (Abbott and Regehr, 2004). Ces propriétés de filtrage d'une synapse peuvent être modifiées à travers la régulation de la probabilité de libération des neurotransmetteurs, notamment par l'activation de récepteurs pré-synaptiques par des neuromodulateurs. Ceci peut modifier les caractéristiques de filtrage de la synapse et, par exemple, transformer une synapse filtre passe-bas en filtre passe-haut simplement en diminuant la probabilité de libération.

2. Plasticité synaptique à long terme

La potentialisation à long terme (LTP) est aujourd'hui le modèle prototypique de la plasticité synaptique à long terme et on la retrouve dans de nombreuses synapses sous des formes variables dont nous détaillerons les plus importantes par la suite.

Il est important de noter que les synapses qui expriment une forme de LTP sont en général toujours capables d'exprimer une forme de LTD, établissant ainsi un concept clef : la force d'interaction synaptique est régulée de façon bidirectionnelle par différents schémas d'activité (*figure 22*).

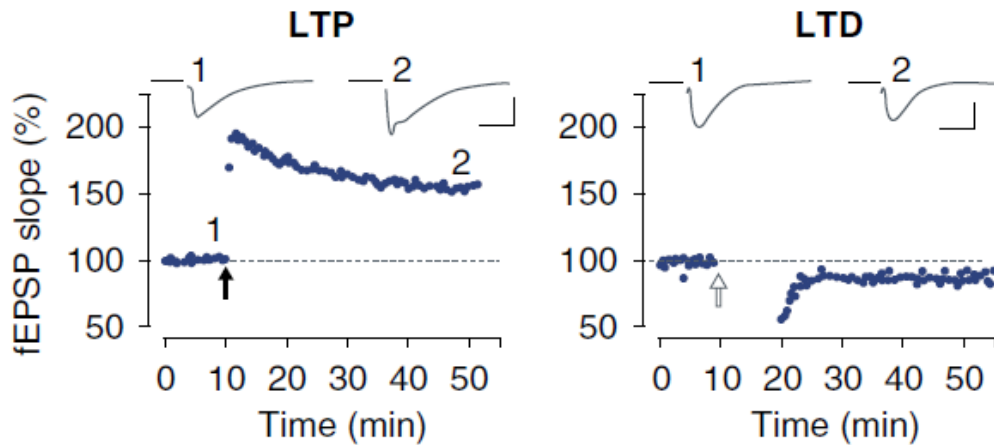


Figure 22 : illustration de l'allure typique d'une LTP et d'une LTD (d'après Citri et Malenka, 2008)
 La flèche noire représente une stimulation haute fréquence et la flèche blanche une stimulation basse fréquence. Les dix premières minutes d'enregistrement donnent la ligne de base, qui représente le niveau de transmission de la synapse en conditions normales et fixe la valeur 100%. Par la suite, la stimulation conditionnante va entraîner une variation durable de ce niveau vers le haut dans le cas d'une stimulation haute fréquence (LTP) ou vers le bas dans le cas d'une stimulation basse fréquence (LTD)

De nombreuses propriétés de la LTP en font un mécanisme cellulaire idéal pour le stockage de l'information. Comme la mémoire, la LTP est générée rapidement et elle est renforcée par la répétition. Elle présente aussi trois caractéristiques essentielles que sont :

- la coopérativité (elle est induite par l'activation conjointe de plusieurs synapses),
- l'associativité (une faible stimulation associée à une stimulation plus forte est potentialisée, étant ainsi un analogue cellulaire du conditionnement classique),
- la spécificité d'entrée (la LTP est induite uniquement à la synapse active et pas dans les synapses adjacentes inactives, ce qui augmente les capacités de stockage d'un neurone car différentes synapses d'un même neurone peuvent ainsi être impliquées dans différents circuits et participer au stockage de différentes informations).

La forme la plus étudiée de plasticité synaptique à long terme est la LTP/LTD enregistrée dans la région CA1 de l'hippocampe et déclenchée par l'activation du récepteur NMDA du glutamate. Cette plasticité faisant plus spécifiquement l'objet de ces travaux nous allons en parler plus en détail avant d'aborder plus brièvement les autres formes de plasticité.

La potentialisation à long terme dépendante des récepteurs NMDA

Aucune forme de plasticité n'a été plus étudiée que la LTP-NMDA dépendante dans la région CA1 de l'hippocampe du fait de l'implication indiscutable de cette région dans différentes formes de mémoire à long terme.

De plus, d'un point de vue pratique, le développement de la préparation transverse d'hippocampe dans laquelle la connectivité intra-hippocampique est respectée (*figure 23*) a permis des expérimentations localisées et facilement reproductibles permettant une analyse fine des mécanismes de la LTP.

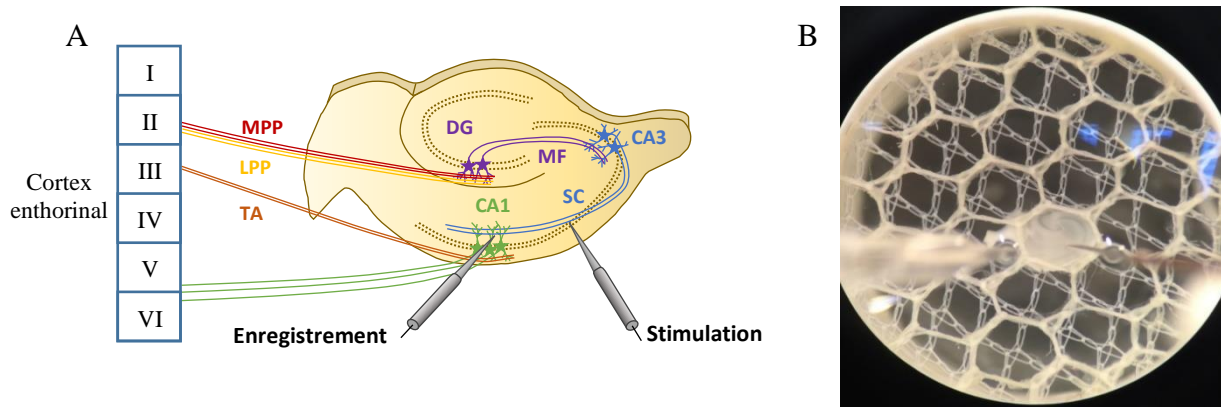


Figure 23: La coupe transverse d'hippocampe

A. Schéma des circuits hippocampiques. Le gyrus denté (DG) reçoit des afférences (voies perforantes médiales, MPP et latérales, LPP) de la couche II du cortex enthorinal. Les cellules granulaires projettent à leur tour sur les cellules pyramidales de la région CA3 par les fibres moussues (MF), dont les axones partant vers les cellules pyramidales de la région CA1 forment la collatérale de Schaeffer (SC). Enfin, ces dernières projettent leurs axones vers le cortex enthorinal (couches V et VI). Il est à noter que la région CA1 reçoit aussi des afférences directes du cortex enthorinal par la voie temporo-ammonique (TA).
 B. Photographie à travers une loupe binoculaire de la coupe transverse d'hippocampe. Celle-ci est maintenue entre deux filets de nylon et des électrodes sont positionnées pour un enregistrement dans la région CA1 comme sur le schéma A.

Dans cette préparation, l'activité synaptique peut être facilement mesurée grâce à une électrode bipolaire placée dans la collatérale de Schaeffer assurant l'activation du faisceau d'axones afférents provenant des neurones pyramidaux de la région CA3 et une micropipette d'enregistrement placée dans la *stratum radiatum* de la région CA1 permettant d'enregistrer la réponse induite au niveau dendritique des neurones pyramidaux de cette région. Il est à noter que cette préparation permet aussi la mesure de l'activité des synapses au niveau des autres connexions hippocampiques incluant celles entre le cortex enthorinal et le gyrus denté et celles entre le gyrus denté et la région CA3. Grâce à cette préparation, on peut donc étudier les propriétés fonctionnelles et plastiques de l'ensemble de la boucle tri-synaptique hippocampique.

Au niveau de la synapse glutamatergique de la région CA1, c'est la mise en jeu du sous-type de récepteurs AMPA qui génère la réponse post-synaptique à l'activation afférente lorsque le potentiel de membrane du neurone est proche du potentiel de repos. En effet, le récepteur NMDA est bloqué de façon voltage-dépendante par les ions magnésium (Mayer et al., 1984), ce qui empêche sa mise en activité dans les valeurs proches du potentiel de repos.

En revanche, lorsque l'élément post-synaptique est suffisamment dépolarisé soit par une activation importante des récepteur AMPA en réponse à une stimulation téτανisante des fibres afférentes soit par injection directe de courant dans le neurone, le blocage du récepteur NMDA est levé ce qui entraîne une entrée de sodium et de calcium par des canaux associés aux récepteurs (figure 24).

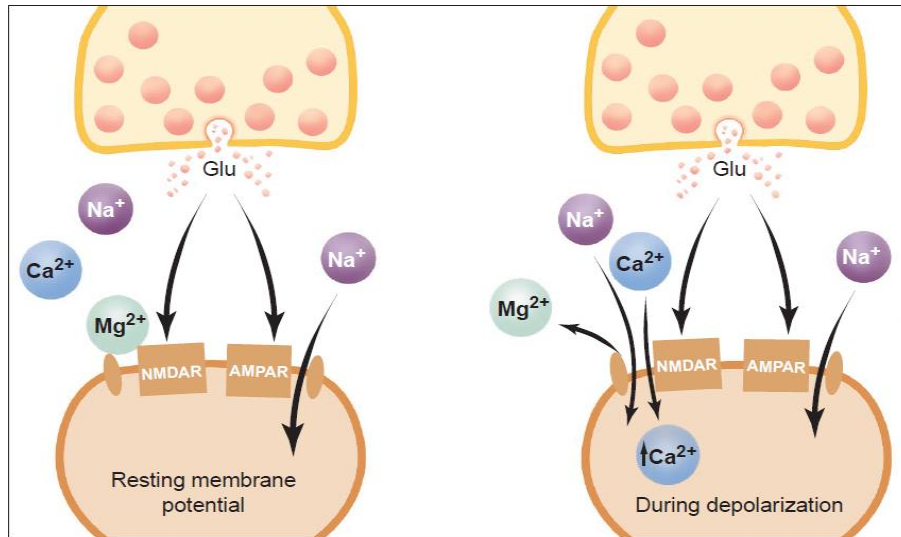


Figure 24: activation du récepteur NMDA (d'après Malenka et Nicoll, 1999)

Il est aujourd'hui bien établi que c'est par l'activation du récepteur NMDA que la LTP est induite dans la grande majorité des synapses et que l'augmentation de la concentration intracellulaire de calcium qui est générée doit atteindre un seuil critique pour déclencher les processus biochimiques nécessaires à l'expression de la LTP (Malenka et Nicoll, 1993 ; Malenka, 1991).

Expérimentalement la LTP est provoquée par une stimulation à haute fréquence des fibres afférentes, ou par des protocoles dits de « pairing » dans lesquels l'élément post-synaptique est artificiellement dépolarisé simultanément à la délivrance d'une stimulation modérée des afférences. Un autre protocole appelé « spike timing dependent plasticity » (STDP) associe quant à lui une stimulation pré-synaptique à une stimulation post-synaptique suivant un schéma temporel précis (Markram et al, 1997 ; Dan et Poo, 2006) : si la stimulation pré-synaptique précède la stimulation post-synaptique, une LTP est provoquée ; dans le cas inverse il en résulte une LTD. Tous ces protocoles associent donc à la fois une activation pré-synaptique et post-synaptique conjointes pour induire l'expression de la plasticité synaptique, ce qui est bien en accord avec le postulat de Hebb.

Ce sont les propriétés particulières d'activation du récepteur NMDA (propriétés qui lui valent d'ailleurs le qualificatif de récepteur de coïncidence), à savoir à la fois la présence au niveau de son site de fixation de son agoniste (et de son co-agoniste) libéré par l'élément pré-synaptique mais également une dépolarisation post-synaptique pour lever le blocage par le magnésium. Ce sont ces caractéristiques qui permettent d'expliquer les trois propriétés de la LTP évoquées précédemment. La coopérativité et l'associativité découlent de la nécessité d'activer plusieurs synapses pour provoquer une dépolarisation suffisante de l'élément post-synaptique et lever ainsi le blocage du récepteur NMDA par le magnésium. La spécificité d'entrée est due à l'accroissement très localisé de l'influx calcique au niveau de l'épine dendritique post-synaptique et qui n'affecte pas les épines dendritiques voisines (Nicoll et al, 1988).

De nombreuses molécules ont été proposées comme effecteurs intracellulaires de la LTP suite à la montée de la concentration de calcium post-synaptique, mais bon nombre d'entre elles se sont révélées n'être que des modulateurs de la plasticité. A l'heure actuelle, la calcium/calmoduline-dépendante protéine kinase II (CamKII), qui subit une auto-phosphorylation après le déclenchement de la LTP, semble être le candidat le plus probable (Barria et al, 1997 ; Fukunaga et al, 1995). En effet, il a été montré que l'induction de la LTP était empêchée à la fois chez des souris présentant une délétion d'une sous-unité critique de la CamKII (Silva et al, 1992) mais également chez des souris chez lesquelles la CamKII endogène était remplacée par une forme dépourvue du site de l'autophosphorylation (Giese et al, 1998). De plus, le blocage pharmacologique (à l'aide d'un peptide inhibiteur) de l'activité de la CamKII bloque la LTP (Malenka et al, 1989 ; Malinow et al, 1989), alors qu'à l'inverse une augmentation de la concentration de CamKII activée augmente la LTP (Lledo et al, 1995 ; Pettit et al, 1994).

Suite à l'activation de la CamKII, on observe à la fois une augmentation de la conductance unitaire des récepteurs AMPA déjà présents à la synapse (Benke et al, 1998 ; Soderling and Derkach, 2000), ainsi que l'incorporation de nouveaux récepteurs AMPA (majoritairement contenant la sous-unité GluA1) à la surface de la synapse (*figure 25*).

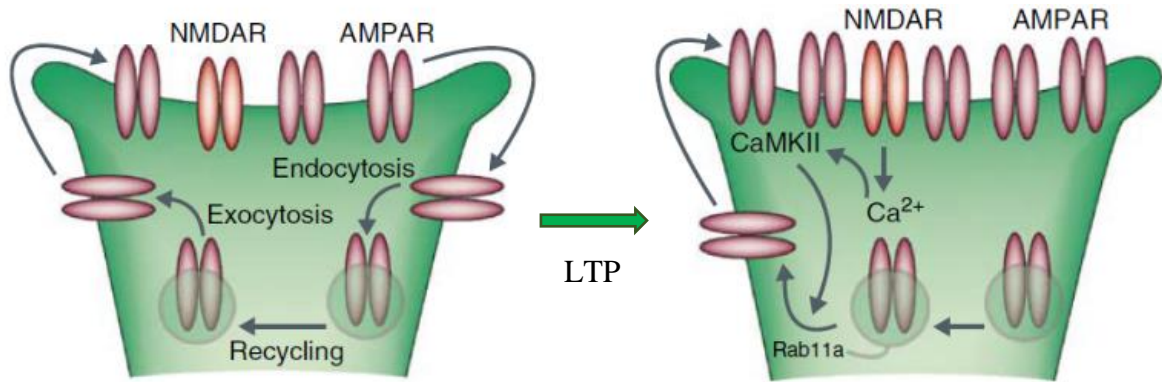


Figure 25: mécanisme d'expression de la LTP (d'après Citri et Malenka, 2008)
Redistribution de récepteurs AMPA vers la synapse par exocytose et diffusion latérale

Ces deux phénomènes sont respectivement dus, d'une part à la phosphorylation de récepteurs AMPA « vierges » (Derkach et al, 1999, 2007), et d'autre part à des changements du trafic membranaire des récepteurs AMPA (Bredt and Nicoll, 2003 ; Derkach et al, 2007 ; Malenka and Nicoll, 1999 ; Malinow and Malenka, 2002 ; Song and Huganir, 2002). Dans l'hippocampe les récepteurs AMPA sont majoritairement de deux types : ce sont soit des hétéromères GluA1/GluA2, soit des hétéromères GluA2/GluA3 (Wenthold et al, 1996). L'intégration de récepteurs AMPA au niveau de la synapse semble suivre des règles précises : l'apport des récepteurs contenant GluA1 est très lent en conditions basales, mais fortement stimulée en cas d'activation des récepteurs NMDA. Il a d'ailleurs été démontré un rôle facilitateur de la PKA à ce niveau par la phosphorylation de la sérine 845 des sous-unité GluA1 des récepteurs AMPA (Esteban et al., 2003). En revanche, l'intégration des récepteurs contenant la sous-unité GluA3 est constitutivement plus rapide (Hayashi et al, 2000; Passafaro et al, 2001; Shi et al, 2001). Ces récepteurs proviennent de vésicules de réserve présentes dans les épines dendritiques et qui sont mobilisées au cours de la LTP par le biais de la protéine Rab11a qui lie le GTP (Park et al, 2004).

L'idée selon laquelle l'incorporation de récepteurs AMPA dans la synapse va en grande partie augmenter son activité découle de l'hypothèse de l'existence de synapses silencieuses. Ces synapses dont l'existence a pu être démontrée (Liao et al, 1995) ne contiendraient que des récepteurs NMDA et donc sans activité au potentiel de repos des neurones. Lors de l'induction d'une LTP, elles se verraient alors pourvues en récepteur AMPA et deviendraient donc actives.

Ce mécanisme a par la suite été étendu aux synapses contenant déjà des récepteurs AMPA et a contribué à mettre fin à un débat concernant l'origine pré ou post-synaptique de l'expression de la LTP NMDA-dépendante (Bredt and Nicoll, 2003; Collingridge et al., 2004).

Un argument en défaveur de l'origine pré-synaptique de ce type de LTP a été apporté par la réalisation d'un protocole associant la libération de glutamate par « uncaging » (un dérivé inactif du glutamate est transformé en glutamate actif par l'émission de photon) à proximité directe d'une épine dendritique avec une dépolarisation post-synaptique. Ce protocole a permis d'induire une LTP similaire en tout point à celle produite par un protocole électrique classique (Granger and Nicoll, 2014). En raison de la grande résolution spatiale et temporelle de cette technique d'« uncaging » du glutamate, il a bien été montré que cette LTP était générée sans la moindre intervention de l'élément pré-synaptique.

Si l'on s'intéresse à la mécanistique plus précise de la LTP, il faut signaler que les récepteurs AMPA ne sont pas directement intégrés à la synapse mais sont libérés par exocytose au niveau péri-synaptique avant de diffuser vers la densité post-synaptique (PSD) où ils seront fixés par leur interaction avec des protéines de ce complexe, notamment la PSD-95 (une protéine de la famille MAGUKs pour membrane-associated guanylate kinases). Il a d'ailleurs été démontré que la surexpression de PSD95 augmente la LTP (Ehrlich and Malinow, 2004 ; Stein et al, 2003), alors que sa délétion diminue la surface d'expression des récepteurs AMPA et la force de l'interaction synaptique (Ehrlich et al, 2007 ; Schluter et al, 2006). De façon intéressante, les récepteurs AMPA n'interagissent pas directement avec PSD-95, mais par le biais d'une famille de protéines appelées TARP (pour transmembrane AMPAR regulatory proteins) (Schnell et al, 2002). Il semblerait de plus que les récepteurs NMDA soient eux aussi recrutés à la synapse par exocytose pendant la LTP. Il a en effet été rapporté une augmentation des courants synaptiques véhiculés par les récepteurs NMDA après l'induction d'une LTP, accroissement qui est bloqué par l'application d'inhibiteurs de l'exocytose (Peng et al., 2010).

Les mécanismes que j'ai évoqués précédemment rendent compte de potentialisation qui peuvent durer de 30 à 60 minutes après l'induction de la stimulation conditionnante et ont donc reçu l'appellation d'« early LTP » ou LTP précoce.

Pour un maintien à plus long terme, la synthèse de nouvelles protéines est nécessaire (Reymann and Frey, 2007). On parle alors de « late LTP » ou LTP tardive dont on suppose qu'elle dépend d'une synthèse protéique au niveau dendritique (Sutton and Schuman, 2006), ainsi que de la transcription de nouveau messenger (Zhou et al, 2006).

Un rôle de la PKA serait aussi observé à ce niveau, par le biais de la phosphorylation des protéines CREB (cAMP-response element-binding) et MAPK (mitogen-associated protein kinase) (Waltereit and Weller, 2003). Il existe cependant des arguments indiquant que le maintien de la LTP tardive pourrait se faire sans synthèse protéique : des protocoles de LTP ont ainsi été menés en présence d'anisomycine ou de cycloheximide (deux inhibiteurs de la synthèse protéique), sans effet sur le maintien à long terme (Villers et al., 2012). L'hypothèse d'un « synaptic tag » généré lors de l'induction de la LTP pour capturer et recruter des protéines nécessaires au maintien de la plasticité a été suggérée (Frey and Morris, 1997), mais l'identité et la nature de ce « synaptic tag » restent pour l'heure inconnues.

Un autre mécanisme supposé prendre part dans le maintien de la plasticité à long terme tardive est le remodelage structural des synapses potentialisées (Luscher et al, 2000). Les épines dendritiques ont des formes très variées et peuvent subir des changements rapides en fonction de leur activité. Il a été observé, lors de LTP, la pousse de nouvelles épines dendritiques, le grossissement d'épines préexistantes ou encore la séparation d'une seule épine en deux synapses indépendantes (Abraham and Williams, 2003 ; Matsuzaki et al, 2004 ; Yuste and Bonhoeffer, 2001). On suppose que les modifications de la morphologie de la synapse ont lieu au niveau post-synaptique. L'élément pré-synaptique suit par la suite en quelque sorte le mouvement, sa taille correspondant toujours à peu près à celle de la PSD (Lisman and Harris, 1993).

La dépression à long terme dépendante des récepteurs NMDA

L'induction de ce type de LTD est globalement similaire à celle de la LTP, en ce sens qu'elle nécessite, elle aussi, l'activation des récepteurs NMDA et une entrée de calcium dans l'élément post-synaptique (Mulkey and Malenka, 1992). En revanche, là où l'induction d'une LTP nécessite un protocole expérimental de stimulation brève à haute fréquence, la LTD va être induite par une stimulation prolongée à basse fréquence (par exemple 900 stimuli à 1Hz, Dudek and Bear, 1992).

L'hypothèse dominante à ce jour concernant l'induction spécifique d'une LTD ou d'une LTP est que la première requiert une montée croissante et modérée des taux de calcium post-synaptique (Cummings et al, 1996), alors que la seconde nécessite une augmentation importante de la concentration de calcium intracellulaire au-delà d'un seuil d'activation critique (Malenka and Nicoll, 1993).

La frontière est donc fine entre l'induction d'une LTP ou d'une LTD et on comprend facilement qu'une synapse puisse subir l'un ou l'autre de ces phénomènes en fonction des évènements (figure 26, Debanne and Thompson, 1994).

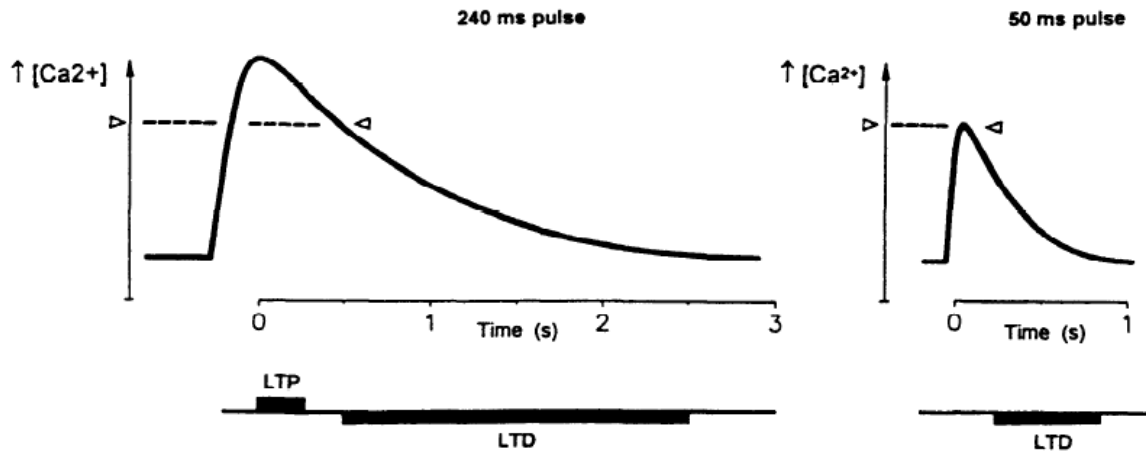


Figure 26: l'ampleur de l'influx calcique détermine le signe et l'amplitude de la variation de la force synaptique (d'après Debanne et Thompson, 1994) La concentration de calcium libre dans l'élément post-synaptique est représentée en fonction du temps suite à l'application d'un stimulus dépolarisant de 240ms (gauche) ou de 50ms (droite). En pointillé est représenté un seuil hypothétique de concentration calcique au-delà duquel l'activation de la synapse conduit à une LTP, si le transient calcique est redescendu sous le seuil (gauche) ou si il ne dépasse pas le seuil (droite) on obtient une LTD.

Le signal de transduction de la LTD activé par le calcium met en jeu une autre protéine activée par la calmoduline : la calcineurine (ou PP2b pour protein phosphatase 2b), qui est une phosphatase dont le rôle est directement opposé à celui de la CamKII. A cet effecteur principal s'ajoutent la protéine phosphatase 1 (PP1) et une phosphoprotéine appelée inhibiteur 1 dont le rôle est d'inhiber PP1 jusqu'à ce qu'elle soit déphosphorylée par la calcineurine (Lisman, 1989). En accord avec cette hypothèse, le blocage de l'activité des phosphatases post-synaptiques bloque la LTD et l'ajout de PP1 directement au niveau post-synaptique augmente la LTD (Morishita et al., 2001).

A ce niveau du mécanisme, il est intéressant de se pencher sur les propriétés de la calcineurine et de la CamKII. En effet il a été démontré *in vitro* que ces deux protéines sont activées par des concentration similaires de calcium et de calmoduline (Stemmer and Klee, 1994; Stratton et al., 2013). On peut donc se demander comment l'une va pouvoir agir suite à de faibles élévations du taux de calcium intracellulaire pour entrainer une LTD sans que l'autre n'intervienne et pousse la synapse vers le processus inverse ? Il semblerait que la réponse se situe, au moins en partie, au niveau de la localisation précise de ces protéines au sein de l'élément post-synaptique (Penny and Gold, 2018).

En effet, la calcineurine dans les conditions basales serait située à proximité directe des récepteurs NMDA, et fixée à la PSD par une protéine d'ancrage AKAP79. La CamKII serait quant à elle plus éloignée (Penny and Gold, 2018). Ainsi, la calcineurine pourrait être activée par de faibles influx de calcium au niveau de micro domaines de taille réduite. Au contraire, de fortes entrées de calcium provoqueraient un détachement d'AKAP79 de la PSD éloignant ainsi la calcineurine des récepteurs NMDA, tandis que dans le même temps la CamKII sera rapprochée et activée.

L'expression de LTD a été corrélée avec une déphosphorylation des substrats post-synaptiques de la PKC et de la PKA sans changements au niveau des substrats de la CamKII (Hrabetova and Sacktor, 1996; Kameyama et al., 1998; Lee et al., 1998). En accord avec ces observations, la LTD est associée à une déphosphorylation sélective de la sérine 845 sur la sous-unité GluA1 des récepteurs AMPA qui est un site de phosphorylation de la PKA (Lee et al., 2000). Cette déphosphorylation peut d'ailleurs contribuer à la LTD car elle entraîne une diminution de la probabilité d'ouverture des canaux associés aux récepteurs AMPA (Banke et al., 2000).

La démonstration de l'existence de synapses silencieuses et la possibilité de les convertir en synapse active (Malenka and Nicoll, 1997) évoquée précédemment dans le cadre de la LTP, a logiquement mené à l'idée d'un processus inverse expliquant la LTD (*figure 27*).

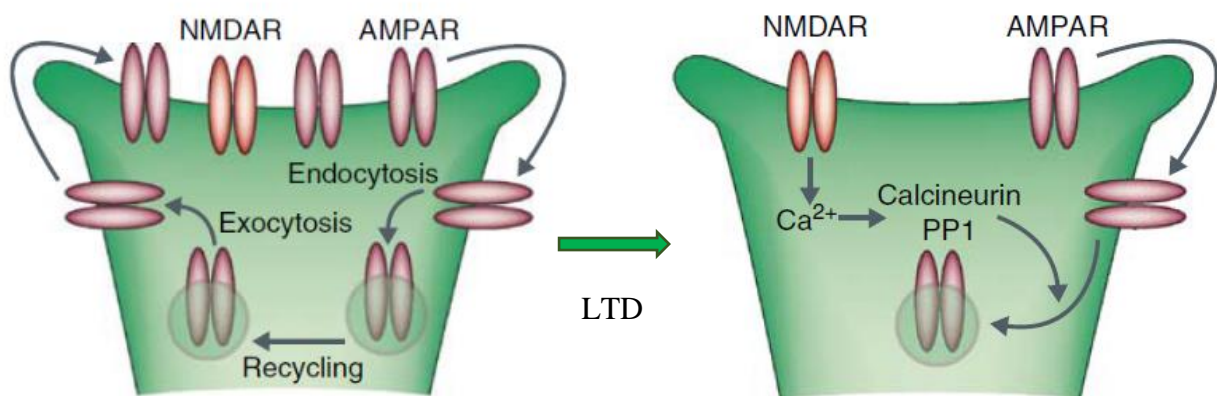


Figure 27: mécanisme d'expression de la LTD NMDA dépendante (d'après Citri et Malenka, 2008)
Diffusion des récepteurs AMPA hors de la synapse puis endocytose

Sur la base de cette théorie, l'hypothèse actuelle d'expression de la LTD est justement une endocytose activité-dépendante des récepteurs AMPA synaptiques (Collingridge et al., 2004; Malenka and Bear, 2004).

Il est supposé que les récepteurs AMPA seraient dissociées de leurs protéines d'ancrage à la PSD avant de diffuser latéralement hors de la PSD où ils seraient ensuite internalisés par des endocytoses dépendantes de protéines clathrine et dynamine (Ashby et al, 2004; Blanpied et al, 2002; Groc et al, 2004). Cette hypothèse concorde avec une intervention des phosphatases car l'endocytose des récepteurs AMPA est dépendante de déphosphorylations calcium-dépendantes (Carroll et al., 2001).

De même, la déphosphorylation de la stargazine (une protéines d'ancrage à la PSD de la famille des TARPs) par PP1 serait nécessaire à la LTD (Tomita et al., 2005). Cette déphosphorylation permettrait à la stargazine de se détacher de la PSD. Le complexe stargazine-récepteur AMPA – alors libéré de la PSD - serait internalisé permettant ainsi l'expression de la LTD (Ziff, 2007). Cependant, une étude récente sur le trafic des récepteurs AMPA durant la LTD pointe dans une direction différente : ce serait en fait une baisse de l'exocytose des récepteurs AMPA et non une augmentation de leur endocytose qui serait responsable de la LTD (Fujii et al., 2018).

Enfin, comme dans le cas de la LTP on observe pour la LTD une modification structurale de la morphologie des épines dendritiques qui serait à l'origine du maintien dans la durée de cette plasticité synaptique. Ainsi, il a été rapporté que la LTD est accompagnée d'une diminution de la taille des épines dendritiques (Nägerl et al., 2004; Zhou et al., 2004) dont l'origine serait la perte de récepteurs AMPA à la PSD (Hsieh et al., 2006). En effet, la taille des épines dendritiques serait directement corrélée à la quantité de récepteurs AMPA qu'elles contiennent (Matsuzaki et al., 2001; Nusser et al., 1998; Takumi et al., 1999).

Autres formes de plasticité à long terme

LTP pré-synaptiques

Si la LTP NMDA-dépendante est retrouvée dans la plupart des synapses de l'hippocampe, un autre mécanisme est mis en jeu pour induire la LTP au niveau de la synapse entre fibres moussues et région CA3 (Nicoll et Malenka, 1995). Les études s'accordent à dire que le site d'induction et d'expression de cette forme de LTP est pré-synaptique.

Par ailleurs, cette forme de LTP pré-synaptique est également retrouvée au niveau de synapses cortico-thalamique (Castro-Alamancos et Calcagnotto, 1999), de la synapse entre fibres parallèles et cellules de Purkinje dans le cervelet (Linden 1997 ; Salin et al, 1996), et de façon moins évidente au niveau de la synapse cortico-striatale (Spencer et Murphy, 2002).

Cette LTP est déclenchée par stimulation haute fréquence causant une importante augmentation de la concentration de calcium au niveau des terminaisons pré-synaptique (Nicoll and Malenka, 1995; Nicoll and Schmitz, 2005; Zalutsky and Nicoll, 1990). Cet effet est supposé être véhiculé par des canaux calciques voltages-dépendants avec une potentielle facilitation par les récepteurs AMPA de type kaïnate, particulièrement GluR6 (Lauriet al, 2001; Schmitz et al, 2003). Il en résulte l'activation d'une adénylate cyclase dépendante de la calmoduline qui va augmenter la concentration d'AMPC et par la suite activer la PKA. La PKA ainsi activée irait phosphorylée un substrat encore indéterminé, causant une augmentation durable de la libération de neurotransmetteurs (Nicoll and Malenka, 1995; Nicoll and Schmitz, 2005). De façon surprenante, cette augmentation de la libération de neurotransmetteurs ne semble pas due à une variation de l'influx calcique (Kamiya et al, 2002; Regehr and Tank, 1991; Reid et al, 2004), mais plutôt à un changement au niveau de la machinerie régissant l'exocytose des vésicules synaptiques. En effet, il semble que la protéine de la zone active Rim α (un substrat de la PKA) et son partenaire de liaison, la protéine vésiculaire Rab3a, soient impliquées dans ce type de LTP, puisque la suppression de l'une (Castillo et al, 2002; Powell et al, 2004) ou l'autre (Castillo et al, 1997; Lonart et al, 1998) bloque la LTD dans la région CA3 hippocampique et dans le cervelet.

Il est à noter que même si le débat d'une expression pré- ou post-synaptique de la LTP NMDA-dépendante de la région CA1 semble trancher en faveur de l'élément post-synaptique, la forte quantité d'études pointant en faveur de l'autre option laisse à penser que deux formes mécaniquement distinctes de LTP pourraient coexister, avec notamment l'intervention d'un messager rétrograde tel que le monoxyde d'azote (pour revue, (Padamsey and Emptage, 2014)). Une étude récente propose d'ailleurs un mécanisme détaillé de cette forme de LTP, qui ne mettrait pas en jeu les récepteurs NMDA post-synaptiques, mais des canaux calciques voltages-dépendants activant la NO synthase post-synaptique sans libération de glutamate (Padamsey et al, 2017). Les auteurs mettent d'ailleurs en évidence le fait qu'en cas de libération de glutamate dans ce protocole, c'est au contraire une LTD qui est produite par activation des récepteurs NMDA pré-synaptiques qui réduisent la probabilité de libération des neurotransmetteurs.

LTD dépendante des récepteurs métabotropiques du glutamate (mGluR)

Un protocole particulier d'induction de la LTD, la stimulation basse fréquence par stimuli appariés (paired-pulse low frequency stimulation, PP-LFS) a mis en évidence une forme de LTD mécaniquement différente de la LTD-NMDA-dépendante dans la région CA1 de l'hippocampe (Oliet et al., 1997) et qui est aussi observée dans le cervelet (Ito, 1989; Linden and Connor, 1995).

Cette LTD est dépendante de l'activation des mGluR (de groupe 1 soit les mGluR1 et mGluR5) et peut être induite aussi par des agonistes de ces récepteurs comme le (RS)-3,5-dihydroxyphenylglycine (DHPG) (O'Mara et al., 1995; Overstreet et al., 1997). Ces récepteurs sont connus pour être couplés à la phospholipase C (PLC) entraînant la production de diacylglycerol (DAG) et de l'inositol triphosphate (IP₃) qui vont activer la PKC et induire la libération de calcium des stocks intracellulaires (Gladding et al., 2009; Lüscher and Huber, 2010). La PKC activée va phosphoryler les sous-unité GluA2 des récepteurs AMPA sur le résidu serine 880, ce qui va mener à leur diffusion latérale hors de la PSD et à leur endocytose (*figure 28*, Gladding et al., 2009; Lüscher and Huber, 2010). Il semblerait cependant que la PKC ne soit pas impliquée au niveau de cette forme de LTD dans l'hippocampe (Huang and Hsu, 2006). D'autres protéines de signalisation considérées comme pouvant jouer un rôle important dans cette LTD dépendante des mGluR sont la MAPkinase p38, ERK et JNK1 (Gallagher et al., 2004; Li et al., 2007; Rush et al., 2002).

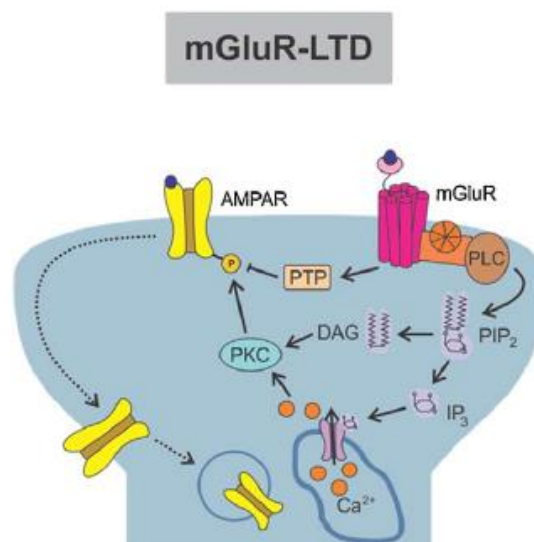


Figure 28: mécanismes de la LTD mGluR dépendante (d'après Pinar et al, 2017)

DAG : diacylglycerol ; IP₃ : inositol triphosphate ; PKC : protéine kinase C ; PLC : phospholipase C ; PTP : protéine tyrosine phosphatase

LTD véhiculée par les endocannabinoïdes (eCB)

Les eCB sont connus pour leur capacité à agir en tant que messagers rétrogrades au niveau des synapses dans de nombreuses régions du cerveau. En réponse à une forte dépolarisation, les eCB vont agir sur les récepteurs aux cannabinoïdes CB1 pré-synaptiques pour inhiber la libération de neurotransmetteurs de façon temporaire (quelques dizaines de secondes) (Kreitzer and Regehr, 2002).

Mais ils sont aussi impliqués dans la médiation d'une forme de LTD qui a été observée dans des synapses excitatrices au niveau des neurones épineux moyens du striatum (Gerdeman et al., 2002), des cellules pyramidales de la couche 5 du cortex (Sjöström et al., 2003), ainsi que dans les synapses inhibitrices de l'hippocampe (Chevalleyre and Castillo, 2004). Dans le striatum, il semble que ce type de LTD nécessite l'activation des mGluR du groupe 1, des récepteurs à la dopamine D2 et canaux calciques de type L (Kreitzer and Malenka, 2005). Il en résulte la libération d'anandamide qui active ensuite les récepteurs CB1 pré-synaptiques (Ade and Lovinger, 2007). Dans le cortex en revanche, cette LTD ne nécessite pas l'activation des mGluR post-synaptiques, mais l'activation de récepteurs NMDA pré-synaptiques (Sjöström et al., 2003).

Métoplasticité et « synaptic scaling » (remise à niveau synaptique)

La métoplasticité est une forme particulière de plasticité qui influe sur la plasticité ; elle est provoquée par une activité synaptique qui, seule n'induit pas de modification durable de l'efficacité synaptique mais qui va être capable d'exercer une influence sur la production d'une plasticité synaptique ultérieure (Abraham and Bear, 1996). Dans l'hippocampe par exemple, l'activation répétée des récepteurs NMDA sans produire l'induction de LTD ou de LTP peut cependant entraîner un glissement des seuils de plasticité de telle sorte que l'induction de la LTP va être défavorisée et celle de la LTD facilitée (Huang et al., 1992; Wang and Wagner, 1999)

Le phénomène de « synaptic scaling » est une forme de plasticité homéo-synaptique permettant à la synapse de ne pas se retrouver dans des niveaux de potentialisation extrêmes (pouvant donner lieu à une activité épileptiforme) ou au contraire dans un stade quiescent. Ce phénomène a pour rôle de maintenir un niveau moyen d'activité neuronale en ajustant de façon dynamique l'efficacité synaptique pour promouvoir une certaine stabilité (Turrigiano and Nelson, 2004).

III. Plasticité synaptique et mémoire

Après avoir démontré l'existence d'une plasticité fonctionnelle synaptique dans l'hippocampe de mammifères, Bliss et Lømo conclurent leur étude pionnière sur cette phrase : « *Whether or not the intact animal makes use in real life of a property which has been revealed by synchronous repetitive volleys to a population of fibers the normal rate and pattern of activity along which are unknown, is another matter.* » (Bliss et Lømo, 1973).

Cette question fondamentale a été longtemps débattue et si, à l'heure actuelle, la LTP ou la LTD telle que nous la reproduisons en conditions expérimentales, est considérée en premier lieu comme un outil d'étude de la plasticité, il est aussi maintenant admis que ces mécanismes synaptiques se produisent bien chez les êtres vivants lorsqu'ils vivent des expériences à même de générer une trace mnésique (Whitlock, 2006).

Pour qu'un mécanisme de plasticité synaptique puisse être considéré comme un moyen de stockage de l'information il faut qu'il réponde aux trois critères formulés par Hebb (Hebb, 1949) que sont l'associativité, la coopérativité et la spécificité d'input. Ces critères sont validés à la fois pour la LTP (Bliss and Collingridge, 1993) et pour la LTD (Braunewell and Manahan-Vaughan, 2001; Dudek and Bear, 1992; Stanton and Sejnowski, 1989), au moins en ce qui concerne les formes NMDA-dépendantes étudiées dans la région CA1 de l'hippocampe. A ces trois critères s'ajoutent ceux proposés par Martin et ses collaborateurs (Martin et al., 2000) :

- la détectabilité (c'est à dire que si un souvenir est créé, alors une variation de l'efficacité synaptique doit pouvoir être détectée quelque part),
- la possibilité d'imitation (si on peut reproduire le schéma complet de modifications de l'efficacité synaptique, on devrait pouvoir induire un souvenir d'une expérience jamais vécue)
- la possibilité d'altérations antérogrades (empêcher la formation du souvenir et de la variation de l'efficacité synaptique) ou rétrogrades (altérer un souvenir existant et la variation de l'efficacité synaptique qui lui est associé).

Dans ce chapitre nous allons passer en revue les études associant la formation de ces deux formes de plasticité synaptique à long terme à l'observation de comportements révélant un apprentissage et la formation de souvenirs.

1. Potentialisation à long terme et mémoire

Chez l'homme, l'établissement d'un lien direct entre une variation de l'efficacité synaptique mesurée par des techniques d'électrophysiologie et les performances dans des tests de mémoire est complexe. L'utilisation d'électroencéphalographie au cours de tâches d'apprentissage permet d'observer des modifications d'activité électrique dans des zones précises dépendantes du type de mémoire étudiée mais ne donne pas d'informations sur l'activité au niveau synaptique et donc sur une éventuelle plasticité. De même, l'imagerie par fMRI permet d'identifier les zones actives lors d'un apprentissage mais ne donne pas d'informations sur les phénomènes plastiques en lien avec cet apprentissage (Amin and Malik, 2013).

En revanche, par l'utilisation de protocoles de stimulation magnétique trans-crânienne (TMS) au niveau des aires corticales motrices couplés à un enregistrement électromyographique des réponses musculaires, il est possible d'enregistrer des phénomènes dit « LTP-like » (et aussi « LTD-like ») (Cohen et al., 1998). Par exemple, à l'aide de stimulations proches des protocoles de STDP on peut observer une variation (diminution ou augmentation) des réponses motrices évoquées qui perdurent dans le temps. Ces techniques permettent ainsi de faire un lien indirect entre plasticité « LTP-like » et mémoire puisque des études menées sur des patients atteints de troubles mnésiques (notamment des patients atteints de la Maladie d'Alzheimer) mettent en évidence une altération de ces phénomènes (Battaglia et al., 2007; Inghilleri et al., 2006).

Il existe cependant quelques études réalisées *in vitro* sur des tissus humains provenant d'exérèses de foyer épileptiques. Ces études rapportent la possibilité d'induire des LTP en usant de protocoles similaires à ceux utilisés chez les animaux dans le cortex temporal (Chen et al., 1996) et le gyrus denté (Beck et al., 2000). De façon intéressante, cette dernière étude rapporte que l'antagoniste compétitif AP5 des récepteurs NMDA connu pour bloquer l'expression de la LTP NMDA-dépendante et empêcher l'apprentissage chez l'animal (Morris et al., 1986), est également efficace sur la LTP chez l'homme.

Un point essentiel est que l'on peut rapprocher les effets amnésiants d'une molécule chez l'homme ou l'animal avec ses effets de blocage observés sur la plasticité chez l'animal. Ainsi on peut donner l'exemple de la scopolamine qui entraîne une amnésie chez l'homme (Ellis et al., 2005) et l'animal (Anisman, 1975a) et qui diminue la LTP chez la souris (Matsumoto et al., 2001). De même, la kétamine, connue pour provoquer une amnésie chez

l'homme est capable de bloquer la LTP (Huang et al., 2016; Zhang and Levy, 1992). A l'opposé, il a été démontré que la D-cyclosérine peut augmenter la consolidation de la mémoire déclarative chez l'homme (Feld et al., 2013) et restaure la LTP chez la souris âgées (Billard and Rouaud, 2007). De même, la stimulation trans-crânienne a un effet favorable sur de nombreux types de mémoire chez l'homme et il a été rapporté qu'elle favorise l'induction de LTP chez le rat (Kronberg et al., 2017). De nombreux exemples de ce type peuvent être donnés ; ce sont cependant des preuves très indirectes du lien entre plasticité synaptique et mémoire.

Les études électrophysiologiques menées *in vivo* chez des animaux en exploration libre lors de tâches comportementales sont essentielles pour obtenir la preuve d'un lien direct entre plasticité synaptique et mémoire. Dans ces études, les animaux subissent une chirurgie pour implanter des électrodes dans les zones cérébrales souhaitées sur la base de coordonnées stéréotaxiques. Des stimulations sont envoyées à des fréquences n'induisant pas de plasticité et la réponse est enregistrée durant des protocoles de comportement afin de déterminer si l'apprentissage serait capable d'en générer.

Ainsi, il semble que la LTP peut être provoquée dans l'hippocampe par des expériences de mémoire liée à un conditionnement par la peur contexte-dépendant (Broussard et al., 2016; Whitlock, 2006). De façon intéressante, cette LTP induite par l'apprentissage empêche par la suite l'induction d'une LTP par stimulation haute fréquence (Whitlock, 2006) montrant l'intervention de mécanismes communs. De plus, il semble que l'inverse soit vrai aussi : l'induction *in vivo* d'une LTP par stimulation haute fréquence au niveau de la synapse collatérale de Schaeffer/CA1 empêche l'apparition d'un conditionnement ou l'extinction de ce conditionnement et ce, dépendamment du moment d'induction de la LTP (Gruart, 2006). Cette même étude rapporte l'apparition d'une LTP provoquée par une tâche d'apprentissage associatif au fur et à mesure des sessions de conditionnement et une disparition de cette LTP au fur et à mesure de l'extinction de la mémoire associée.

Des études ont aussi montré que des protocoles d'apprentissage spatial dans un nouvel environnement facilitent la survenue d'une LTP dans l'hippocampe, utilisant pour se faire une stimulation à haute fréquence mais de faible intensité n'induisant pas normalement de plasticité à long terme (Hagena and Manahan-Vaughan, 2011; Kemp and Manahan-Vaughan, 2004, 2008; Straube et al., 2003). Ce phénomène a été enregistré dans les trois synapses principales de l'hippocampe. En effet il a été rapporté au niveau des synapses collatérales de Schaeffer/CA1 (Kemp and Manahan-Vaughan, 2004), des fibres moussues/CA3 (Hagena and Manahan-Vaughan, 2011) et de la voie perforante/gyrus denté (Kemp and Manahan-Vaughan, 2008).

Une étude intéressante a démontré la stabilité d'une LTP induite par stimulation à haute fréquence dans l'hippocampe *in vivo* sur une période allant jusqu'à un an chez le rat, ce qui représente une durée considérable à l'échelle de la vie d'un tel rongeur et confirme bien l'idée d'un stockage de la mémoire à long terme par des mécanismes de plasticité synaptique. Les auteurs rapportent de plus un aspect expérience-dépendant de cette LTP, car l'exposition à un environnement enrichi entraînerait sa disparition (Abraham et al., 2002).

Deux autres études, portant sur la labilité de la mémoire lors des processus de reconsolidation, ont mis en évidence que la LTP supposément associée à un souvenir est fragilisée suite au rappel de ce souvenir. La reconsolidation est un phénomène similaire à la consolidation d'une nouvelle trace mnésique mais intervenant après le rappel d'un souvenir préexistant et il s'en suit une période pendant laquelle on peut interférer avec la stabilité de cette trace mnésique. Ces études suggèrent qu'il en va de même pour la plasticité synaptique à long terme.

Ainsi, dans l'amygdale, l'injection d'un inhibiteur de MAPK, connu pour bloquer la consolidation et la reconsolidation, entraîne une inhibition de la potentialisation synaptique produite par la reconsolidation. De plus, les auteurs rapportent conjointement à ces effets sur la plasticité synaptique, une baisse de l'immobilisation ou « freezing » associé au stimulus conditionnant, donc du souvenir (Doyère et al., 2007). L'autre étude, menée dans l'hippocampe rapporte que l'injection d'un inhibiteur de la synthèse protéique inhibe la LTP après reconsolidation alors que cette molécule n'a pas d'effets sur une LTP déjà établie et non associée à des processus de reconsolidation (Okubo-Suzuki et al., 2016). Ces résultats signifient que comme pour le souvenir, la reconsolidation d'une LTP la rend sensible à d'éventuelles perturbations.

Au niveau de l'amygdale, une étude a rapporté la survenue d'une LTP suite à un conditionnement de peur classique (Nabavi et al., 2014). De plus, les auteurs rapportent que l'effacement de cette LTP par une stimulation prolongée à basse fréquence entraîne une disparition de la mémoire de ce conditionnement qui peut alors être récupérée par l'induction d'une LTP en réponse à une stimulation haute fréquence de ces mêmes synapses.

Ces études menées *in vivo* contribuent grandement à répondre à la question de savoir si un mécanisme similaire à la LTP participe au stockage de la mémoire chez l'être vivant. En effet, elles mettent en évidence que ce phénomène de plasticité synaptique à long terme répond au critère de détectabilité : on peut voir apparaître une potentialisation de la transmission

synaptique au cours d'un apprentissage (Whitlock, 2006). A l'opposé, il a aussi été rapporté l'observation de la disparition de la LTP simultanément à la disparition d'un souvenir associé (Gruart, 2006)). De plus, ces études indiquent que la LTP remplit aussi les critères de possibilité d'altération antérograde (l'induction d'une LTP par stimulation haute fréquence avant apprentissage empêche l'apparition d'un conditionnement (Gruart, 2006)) et de possibilité d'altération rétrograde (l'application d'une basse fréquence supprime la LTP produite par un apprentissage et le conditionnement associé (Nabavi et al., 2014)). Enfin, une étude laisse à penser que la LTP pourrait répondre au critère d'imitation : l'induction d'une LTP permettant de réactiver un souvenir disparu (Nabavi et al., 2014).

2. Dépression à long terme et mémoire

La dépression à long terme a longtemps été considérée davantage comme une façon de supprimer une LTP, que comme un moyen à part entière de stockage de l'information. Cependant, un regain d'intérêt dans les années 90 a permis d'approfondir notre connaissance des mécanismes impliqués et ainsi de prendre conscience de la pertinence de ce mécanisme en tant que support de l'encodage de l'information (Connor and Wang, 2016).

Si la LTP est impliquée dans l'encodage de souvenirs associés à l'exploration d'un nouvel environnement, des études en électrophysiologie *in vivo* montrent que la LTD est quant à elle couplée à l'encodage et à la mise à jour d'éléments nouveaux dans l'espace (Goh and Manahan-Vaughan, 2013; Manahan-Vaughan and Braunewell, 1999), et ce, même dans un environnement qui avait au préalable permis la facilitation de la LTP (Kemp and Manahan-Vaughan, 2004). La qualité précise des éléments nouveaux présents dans un contexte donné va influencer l'expression de la LTD de façon différente suivant la zone de l'hippocampe considérée.

Ainsi, les grandes variations de repères spatiaux distaux (nouveaux ou réarrangés) vont promouvoir la LTD dans le gyrus denté (Kemp and Manahan-Vaughan, 2008) et au niveau de la synapse fibres moussues/CA3 (Hagena and Manahan-Vaughan, 2011). Les variations plus subtiles et proximales vont promouvoir la LTD dans la région CA1 (Manahan-Vaughan and Braunewell, 1999) et au niveau de la synapse entre les fibres commissurales ou associationnelles avec la région CA3 (Hagena and Manahan-Vaughan, 2011).

Dans un test de reconnaissance d'objet, la présentation d'un objet nouveau entraîne l'apparition d'une LTD dans la région CA1 chez la souris (Goh and Manahan-Vaughan, 2013) et cette modification empêche la formation subséquente d'une LTP par stimulation haute fréquence.

Des travaux menés sur la mémoire spatiale ont démontré que l'apprentissage spatial en piscine de Morris facilite l'induction d'une LTD par stimulation basse fréquence (Dong et al., 2013). De plus, la même équipe rapporte que la LTD est nécessaire pour le réapprentissage lorsque la position de la plateforme est modifiée car son blocage (soit par un inhibiteur de l'endocytose des AMPAR, soit par un antagoniste spécifique des sous-unités GluN2B empêche ce réapprentissage.

De façon intéressante, deux études réalisées en électrophysiologie, *ex vivo* pour la première et *in vivo* pour la seconde, suggèrent un rôle majeur de la LTD dans la consolidation plus que dans l'acquisition de la mémoire. Ainsi le blocage de la LTD empêche la mémorisation à long terme dans un test de conditionnement par la peur liée au contexte (Liu et al., 2014) sans affecter l'apprentissage. Des résultats similaires sont observés au cours d'un apprentissage spatial en piscine de Morris (Ge et al., 2010).

Les études d'électrophysiologie menées *in vivo* chez des animaux au cours de tâches comportementales sont peu nombreuses mais permettent déjà d'entrevoir un rôle majeur de la LTD dans certains types de mémoire. De plus elles répondent au critère de détectabilité (Goh and Manahan-Vaughan, 2013) et à celui de possibilité d'altération antérograde (Kemp and Manahan-Vaughan, 2004). De nombreux travaux restent cependant nécessaires avant de pouvoir répondre aux derniers critères.

IV. Facteurs modulateurs de la plasticité

L'importance de la plasticité synaptique dans les processus d'apprentissage et de mémoire implique qu'elle soit un phénomène hautement régulé. Il est donc évident que dans les conditions physiologiques de nombreux facteurs sont à même d'influencer son induction, son expression et sa persistance sur le long terme. De même, la plasticité synaptique est un phénomène sensible aux altérations provoquées par de nombreuses pathologies et il est même probable que des altérations de la plasticité synaptique soient elles-mêmes à l'origine des symptômes de certaines d'entre elles comme la maladie d'Alzheimer.

1. Les modulations physiologiques de la plasticité synaptique

Impact du vieillissement sur la plasticité synaptique

Le vieillissement est généralement associé à un déclin des fonctions cognitives dont la mémoire. Ces déficits, en partie liés à une atteinte neuronale, sont essentiellement dus à de subtiles et spécifiques altérations synaptiques, notamment au niveau de l'hippocampe et du cortex frontal (Morrison and Baxter, 2012). En effet, ces régions sont associées à deux types de mémoire particulièrement affectées au cours du vieillissement : la mémoire épisodique et la mémoire de travail.

De nombreuses études s'accordent pour dire que la LTP est diminuée chez les rongeurs âgés par rapport aux jeunes adultes (Billard, 2015 ; Barnes, 2003 ; Foster, 2006 ; Lynch, 1998, Moore et al, 1993 ; Yang et al, 2010 ; Tombaugh et al, 2002) et que cette diminution est en grande partie véhiculée par une altération de l'activité des récepteurs NMDA (Barnes et al, 1997 ; Clayton et al, 2002 ; Freret et al, 2012 ; Potier et al, 2000). De façon intéressante, il a été démontré qu'il n'y a pas de déficit de synthèse et libération de glutamate avec le vieillissement (Segovia et al, 2001). En revanche, il existe une diminution de synthèse de la D-sérine, un co-agoniste endogène dont la présence est nécessaire pour l'activation des récepteurs NMDA, dans l'hippocampe des rats âgés (Turpin et al, 2011). En accord avec cette observation, l'apport de D-sérine exogène rétablit une LTP normale chez le rat âgé (Mothet et al, 2006 ; et des japonais ; Turpin et al, 2011).

Il est intéressant de noter que dans le gyrus denté aussi, une diminution de la LTP est observée chez le rat âgé mais n'est pas rétablie par un apport de D-sérine exogène (Labarrière et al, 2014). Il semblerait plutôt que l'atteinte de l'expression de la LTP dans ce territoire hippocampique provient d'une diminution de l'activité afférente du cortex enthorinal (Geinisman et al, 1986 ; Lippa et al, 1992 ; Burke et Barnes, 2010) et d'une diminution de la densité de récepteur NMDA (Magnusson, 2000 ; Gazzaley et al, 1996 ; Morrison et Gazzaley, 1993).

En ce qui concerne la LTD, il semble qu'elle évolue en fonction de l'âge selon une courbe en U (figure 29, (Pinar et al., 2017)).

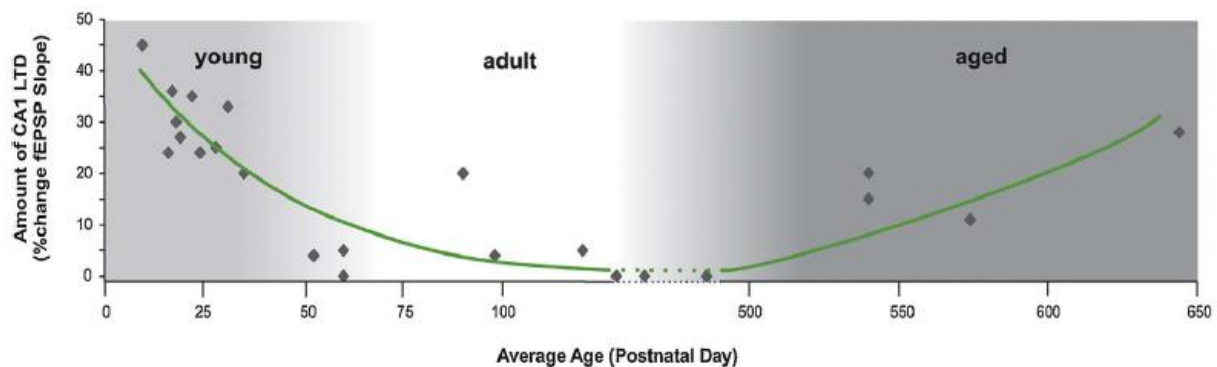


Figure 29: évolution de l'intensité de la LTD chez le rat en fonction de l'âge (d'après Pinar et al, 2017)

Chez les jeunes rats, de nombreuses études ont rapporté que la LTD est induite facilement et que son amplitude diminue avec l'âge (Dudek and Bear, 1993; Kemp et al., 2000) jusqu'à devenir difficile à induire chez le rat adulte (Bashir and Collingridge, 1994; Mayford et al., 1995).

Il est possible que cette diminution de la LTD chez l'adulte soit liée à une modification du système GABAergique avec l'âge car son blocage par la bicuculline (Wagner and Alger, 1995) ou la picrotoxine (Kerr and Abraham, 1995), antagoniste compétitif et non compétitif respectivement, permet d'augmenter la LTD chez l'adulte mais pas chez le jeune. De même, l'activité Ca^{2+} -indépendante de la CamKII (autophosphorylation) semble modifiée entre le jeune et l'adulte. Ainsi, dans un modèle transgénique exhibant une autophosphorylation de la CamKII amplifiée, on retrouve chez l'adulte une LTD proche de celle qui peut être obtenue chez le jeune (Mayford et al., 1995).

De façon intéressante, de nombreuses études indiquent que le seuil d'induction de la LTD est plus facilement atteint chez les animaux âgés (Foster, 1999; Foster and Kumar, 2007; Rosenzweig and Barnes, 2003). Il semblerait que ces différences puissent provenir d'un déséquilibre entre kinases et phosphatases (Hsu et al., 2002) et d'un rôle des canaux calciques de type L qui favorisent la LTD au détriment de la LTP chez le rat âgé (Norris et al., 1998).

A l'inverse, d'autres études rapportent une diminution de la LTD chez le rat âgé par rapport au jeune adulte et d'autres suggèrent même que la persistance d'une LTD normale serait la marque d'un vieillissement réussi (Billard and Rouaud, 2007; Kollen et al., 2010; Lee et al.,

2005). De même, il a été observé une transformation de la LTD vers la LTP dû à une suractivité des récepteurs à l'adénosine A_{2a} neuronaux apparaissant avec le vieillissement (Temido-Ferreira et al., 2018).

En résumé, le vieillissement exerce une forte influence sur l'expression de la plasticité synaptique en impactant de manières opposées la LTP et la LTD. En effet, les études s'accordent sur le fait que la LTP est altérée et que son amplitude est réduite par l'avancée en âge. En revanche, les effets du vieillissement sur la LTD sont moins clairement établis, certaines études pointant vers une diminution et d'autres vers une augmentation de la LTD avec l'âge. Il semblerait que ces apparentes contradictions soient le fruit de conditions expérimentales différentes, il a en effet été démontré que le temps de repos entre le prélèvement des tissus et la mesure de la plasticité influe de façon proportionnelle sur l'amplitude de la LTD (Billard, 2010).

Impact du stress sur la plasticité synaptique

De nombreuses études ont démontré un fort impact du stress sur les processus de mémoire et d'apprentissage, notamment ceux dépendants de l'hippocampe (Joëls et al., 2006; Kim et al., 2006a; Shors, 2004, 2006) et ces effets ont été rapportés comme étant liés à une modification de la plasticité synaptique (Wong et al., 2007).

Plus précisément, il semble que le stress impacte de façon différente la LTP et la LTD, la première forme de plasticité étant inhibée quand la seconde est facilitée.

La diminution de la LTP suite à un stress aigu a été rapportée à la fois *in vivo* (Diamond et al., 1994) et *in vitro* (Foy et al., 1987; Mesches et al., 1999; Shors et al., 1989) en usant de facteurs de stress variés comme l'exposition à un prédateur ou l'administration de chocs électriques. A l'opposé, la facilitation de la LTD a elle aussi été démontrée *in vitro* (Kim et al., 1996; Yang et al., 2005) et *in vivo* (Manahan-Vaughan, 2000; Xu et al., 1997). Par ailleurs il a aussi été démontré que le stress prénatal entraîne chez la progéniture une baisse de l'amplitude de la LTP et une augmentation de celle de la LTD (Yang et al., 2006; Yeh et al., 2012). Il est aussi important de noter que ces déficits apparaissent chez l'animal incapable de se soustraire au facteur de stress (Shors et al., 1989), indiquant que les effets de ce facteur sur la plasticité synaptique sont déterminés par l'aspect psychologique et pas seulement les facteurs physiologiques (Kim et al., 2006a). Cette observation est en accord avec le fait qu'une lésion de l'amygdale (une région limbique impliquée dans les processus émotionnels) peut prévenir les effets du stress sur la plasticité synaptique (Kim et al., 2005).

Une réponse physiologique majeure face au stress est la sécrétion de glucocorticoïdes qui vont activer les récepteurs aux minéralocorticoïdes (MR) et glucocorticoïdes (GR). Les MR ont une forte affinité pour les glucocorticoïdes, alors que celle des GR est faible donc en conditions normales, seuls les MR sont activés (Arriza et al., 1988). En condition de stress, l'activation des GR par la montée en concentration des glucocorticoïdes va entraîner des effets sur la mémoire et la plasticité. Ces récepteurs sont liés à la plasticité par le biais du facteur neurotrophique dérivé du cerveau (brain derived neurotrophic factor, BDNF). En effet, MR et GR contrôlent la production des récepteurs TrkB et p75 du BDNF, L'activation de TrkB facilite la LTP (Minichiello et al., 1999; Zhang and Poo, 2002) alors que l'activation de p75 facilite la LTD (Rösch et al., 2005; Woo et al., 2005). A basse concentration de glucocorticoïdes, les MR activent la production de TrkB (Stranahan et al., 2010, 2011) tandis qu'à haute concentration, ils la diminuent et augmentent celle de p75 (Wosiski-Kuhn et al., 2014). De plus l'ajout direct de corticostérone sur des tranches d'hippocampe entraîne une facilitation de la LTD dans la région CA1 (Tse et al., 2011).

Par ailleurs il a été démontré que le stress, par le biais des GR pourrait inhiber la recapture du glutamate au niveau de la synapse, activant des récepteurs NMDA extra-synaptiques contenant la sous-unité GluN2B, ce qui favorise la LTD (Yang et al., 2005). La même équipe a de plus montré que le blocage de ces récepteurs NMDA contenant GluN2B par un antagoniste spécifique, le Ro25-6981, inhibe la facilitation de la LTD par le stress.

Ainsi, à l'instar du vieillissement le stress a donc une influence néfaste sur la LTP alors qu'il va faciliter la LTD.

Impact du sexe sur la plasticité synaptique

Les hormones sexuelles sont capables d'influer sur la mémoire et l'apprentissage et de nombreuses études indiquent également un rôle dans la régulation de la plasticité synaptique. Il a d'ailleurs été démontré que la production de ces hormones existe aussi au niveau cérébral, permettant ainsi une action plus rapide que par le biais des hormones circulantes (Prange-Kiel et al.; Roselli et al., 1985; Tabatadze et al., 2014).

Le rôle des œstrogènes dans la régulation de la LTP fait aujourd'hui consensus, de nombreuses études ayant démontré une augmentation de la LTP par ces hormones dans l'hippocampe à la fois *in vivo* (Córdoba Montoya and Carrer, 1997; Warren et al., 1995) et *ex vivo* (Fugger et al., 2001; Kramár et al., 2009; Kumar et al., 2015; Oberlander and Woolley, 2016). En revanche, les effets des œstrogènes sur la LTD sont plus difficiles à cerner.

Certaines études rapportent un effet pro-LTD des œstrogènes (Day and Good, 2005; Desmond et al., 2000; Mukai et al., 2007; Murakami et al., 2015; Zamani et al., 2000). À l’opposé, il a été démontré une suppression de la LTD par les œstrogènes (Sharrow et al., 2002) passant par une inhibition des phosphatases et notamment de la calcineurine. Enfin une étude rapporte une absence d’effets chez l’adulte et une suppression de la LTD chez le rat âgé (Vouimba et al., 2000), ce qui est confirmé par d’autres études chez l’animal âgé (Foster et al., 2003; Foy et al., 2008a).

Le rôle de la progestérone au niveau de la plasticité synaptique a été étudié par de nombreuses équipes mais reste encore sujet à débat car les résultats obtenus sont contradictoires. Certaines études ne trouvent pas d’effets sur la LTP dans la région CA1 *ex vivo* (Ito et al., 1999) alors que dans d’autres il a été rapporté une diminution de la LTP (Foy et al., 2008b) pouvant résulter de la mise en jeu de récepteurs GABA_A (Mitchell et al., 2008). En revanche, aucune étude n’a rapporté d’effets sur la LTD (Foy et al., 2008b).

Les récepteurs des androgènes sont abondants dans l’hippocampe et les taux d’androgènes dans cette structure sont nettement plus élevés qu’au niveau de la circulation générale (Ooishi et al., 2012) suggérant un rôle majeur de ceux-ci dans la régulation de ses fonctions. Les études en date confirment en effet un rôle des androgènes sur la plasticité synaptique (Schulz and Korz, 2010) ; ils réduiraient la LTP dans la région CA1 (Harley et al., 2000) et y favoriseraient la LTD (Hebbard et al., 2003). De même, il a été démontré que l’inhibition de la synthèse de dihydrotestostérone (DHT) entraîne un glissement de la LTD vers la LTP et facilite l’induction de la LTP par un stimulus à haute fréquence subliminaire, ces effets étant bloqués par l’ajout de DHT exogène (Di Mauro et al., 2015, 2017). Enfin, le blocage des récepteurs aux androgènes dans la région CA1 de l’hippocampe affecte l’induction de la LTD, la transformant en LTP (Pettorossi et al., 2013). Il existe cependant une étude rapportant des résultats contraires menées sur des souris KO ayant subi une délétion spécifique du gène des récepteurs des androgènes cérébraux, dans cette étude les auteurs rapportent une diminution de la LTP associée à des déficits de mémoire (Picot et al., 2016).

Impact des neurotransmetteurs sur la plasticité synaptique

En premier lieu, le GABA en tant que médiateur de l’inhibition joue un rôle prépondérant dans la plasticité synaptique. En effet l’activation des récepteurs post-synaptiques du GABA de type entraîne une hyperpolarisation qui s’oppose directement à l’activation des récepteurs NMDA.

De nombreuses études ont rapporté que l'activation des récepteurs GABA_A entraîne une diminution ou un blocage de la LTP dans l'hippocampe (Evans and Viola-McCabe, 1996; Muñoz et al., 2016; Rodgers et al., 2015) alors que leur blocage la facilite (Grover and Yan, 1999; Martin et al., 2010). De façon intéressante, le blocage des récepteurs GABA_A par la bicuculline n'a pas d'effets sur la LTD chez le jeune rat mais facilite l'induction de celle-ci chez le rat adulte (Wagner and Alger, 1995). Au contraire, les récepteurs GABA_B vont favoriser l'induction de la LTP par un phénomène de désinhibition passant par des autorécepteurs présents au niveau des afférences GABAergiques et dont l'activation diminue la libération de GABA (Davies et al., 1991; Mott and Lewis, 1991, 1992).

Il en est de même pour les autres systèmes de neurotransmission. Ainsi, le blocage des récepteurs muscariniques par la scopolamine altère la LTP hippocampique (Matsumoto et al., 2001) alors que leur activation directe (Burgard and Sarvey, 1990) ou indirecte, par exemple par le donepezil (Kapai et al., 2012) la facilite dans cette même région. De plus, toujours dans l'hippocampe, l'activation des récepteurs nicotiques, notamment des types contenant la sous-unité $\alpha 7$ favorise l'induction de la LTP (Kroker et al., 2011; Ondrejcek et al., 2012). En ce qui concerne le système dopaminergique, il a été rapporté que le blocage des récepteurs D4 facilite la LTP dans l'hippocampe tout en y bloquant la LTD (Navakkode et al., 2017) et chez des souris KO n'exprimant pas le transporteur de la dopamine il a été rapporté la persistance d'une LTP normale mais une inhibition de la LTD (Morice et al., 2007). De même, l'activation des récepteurs β du système noradrénergique est connue pour faciliter l'induction de la LTP hippocampique (Haq et al., 2016; Qian et al., 2012).

Enfin, le système sérotoninergique est lui aussi impliqué dans la régulation de la plasticité synaptique hippocampique (Corradetti et al., 1992; Staubli and Otaky, 1994), modulation que nous allons détailler à travers les 5-HT₄R dans le chapitre suivant.

2. Modulation de la plasticité synaptique par les récepteurs 5-HT₄

Les 5-HT₄R sont impliqués dans la régulation des processus d'apprentissage et de mémoire, où ils exercent des effets promnesiants et anti-amnésiants par leur activation (Hagena and Manahan-Vaughan, 2016). Compte tenu des liens entre mémoire et plasticité synaptique, de nombreuses études se sont penchées sur les effets de l'activation ou du blocage des 5-HT₄R sur ces processus, notamment dans l'hippocampe.

Modulation de la plasticité synaptique par les récepteurs 5-HT₄ dans l'hippocampe

Le gyrus denté, étant considéré comme la porte d'entrée des informations dans l'hippocampe, nous allons commencer par rapporter les effets de la modulation des 5-HT₄R sur la plasticité synaptique dans cette zone (tableau 4). Ici, au niveau donc de la synapse entre la voie perforante et les cellules granulaires, le blocage des 5-HT₄R par l'antagoniste RS39604 entraîne un passage de la dépression à court terme vers la LTD sans affecter la LTP (Twarkowski et al., 2016). A l'inverse, leur activation par l'agoniste partiel RS67333 bloque la LTD et favorise un retour de la LTP vers le niveau de base de la transmission synaptique (Twarkowski et al., 2016). Une autre étude montre un effet dose-dépendant du RS67333 : à faible dose, celui-ci n'affecterait pas la LTP mais l'inhiberait à plus haute concentration (Kulla and Manahan-Vaughan, 2002). A l'opposé, une dernière étude dans le gyrus denté indique que l'activation des 5-HT₄R entraîne une augmentation transitoire (1h) de la LTP avant de revenir au niveau de LTP des contrôles (Marchetti et al., 2004).

Dans la région CA3 (corne d'Ammon), au niveau de la synapse entre les fibres moussues provenant du gyrus denté et les cellules pyramidales, l'activation des 5-HT₄R par le RS 67333 inhibe à la fois la LTP et la LTD, alors que leur blocage par le RS39604 facilite l'induction de la LTP et de la LTD par des stimulations subliminaires (Twarkowski et al., 2016).

Dans la région CA1, au niveau de la synapse entre la collatérale de Schaeffer provenant de la région CA3 et les cellules pyramidales, l'activation des 5-HT₄R par le RS67333 entraîne un blocage de la LTD alors que son blocage par le RS39604 permet à un stimulus à basse fréquence n'induisant pas de LTD en conditions normales, d'en induire une (Kemp and Manahan-Vaughan, 2005). En revanche, la même étude a démontré que ni l'activation ni le blocage de ces récepteurs n'affectent la LTP

Par ailleurs, ces auteurs démontrent que les 5-HT₄R ont la propriété de modifier la valeur de la fréquence « seuil » dite Θ_+ (Bienenstock et al., 1982) pour laquelle normalement ni LTP ni LTD ne sont induites par la stimulation. En effet, l'activation de ces récepteurs va alors provoquer une LTP alors que leur blocage va entraîner une LTD (*figure 30*).

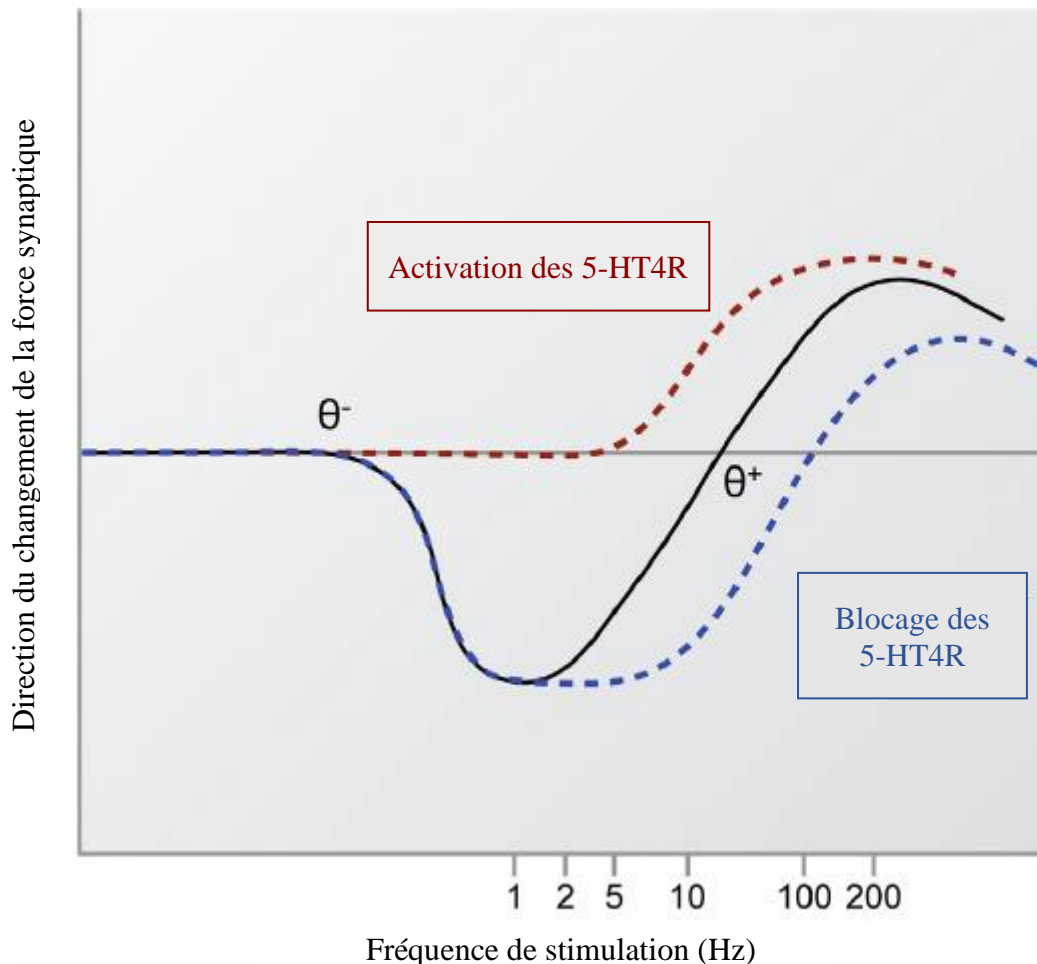


Figure 30: variation du sens de la plasticité synaptique en fonction de la fréquence de stimulation (d'après Hagen et Manahan-vaghan, 2016)
 La courbe noire correspond à la réponse en conditions normales et les courbes bleu et rouge correspondent aux réponses observées par les auteurs lors de la modulation pharmacologiques des 5-HT₄R
 Θ^- : valeur de fréquence seuil en deçà de laquelle aucune plasticité n'est induite et au dessus de laquelle une LTD est induite
 Θ^+ : valeur de fréquence seuil en deçà de laquelle une LTD est induite et au dessus de laquelle une LTP est induite

Toujours dans la région CA1, une autre étude utilisant le SC53116 comme agoniste partiel des 5-HT₄R rapporte une augmentation de la LTP après activation des récepteurs 5-HT₄ (Matsumoto et al., 2001). De façon intrigante, une étude rapporte l'induction d'une augmentation considérable et durable de l'excitabilité des neurones pyramidaux suite à l'activation temporaire des 5-HT₄R (Mlinar et al., 2006).

Cette augmentation de l'excitabilité dure pendant au moins 2 heures et l'ajout d'un antagoniste après son induction ne rétablit pas le niveau initial. Cet effet pourrait participer à l'activité pro-mnésiante associée à l'activation des 5-HT₄R observée au niveau comportemental. En effet, il a été suggéré qu'en plus de la plasticité synaptique, la plasticité de l'excitabilité intrinsèque d'un neurone participe aussi à la formation de la mémoire (Daoudal and Debanne, 2003; Lisman et al., 2018).

Enfin, dans le subiculum, qui est la principale cible des cellules pyramidales de la région CA1 ainsi que la voie de sortie principale de l'hippocampe, la LTP n'est pas affectée par l'activation ou le blocage des 5-HT₄R. En revanche, la LTD est facilitée par l'action du RS67333 sur ces récepteurs alors qu'elle est bloquée par l'action de l'antagoniste RS39604 (Wawra et al., 2014).

Structure	Ligand utilisé	Modèle	Effets sur la plasticité	Références
hippocampique				
Gyrus denté	RS67333 (+)	<i>In vivo</i> ,	Blocage dose-dépendant de la LTP	Kulla et Manahan-vaughan, 2002
	RS39604 (-)	ICV	Pas d'effet sur la LTP	
	RS67333 (+)		Blocage de la LTD et facilitation du retour à la ligne de base de la LTP	Twarkowski et al, 2016
	RS39604 (-)		Pas d'effet sur la LTP, facilitation de la LTD	
	RS67333 (+)	<i>In vivo</i> ,	Augmentation de la LTP	Marchetti et al, 2004
	RS39604 (-)	IP	Facilitation du retour à la ligne de base de la LTP	
CA3	RS67333 (+)	<i>In vivo</i> ,	Blocage LTP et LTD	Twarkowski et al, 2016
	RS39604 (-)	ICV	Facilitation LTP et LTD	
CA1	SC53116 (+)	<i>In vivo</i> ,	Augmentation de la LTP	Matsumoto et al, 2001
	GR113808 v	ICV	Pas d'effet sur la LTP	
	RS67333 (+)		Blocage de la LTD, pas d'effet sur la LTP mais induction d'une LTP à 10Hz	Kemp et Manahan-Vaughan, 2005
	RS39604 (-)		Facilitation de la LTD, pas d'effet sur la LTP mais induction d'une LTD à 10Hz	
Subiculum	RS67333 (+)	<i>Ex vivo</i>	Facilitation de la LTD, pas d'effet sur la LTP	Wawra et al, 2014
	RS39604 (-)		Blocage de la LTD, pas d'effet sur la LTP	

Tableau 4: effets sur la plasticité synaptique hippocampique de la modulation pharmacologique des récepteurs 5-HT₄ ICV : injection intra-cérébroventriculaire ; IP : injection intra-péritonéale ; (+) : agoniste ; (-) : antagoniste

Les 5-HT₄R exercent donc une forte action régulatrice sur les processus de plasticité synaptique dans l'hippocampe. Il est particulièrement intéressant de constater que ces effets diffèrent d'une structure à l'autre (tableau 4).

Ces observations mettent donc en évidence un profil d'action complexe dépendant de la fonctionnalité de chaque structure hippocampique et donc une régulation différentielle des différents processus de mémoire et d'apprentissage dans lesquels l'hippocampe peut être impliqué. Il est néanmoins compliqué de tirer des conclusions de ces études en raison de résultats parfois contradictoires, pourtant obtenus souvent avec les mêmes outils pharmacologiques. Il est probable que ces incohérences proviennent de différences de protocoles et doses utilisées. Par ailleurs, il ne faut pas négliger l'existence de différences inter-souches au niveau de la plasticité synaptique (Jones et al., 2001) ainsi que vis-à-vis de la sensibilité des récepteurs aux neurotransmetteurs à la manipulation pharmacologique (Manahan-Vaughan and Braunewell, 2005).

Modulation de la plasticité synaptique par les récepteurs 5-HT₄ dans d'autres structures cérébrales

Les études menées sur les effets de la modulation des 5-HT₄R sur la plasticité synaptique sont rares en dehors de l'hippocampe, cette structure faisant coïncider la pertinence de son rôle dans les processus de mémoire et une forte expression des 5-HT₄R. Néanmoins l'expression de ces récepteurs est particulièrement élevée dans le striatum et à moindre niveau dans l'amygdale, deux structures elles aussi impliquées dans le mémoire.

Deux études ont été menées dans l'amygdale par l'équipe de Huang et Kandel, une structure importante en ce qui concerne la mémoire dotée d'une charge émotionnelle. Dans le complexe baso-latéral de l'amygdale les auteurs rapportent que le blocage des 5-HT₄R bloque la LTP induite par une stimulation haute fréquence. En revanche ils démontrent que l'activation pharmacologique transitoire des 5-HT₄R entraîne une augmentation durable de la transmission synaptique qui va bloquer l'induction subséquente d'une LTP par stimulation électrique à haute fréquence. Par ailleurs cette étude rapporte que cette LTP induite pharmacologiquement, nécessite la synthèse de protéines activée par la voie PKA/MAPK ainsi qu'une réorganisation du cytosquelette mais qu'elle est en revanche indépendante des récepteurs NMDA (Huang and Kandel, 2007a). Dans l'autre étude (Huang and Kandel, 2007b), les auteurs ont étudié une LTP synapse-spécifique induite dans l'amygdale latéral suite à une stimulation basse fréquence, dépendante de la PKA et de la synthèse de protéines mais pas des récepteurs NMDA. Cette LTP est bloquée par l'antagoniste RS39604 et reproduite par l'administration de l'agoniste RS67333 en l'absence de stimulation basse fréquence.

En revanche, lorsque cette stimulation est appliquée en présence de l'agoniste, il en résulte une forte dépression durant une heure avant retour à la ligne de base. Les 5-HT₄R semblent donc exercer un rôle important dans l'établissement de la plasticité synaptique dans l'amygdale et, par la même, dans les processus mnésiques associés à la peur.

Dans le striatum, une étude récente a rapporté que le blocage de la libération de sérotonine permet l'induction d'une LTD par STDP (Cavaccini et al., 2018). Cette LTD est produite au niveau de la synapse thalamo-striatale et il semble que son blocage par la sérotonine est dû à l'activation des 5-HT₄R puisque l'utilisation d'un antagoniste de ces récepteurs (RS39604 et GR113808) reproduit les effets du blocage de libération de la sérotonine.

3. Les modulations pathologiques de la plasticité synaptique

Nous avons vu que la plasticité synaptique est une propriété fonctionnelle des réseaux neuronaux qui est très régulée dans le cerveau. Malheureusement, il existe aussi un certain nombre de conditions pathologiques qui sont à même de perturber cette régulation.

De façon intéressante, les altérations de plasticité synaptique ne sont pas uniquement observées au cours de pathologies neurologiques. En effet, au cours de pathologies d'origine périphérique comme le diabète il a été rapporté la survenue de troubles cognitifs et notamment d'ordre mnésique (Biessels et al., 1994; Greenwood and Winocur, 2005; Strachan et al., 1997). L'étude de modèles animaux de cette pathologie a permis de mettre en évidence des altérations de la plasticité synaptique : une diminution de la LTP et une facilitation de la LTD (pour revue, Artola, 2013). De même, l'hypertension artérielle est associée chez l'homme à un déclin cognitif accéléré et notamment des altérations de la mémoire (Toth et al., 2017) et, là encore des études sur des modèles animaux d'hypertension ont montré une diminution de la LTP (Tucsek et al., 2017).

C'est cependant au cours des pathologies d'origine centrale que l'on observe le plus d'altérations de la plasticité synaptique. Ainsi, un certain nombre de pathologies psychiatriques entraînent des déficits cognitifs parmi leurs symptômes, notamment dans le cas de la schizophrénie.

Cette pathologie psychiatrique, touchant 1% de la population, est caractérisée par une triade de symptômes : des symptômes dits « positifs », des symptômes « négatifs » et des symptômes cognitifs comme par exemple des pertes de mémoire ou des déficits de l'attention.

Aujourd'hui de nombreuses études pointent l'implication d'altérations de la plasticité dans ces derniers symptômes (Daskalakis et al., 2008; Van Snellenberg, 2009) potentiellement causées par un dysfonctionnement des récepteurs NMDA (Coyle, 2006; Crabtree and Gogos, 2014) affectant la LTP et la LTD (Lewis et al., 2003; Paz et al., 2008; Woo et al., 2008). Des études de rTMS chez des patients atteints de schizophrénie ont révélé des déficits au niveau des processus LTP-like dans le cortex moteur (Fitzgerald et al., 2004; Frantseva et al., 2008; Hasan et al., 2011; Strube et al., 2016), de même que des altération des processus LTD-like (Hasan et al., 2012, 2015; Strube et al., 2015). Chez l'animal, les modèles de la maladie sont très hétéroclites et il en ressort des résultats très divergents et même souvent contradictoires. Ainsi il a pu être rapporté une diminution de la LTP au niveau des synapses CA3/CA1 hippocampiques et dans l'amygdale chez un modèle basé sur l'administration subchronique de phéncyclidine (PCP), un antagoniste non compétitif des récepteurs NMDA (Pollard et al., 2012). A l'opposé, dans un modèle de souris transgénique n'exprimant pas une protéine (dystrobrevin bindin protein) dont le gène est considéré comme un locus de susceptibilité à la schizophrénie, la LTP hippocampique est augmentée (Orozco et al., 2014).

Enfin, les maladies neurodégénératives sont généralement associées à des déficits cognitifs évoluant avec le développement de la maladie pouvant en partie être dues à des anomalies de la plasticité synaptique, notamment d'origine hippocampique. Des déficits de plasticité ont ainsi été rapportés chez des modèles de la maladie de Parkinson chez lesquels la LTP est sévèrement diminuée au niveau de la région CA1 (Ferreira et al., 2017) et dans le gyrus denté (Muñoz et al., 2016) mais aussi dans le striatum (Nouhi et al., 2017). De même, la LTD est, elle aussi, altérée dans la région CA1 (Sweet et al., 2015) et le gyrus denté (Pendolino et al., 2014). Dans la maladie de Huntington, il a été rapporté l'altération de la LTP au niveau de l'hippocampe dans différents modèles animaux (Milnerwood et al., 2013; Usdin et al., 1999). En ce qui concerne la LTD elle a été vue comme étant augmentée dans la région CA1 (Milnerwood et al., 2006; Murphy et al., 2000) mais ne semble pas affectée dans le gyrus denté (Ghilan et al., 2014). De même, la possible implication d'altérations de la plasticité synaptique dans les déficits cognitifs observés dans la MA a fait l'objet de nombreuses études et sera abordée dans le chapitre suivant.

La Maladie d'Alzheimer

Aujourd'hui quand on parle de pathologie affectant la mémoire, il est impossible de passer à côté de la MA. Cette maladie aux étiologies encore largement indéterminées, est la cause majeure d'amnésie dans la population et la recherche d'un traitement efficace nécessite d'en connaître tous les rouages. Après avoir fait un survol d'ensemble des connaissances sur cette pathologie nous allons parler des traitements existants ou en développement en terminant par un focus sur les récepteurs 5-HT₄ et leur implication dans des processus liés à la MA.

I. Généralités

Les premiers travaux rapportant l'existence de la MA datent du début du 19^{ème} siècle : en 1901 un médecin allemand, Aloïs Alzheimer, décrit chez une patiente âgée de 48 ans, Mme Auguste Deter, une atteinte des fonctions cognitives regroupant des éléments aussi divers qu'une amnésie, une désorientation, des troubles de l'humeur et des difficultés de compréhension et d'expression allant jusqu'à l'aphasie. Cette symptomatologie correspondant à ce qu'on qualifiait à l'époque de démence sénile, la pathologie de Mme Deter fut qualifiée de démence pré-sénile au vu de son âge. Après son décès, le docteur Aloïs Alzheimer eut l'autorisation de pratiquer une autopsie et put mettre en évidence dans le cerveau de la défunte par observation au microscope deux types de lésions caractéristiques : des plaques séniles, ainsi que des amas anormaux de fibrilles intra-neuronales. Ces observations donnèrent lieu à un article en 1907 (traduction anglaise (Alzheimer et al., 1995)) décrivant le cas de la patiente, sans identifier la maladie. Ce ne sera qu'en 1960 que la MA sera reconnue comme une maladie à part entière par la découverte de lien entre les déficits des fonctions cognitives et la quantité de plaques et les amas de fibrilles.

1. Epidémiologie et facteurs de risque

La MA est une pathologie commune du sujet âgé : ainsi aux États-Unis près de 11% des personnes de plus de 65ans sont touchées par la maladie (Alzheimer's Association, 2016). Selon un rapport d' « Alzheimer Disease International », 46.8 millions de personnes étaient atteintes de cette maladie dans le monde en 2015 et ce nombre va aller croissant (Castellani et al., 2010). Il est intéressant de noter que l'âge d'apparition de la MA permet d'en dissocier deux formes : une dite sporadique représente environ 99% des cas et apparaît en moyenne après 65 ans, le 1% de malades restant définissent la MA d'apparition précoce, puisqu'intervenant avant 65 ans. Cette dernière forme est dite familiale car son origine serait génétique (Bekris et al., 2010).

De nombreux facteurs de risque pouvant influencer la survenue de la MA ont pu être identifiés. Certains facteurs sont inévitables, comme le vieillissement ou certaines caractéristiques génétiques ; mais un certain nombre de ces facteurs peuvent être évités et il est important de les identifier pour pouvoir réduire la prévalence de la maladie.

Facteurs de risque inévitables

Le premier facteur de risque est l'âge des patients, une étude récente a démontré une forte association entre l'âge et l'apparition de la maladie (Hebert et al., 2010). La génétique est aussi un facteur de risque à prendre en compte. Les patients atteints de la forme familiale de la MA présentent des mutations des gènes de l'APP (précurseur de la protéine amyloïde), de la préséniline 1 et/ou de la préséniline 2 (deux enzymes faisant partie du complexe de la γ -sécrétase qui intervient dans le clivage de l'APP). Hors forme familiale de la MA, d'autres gènes sont également des facteurs de risque et l'un des principaux est le gène de l'ApoE (apolipoprotéine E), protéine de métabolisme des lipides. L'isoforme ApoE- ϵ 4 de cette protéine accroît le risque de développer la MA (Diedrich et al., 1991). Enfin, le sexe est le troisième facteur de risque de survenue de la MA. Il est en effet établi que les femmes ont plus de risque de développer la MA que les hommes (Gao et al., 1998).

Facteurs de risques évitables

De nombreuses études suggèrent que la santé de notre cerveau est intimement liée à celle de notre système cardiovasculaire (pour revue Moroni et al., 2018). Ainsi, la survenue de maladies cardiovasculaires a été démontrée comme étant un facteur de risque important de la MA (Jefferson et al., 2015). De même, l'obésité (Anstey et al., 2011), l'hypertension artérielle (Debette et al., 2011), l'hypercholestérolémie (Meng et al., 2014) ou le fait de fumer (Rusanen et al., 2011; Zhong et al., 2015) sont des facteurs de risque pour des pathologies cardiovasculaires et aussi pour la MA.

A l'inverse, des facteurs protecteurs des pathologies cardiovasculaires, comme l'activité sportive (Willis et al., 2012) ou une régime pauvre en graisse saturée (Lourida et al., 2013) sont aussi associés à une diminution du risque de développer la MA. De manière générale, une mauvaise hygiène de vie est donc un facteur de risque pour la MA.

La consommation de certains médicaments semble être corrélée à un risque plus élevé de développer la MA. : une étude française récente a rapporté une surexposition chronique des patients atteints de démences aux antipsychotiques et psychotropes (Breining et al., 2016).

Une étude suédoise a aussi rapporté la même année des résultats similaires, précisant un détail intéressant : les patients atteints de MA reçoivent souvent une prescription de benzodiazépines dans l'année précédant leur diagnostic (Tolppanen et al., 2016). De nombreuses études rapportent une incidence accrue de la MA chez les consommateurs de benzodiazépines (Billioti de Gage et al., 2014; Tapiainen et al., 2018; Wu et al., 2009).

Enfin, le niveau d'éducation semble jouer un rôle dans la possibilité d'apparition de la MA, en effet certaines études rapportent un risque plus élevé de survenue de la maladie chez les personnes ayant fait moins d'études universitaires que chez les plus diplômés (Kukull et al., 2002; Sando et al., 2008). Il est supposé qu'un niveau d'éducation plus élevé contribue à mettre en place une « réserve cognitive » permettant de mieux compenser les changements cérébraux menant à la MA (Roe et al., 2007; Stern, 2012).

2. Symptomatologie de la maladie d'Alzheimer

L'apparition des symptômes se fait très progressivement au cours de l'évolution de la MA. Sur la base de cette progression il a été défini trois stades de la pathologie : les stades léger, modéré et sévère. La vitesse à laquelle les patients passent d'un stade à un autre est très variable d'un individu à un autre. Aux stades les plus avancés, les patients ne peuvent plus réaliser les tâches les plus basiques de la vie courante et nécessitent une aide constante.

Il existe un stade préclinique de la MA (Sperling et al., 2011), où les individus présentent certaines modifications physiologiques, comme une composition altérée du liquide céphalorachidien, ainsi que des signes cliniques très modérés ne gênant pas l'accomplissement des tâches quotidiennes. Ce stade est appelé « Mild Cognitive Impairment » (MCI) et on estime à près de 15% la part de personnes âgées de plus de 65 ans atteintes de MCI (Roberts and Knopman, 2013). On ne peut faire la différence entre le MCI et un déclin cognitif du au vieillissement normal qu'au moyen de tests neuropsychologiques très élaborés.

En revanche on peut commencer à détecter l'apparition de certains biomarqueurs de la pathologie (Edmonds et al., 2015).

Une étude récente indique une probabilité de 32% de développer la MA chez les individus atteints de MCI (Ward et al., 2013), cette probabilité est cependant augmentée en cas de MCI associé à des déficits de mémoire (Mitchell and Shiri-Feshki, 2009). Le stade MCI est caractérisé par une atteinte des fonctions exécutives comme l'attention, la flexibilité ou encore l'inhibition, et parfois même de la mémoire épisodique (Belleville et al., 2014).

La symptomatologie de la MA est donc représentée par l'évolution progressive des symptômes manifestés durant le stade MCI (*figure 31*).

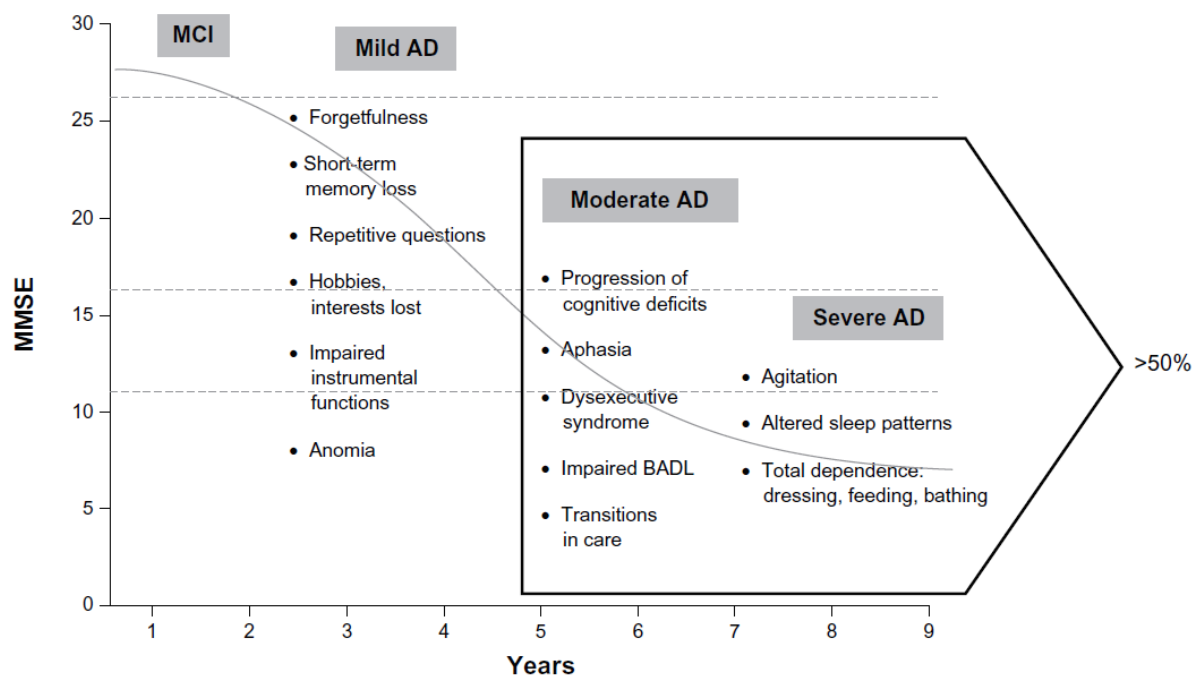


Figure 31: évolution des symptômes au cours des différents stades de la maladie d'Alzheimer (d'après ferris et Farlow, 2013)

La mémoire épisodique est la première forme de mémoire affectée. Elle va se dégrader rapidement avec la survenue d'une amnésie antérograde. Avec l'évolution de la maladie, la mémoire à court terme et la mémoire de travail seront affectées à leur tour (Stopford et al., 2012). Très vite on observe des difficultés d'orientation reflétant des troubles de la mémoire spatiale, ces troubles n'apparaissant que chez environ 50% des sujets MCI et 80% des sujets atteints de la MA, alors que l'ensemble de ces patients présentaient des compétences de reconnaissance de lieux familiers similaires à celle des sujets sains (deIpolyi et al., 2007).

Par ailleurs, la mémoire spatiale nécessite l'emploi de stratégies d'orientation dans l'espace. L'existence de deux stratégies différentes a été démontrée : l'une, dite allocentrique, est liée à l'utilisation de repères extérieurs et de leur rapport avec l'environnement (elle est donc dépendante du contexte et donc de l'hippocampe) et l'autre est dite égocentrique et utilise les repères extérieurs par rapport au soi. Une méta-analyse a rapporté que la stratégie allocentrique est plus altérée que la stratégie égocentrique par la MA, et ce, dès les stades précoces de la MA. De même il semble que la possibilité pour un patient de passer d'une stratégie à l'autre soit altérée très précocement dans la MA (Serino et al., 2014).

Par ailleurs, la mise en place de différents processus cognitifs est souvent le fruit de la coopération de différentes fonctions et donc rarement isolée. De ce fait, l'atteinte d'une fonction cognitive peut en impacter une autre. L'apprentissage, par exemple, peut nécessiter un recours à la mémoire à court terme, qui permet d'emmagasiner les informations le temps de les utiliser, mais va aussi nécessiter la mise en jeu de processus attentionnels. Par ces notions d'interrelations et de complémentarité entre différentes fonctions cognitives, l'atteinte de l'attention et de la mémoire de travail chez les sujets atteints de la MA, peut impacter l'apprentissage et expliquerait en partie ses déficits observés dans cette pathologie (Germano and Kinsella, 2005).

De même, les fonctions exécutives montrent une hétérogénéité d'évolution au cours de la MA. Par exemple, la flexibilité, l'attention et le raisonnement font partie des fonctions déjà atteintes au stade MCI, alors que le langage ne va présenter des troubles qu'aux stades avancés de la MA (Allain et al., 2013; Ferris and Farlow, 2013). De même aux stades avancés peuvent apparaître une apraxie (trouble dans la réalisation des gestes) et une agnosie (trouble de la reconnaissance visuelle, auditive ou olfactive sans atteinte sensorielle) (Avet, 2008).

En plus des troubles de la mémoire et des fonctions exécutives caractéristiques de la MA, les patients atteints de cette pathologie présentent un éventail de troubles neuropsychiatriques variés avec en particulier une atteinte de l'humeur. En effet, des troubles tels que la dépression, l'anxiété, l'irritabilité ou l'agitation sont décrits chez 90% des patients atteints de démence dans les 5 ans qui suivent le diagnostic et contribuent parfois au diagnostic (Hildreth and Church, 2015; Suárez-González et al., 2016). La description de ces comorbidités a d'ailleurs défini la dépression comme facteur de risque pour le développement de la MA, et certains auteurs pensent que cette pathologie serait un état prodromique de la MA (Garcez et al., 2015).

D'autres comorbidités peuvent également se manifester au cours de la MA, comme les troubles du sommeil, qui augmentent le risque de la survenue de la pathologie et peuvent contribuer à accélérer la vitesse du déclin cognitif (Lim et al., 2014).

3. Physiopathologie de la maladie d'Alzheimer

La MA est caractérisée par deux marqueurs histologiques majeurs : les plaques séniles amyloïdes, au niveau extracellulaire et la protéine tau hyperphosphorylée dans les neurofibrilles, au niveau intracellulaire.

Par ailleurs on retrouve un certain nombre d'autres altérations dans la MA, notamment une inflammation chronique ou encore une baisse du métabolisme cérébral (Masters et al., 2015).

L'environnement cérébral dans la maladie d'Alzheimer

Le cerveau consomme normalement près de 25% du glucose de l'organisme (Sokoloff, 1999) et chez les patients atteints de MA ce taux est diminué d'un quart. De façon intéressante cet hypométabolisme du glucose est corrélé en intensité et au niveau topographique avec la sévérité des déficits observés chez les patients atteints de la MA (Mosconi, 2005). Ce défaut de métabolisme est expliqué par un dysfonctionnement du métabolisme cellulaire du glucose au niveau mitochondrial et extra mitochondrial. En effet, une régulation négative des enzymes de glycolyse ou celles du cycle respiratoire mitochondrial a été rapportée (Ferreira et al., 2010). On peut supposer qu'une baisse de l'activité des mitochondries, très présentes au niveau synaptique, pourrait participer au dysfonctionnement rapporté dans ces structures.

Au cours de la respiration mitochondriale, des espèces réactives de l'oxygène sont produites. Dans des conditions normales, elles sont éliminées par des mécanismes antioxydants. Cependant, au cours de la MA, l'équilibre entre les mécanismes oxydants et antioxydants est perturbé et il en découle un stress oxydant (Clark et al., 2010). En effet, il a été rapporté une baisse des mécanismes antioxydants chez les patients atteints de la MA (Kim et al., 2006b). Les molécules oxydantes vont donc s'accumuler et provoquer des dégâts au niveau de la membrane (peroxydation des lipides), de l'ADN nucléaire et mitochondrial des neurones et vont oxyder les protéines de la glycolyse ce qui va entraîner au final un déficit de la production d'ATP et perturber le bon fonctionnement cellulaire (Tramutola et al., 2017).

Enfin, on retrouve aussi une composante inflammatoire dans la MA. En effet, il a été rapporté que la prise d'anti-inflammatoires non stéroïdiens au long cours diminue le risque d'apparition de la MA (Thomas et al., 2015). Cette neuroinflammation est la résultante d'une hyperactivation astrocytaire et gliale au niveau des plaques amyloïdes (Heppner et al., 2015).

Le métabolisme du peptide amyloïde

Comme évoqué précédemment la MA est caractérisée par la présence au niveau extracellulaire de plaques séniles dans le tissu cérébral. Ces plaques, aussi appelées plaques amyloïdes, sont constituées de l'accumulation d'un peptide appelé peptide amyloïde β (A β).

Le peptide précurseur de la β amyloïde (APP pour amyloïd precursor protein), dont la structure a été décrite en 1987 (Kang et al., 1987), est une protéine membranaire. Il est présent au niveau de la membrane du réticulum endoplasmique (Schreiner et al., 2015), où il est clivé par la β -sécrétase (Vassar et al., 1999). Il est aussi présent sur la membrane cellulaire où il est clivé par l' α -sécrétase (Lammich et al., 1999). Qu'il soit clivé par l' α ou la β -sécrétase, le peptide sera ensuite clivé par un complexe multi-protéique comprenant la préséniline, la nicastrine, Aph-1 et Pen-2 qui forment la γ -sécrétase (Claeysen et al., 2012; De Strooper, 2003) ce qui produira les peptides finaux (*figure 32*).

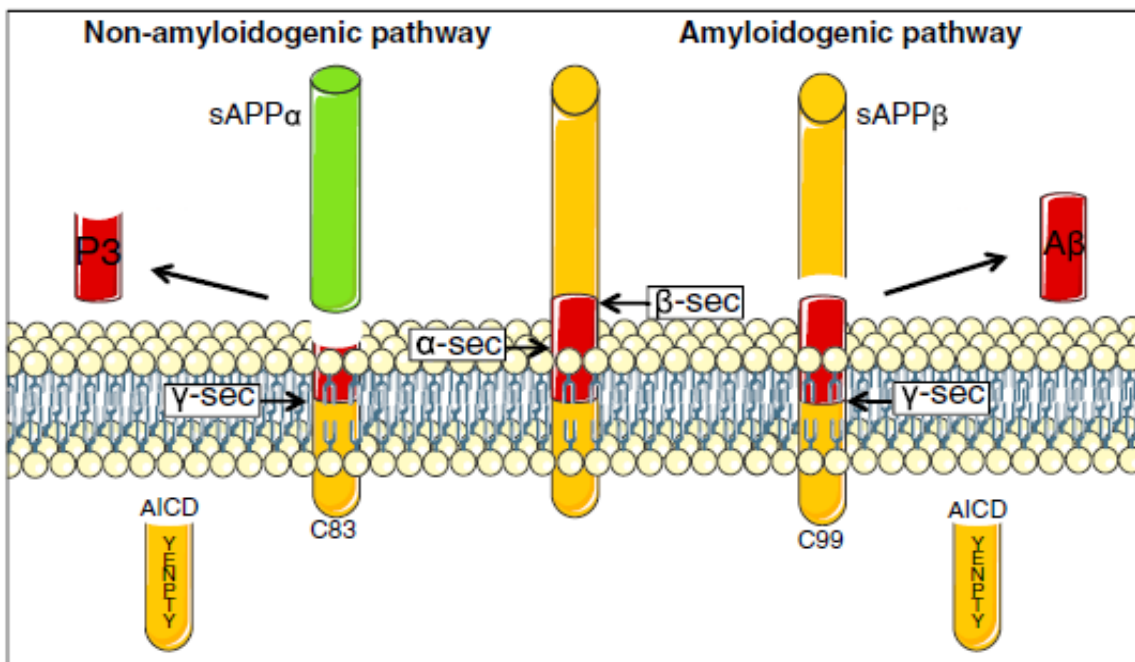


Figure 32: représentation schématique du clivage de l'APP (d'après Claeysen et al, 2012)

Dans la voie amyloïde, la β -sécrétase clive l'APP et forme le sAPP β et le peptide c-terminal C99 qui sera ensuite clivé par la γ -sécrétase donnant l'A β et l'AICD (APP intracellular domain). Dans la voie non-amyloïde, l' α -sécrétase donne le sAPP α et C83 qui sera clivé en le peptide P3 et AICD par la γ -sécrétase.

Par ailleurs, il existe une voie accessoire de clivage de l'APP : sous l'action de la δ -sécrétase (ou asparagine endopeptidase), l'APP va former un peptide qui constitue un meilleur substrat pour la BACE, promouvant ainsi le processus amyloïdogénique. Il a été rapporté que l'activité de la δ -sécrétase est plus élevée chez les patients atteints de la MA que chez les sujets sains (Zhang et al., 2015, 2016).

Le produit principal du clivage de l'APP par l' α -sécrétase est le sAPP α (soluble amyloid precursor protein). Ce peptide soluble exerce une activité neuroprotectrice et pro-mnésiante (Corrigan et al., 2012; Obregon et al., 2012). Le produit principal du clivage par la β -sécrétase est le peptide A β . Il est normalement présent en faible quantité (concentration de l'ordre du picomolaire) et exerce lui aussi une activité bénéfique (*figure 33*) pour le fonctionnement synaptique (Morley and Farr, 2012, 2014).

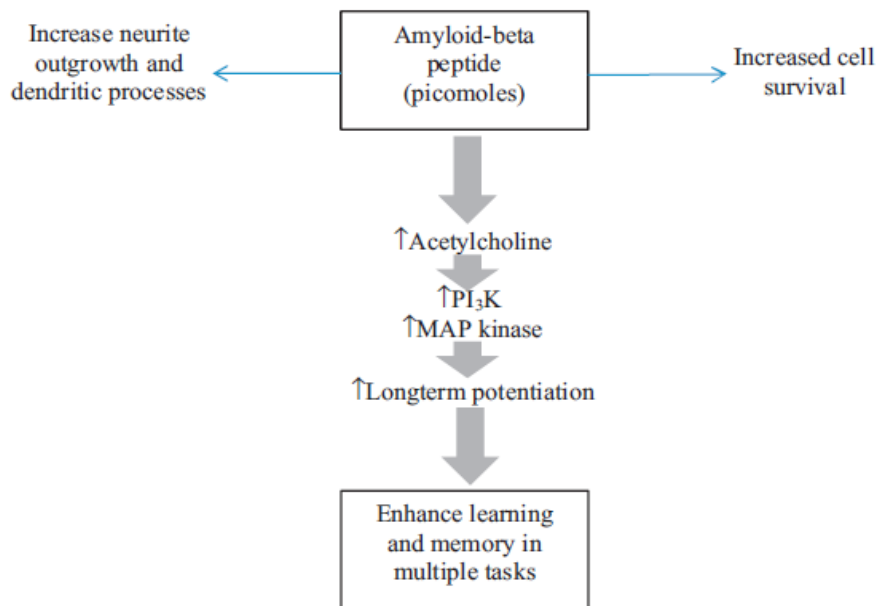


Figure 33: effets bénéfiques pour la mémoire du peptide A β à faible dose (d'après Morley et farr, 2014)

Une corrélation entre la physiopathologie de la MA et l'expression de l'APP n'a pu être démontrée. En effet, le taux d'expression de l'APP est le même dans le cerveau des malades et dans celui de sujets sains. De même, l'expression de l'APP est similaire dans des régions cérébrales présentant une modification physiopathologique liée à la présence de plaques amyloïdes comme le cortex frontal ou l'hippocampe, et des régions ne présentant pas de telles modifications comme le striatum (Goedert, 1987; Higgins et al., 1988).

En revanche, il a été démontré que les mutations du gène de l'APP au niveau des sites de clivage vont favoriser la production d'une forme plus toxique du peptide A β conduisant à une augmentation du rapport A β 42/A β 40 (De Jonghe et al., 2001). En effet les peptides A β sont différents par leur taille ; ils sont majoritairement représentés par les peptides A β 1-40 et A β 1-42 qui contiennent respectivement 40 et 42 acides aminés. Or, l'A β 1-42 est très insoluble avec un fort pouvoir d'agrégation et de neurotoxicité (Duyckaerts et al., 2009).

Par ailleurs, les mutations des gènes codant pour les présénilines 1 et 2 augmentent aussi le rapport A β 42/A β 40. Ainsi on retrouve plus de fragment A β 1-42 que de fragments A β 1-40 au niveau des plaques amyloïdes présentes chez les patients atteints de la MA ou dans les modèles animaux (Jarrett et al., 1993; Klein et al., 1999).

Le peptide A β va s'accumuler au cours de la MA, notamment en raison d'une diminution de son élimination (Gosselet et al., 2011; Mawuenyega et al., 2010), dont il est lui-même en partie responsable en régulant négativement la P-glycoprotéine, un transporteur impliquée dans son élimination (Park et al., 2014). Cette accumulation va provoquer un changement de conformation des peptides A β . En effet, les peptides amyloïdes sont synthétisés sous leur forme native en « hélice α » et vont changer de conformation pour former des « feuillets β ». Ce sont ces feuillets qui sont responsables du pouvoir pathogène amyloïde. Les feuillets β s'associent ensuite entre eux pour former des oligomères, qui forment à leur tour des protofibrilles, puis ces protofibrilles s'agrègent pour donner lieu à des fibrilles amyloïdes et constituent les plaques amyloïdes (Huang et al., 2013).

La toxicité du peptide A β (*figure 34*) passe notamment par l'induction d'une apoptose neuronale (Yankner et al., 1989; Zheng et al., 2016) qui serait le fait de dysfonctionnement mitochondriaux (Li et al., 2013) menant à un déséquilibre entre protéine apoptotiques et anti-apoptotiques (Tan and Kim, 2016). L'A β participe par ailleurs à l'établissement du stress oxydant observé dans la MA : il réduit les réserves anti-oxydantes de l'organisme comme le glutathion (Müller et al., 1997) et augmente le niveau de glutathion sous forme oxydée au niveau cellulaire (Xing et al., 2015). Il joue aussi sur l'inflammation des tissus cérébraux par la voie du Nuclear Factor-Kappa B (Park et al., 2014), et en augmentant l'expression de la cyclooxygénase 2 (COX2) et de cytokines inflammatoires (IL : interleukines 1 et 6) et le tumor necrosis factor (TNF α) (Raha et al., 2016).

De plus, on sait que l'A β est impliqué dans la survenue du déficit synaptique apparaissant au cours de la MA. En effet, les taux de certaines protéines synaptiques sont diminués chez les patients atteints de la MA, un déficit également retrouvé dans des modèles animaux de la pathologie (Patel et al., 2014). En accord avec ces observations, certaines études rapportent que les effets toxiques des oligomères A β sur culture cellulaire s'exercent au niveau des axones terminaux et non au niveau des corps cellulaires, ce qui peut expliquer l'apparition de déficits synaptiques avant la perte neuronale (Buskila et al., 2013; Parikh et al., 2014).

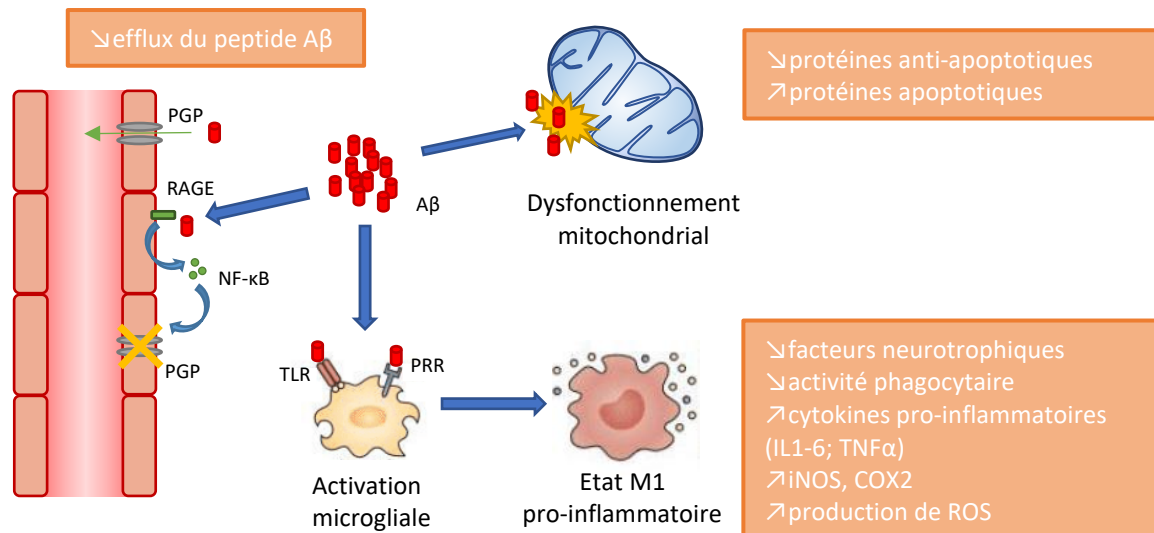


Figure 34 : effets toxiques du peptide amyloïde-β

PGP : p-glycoprotéine ; RAGE : récepteur des produits de glycation avancé ; TLR : récepteur toll-like ; PRR : récepteur de reconnaissance des motifs moléculaires ; ROS : espèces réactives de l'oxygène ; iNOS : nitric oxyde synthase inducible

L'hyperphosphorylation de la protéine Tau

La présence de neurofibrilles est le second marqueur de la MA décrit par Alzheimer en 1907. Ces éléments résultent de l'accumulation intra-neuronale de protéines tau et vont conduire à ce qu'on appelle la dégénérescence neurofibrillaire (DNF).

La protéine tau est une « microtubule associated protein » (MAP), elle est située majoritairement au niveau des axones et, à plus faible mesure, dans les dendrites et les corps cellulaires des neurones. Cette protéine est responsable de l'assemblage et de la stabilité des microtubules et va participer au développement des neurones et à la synaptogénèse. En conditions normales la protéine tau est soluble et son niveau de phosphorylation va réguler son activité : ainsi un faible niveau de phosphorylation va augmenter la polymérisation des microtubules. Au cours de la MA, la protéine tau va être hyperphosphorylée à cause d'un déséquilibre entre les kinases et les phosphatases.

En effet une suractivation de protéines kinases (dont la Gsk3kinase) et une diminution de l'activité des phosphatases ont été rapportées (Duyckaerts et al., 2009). Cette hyperphosphorylation est notamment induite par le peptide Aβ (Deng et al., 2015) et va aboutir à la séparation des protéines tau et des microtubules entraînant une déstabilisation de ceux-ci. L'augmentation de la concentration de la protéine tau libre favorise son repliement sur elle-même et son auto-agrégation pour former les fameuses neurofibrilles (figure 35) (Hasegawa, 2016; Šimić et al., 2016).

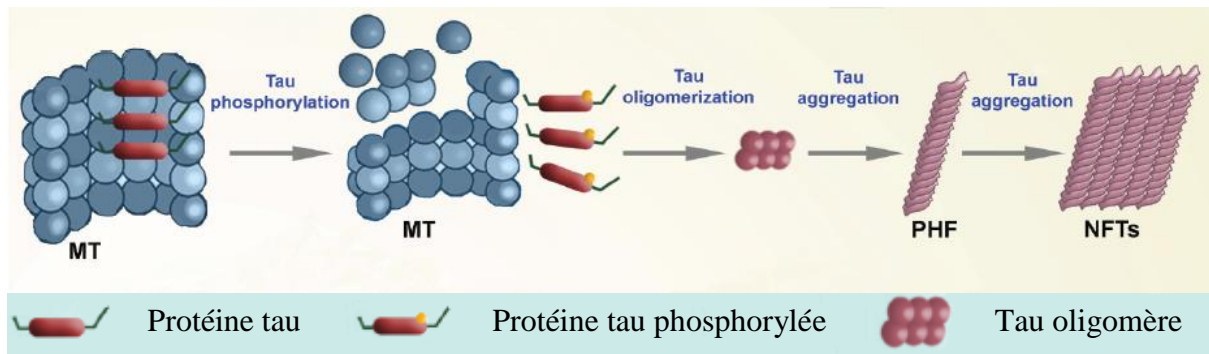


Figure 35: mécanisme de formation des neurofibrilles de protéine tau (adapté de Šimić et al., 2016)
 MT : microtubules, PHF : paires de filaments hélicoïdaux, NFT : neurofibrilles de protéine tau

La perte de la fonction stabilisatrice du cytosquelette de la protéine tau, aboutit à la perturbation du cytosquelette et du transport axonal, au dysfonctionnement synaptique et ultimement à la neurodégénérescence. Les agrégats de neurofibrilles constituées de protéine tau hyperphosphorylée seraient une des manifestations tardives de la maladie et contribueraient à l'aggraver par la simple interaction physique avec d'autres fonctions cellulaires. Plus d'une cinquantaine de mutations de la protéine tau existent et elles entraînent toutes une perturbation de sa fonction et la promotion de la formation de neurofibrilles. Ces mutations impliquent ainsi la protéine tau dans différentes maladies neurodégénératives en plus de la MA (Arendt et al., 2016).

La place exacte de l'hyperphosphorylation de la protéine tau dans la physiopathologie de la MA demeure encore incomprise. Grâce à l'étude de modèles animaux et cellulaires, on sait cependant que la protéine tau agit en synergie avec le peptide A β , chacun favorisant les effets de l'autre, voire même son apparition. Ainsi l'hyperphosphorylation de la protéine tau aggrave la pathologie amyloïde et induit une diminution du taux du peptide sAPP α aux propriétés neuroprotectrices (Bright et al., 2015). De même, des souris transgéniques modèles de pathologie amyloïdogène et exprimant également le gène de la protéine tau humaine (souris 5xFAD \times Tg30) développent des neurofibrilles de manière beaucoup plus prononcée que des souris exprimant seulement le transgène de la protéine tau (souris Tg30) (Héraud et al., 2014).

Il est intéressant de constater qu'au contraire de la progression des plaques amyloïdes qui présentent d'importantes variations interindividuelles, la progression des dégénérescences neurofibrillaires est relativement homogène d'un patient à l'autre. Elles sont d'abord observées au niveau du cortex trans-entorhinal situé dans le lobe temporal puis elles envahissent progressivement le cortex entorhinal et l'hippocampe avant de toucher le néocortex (Braak and Braak, 1991; Braak et al., 2006). Cette progression (*figure 36*, Masters et al., 2015) correspond bien à l'ordre d'apparition des symptômes de la maladie tels que les troubles de la mémoire (atteinte de l'hippocampe), puis les troubles aphaso-apraxo-agnosiques (atteintes des aires multimodales associatives).

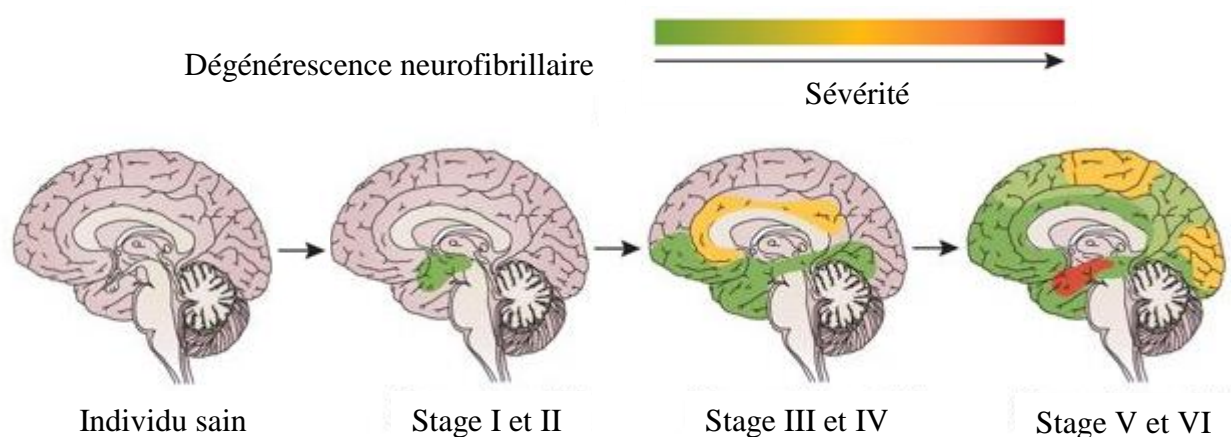


Figure 36: progression des dégénérescences neurofibrillaires au cours de la maladie d'Alzheimer (d'après Masters et al, 2015 et Braak et Braak, 1991)

Altérations de la plasticité synaptique dans la maladie d'Alzheimer et dans ses modèles expérimentaux

La dérégulation de l'excitabilité a été rapportée comme jouant un rôle dans la pathogénèse de la maladie et une hyperactivité de l'hippocampe a été observée chez des patients atteints de déficits cognitifs modérés (mild cognitive impairments, MCI), un des stades précoces de la MA (Dickerson et al., 2005). De nombreuses études se sont donc penchées sur une modification éventuelle de plasticité synaptique hippocampique dans cette pathologie.

Des preuves directes d'une dysfonction de la plasticité dans la MA ont pu être obtenues par stimulation magnétique trans-crânienne répétée (rTMS), dans des études menées sur le cortex moteur : il a été observé que les réponses motrices évoquées diminuaient progressivement chez des patients alors qu'elles augmentent chez les sujets sains, dénotant une plasticité LTP-like altérée au cours de la MA (Battaglia et al., 2007; Inghilleri et al., 2006).

Une autre étude menée en rTMS a démontré l'existence d'une altération de la plasticité LTP-like chez des patients atteints de la MA sans démontrer d'altération de la plasticité LTD-like (Koch et al., 2012). En revanche une autre étude a démontré la survenue de déficits suite à un protocole de stimulation supposé entraîner une plasticité LTD-like (Freitas et al., 2011).

Dans les modèles animaux de la MA, notamment ceux reposant sur l'injection de peptide A β , de nombreuses études ont démontré une diminution de la LTP (Hartley et al., 1999; Shankar et al., 2008) ainsi qu'une augmentation de la LTD associée à une diminution de la densité d'épines dendritiques dans l'hippocampe.

Il est cependant important de noter que les effets de l'A β sont concentration-dépendants car à faible concentration (pM) ce peptide exerce un effet bénéfique sur la LTP (Puzzo et al., 2008, 2011). De façon intéressante, l'administration de concentration sub-toxiques d'oligomères A β et Tau (un autre marqueur de la maladie dont l'accumulation est toxique) entraîne des altérations de la LTP et de la mémoire (Fá et al., 2016).

Les modèles transgéniques de la MA donnent des résultats moins homogènes et parfois contradictoires : certaines études rapportent une baisse de la LTP (Saganich et al., 2006; Trinchese et al., 2004) chez la souris APP/PS1 alors que d'autres n'observent pas d'altérations chez le même modèle de souris transgénique (Fitzjohn et al., 2010; Gureviciene et al., 2004). De même, en ce qui concerne la LTD certaines études indiquent un déficit d'induction (Kuwabara et al., 2014; Song et al., 2014; Temido-Ferreira et al., 2018) alors que d'autres ne rapportent pas de déficit de LTD (Li et al., 2017). Dans un autre modèle transgénique de la MA, la souris 5xFAD, il a été démontré une altération de la LTP dans la région CA1 de l'hippocampe (Crouzin et al., 2013; Hwang et al., 2017; Kimura and Ohno, 2009), dans le gyrus denté (Wu et al., 2014) et le cortex somatosensoriel (Crouzin et al., 2013). En revanche aucune étude à notre connaissance ne s'est intéressée à la LTD chez les souris 5xFAD.

Dysfonctionnements des systèmes de neurotransmission

Dès les années 1970, il a été mis en évidence de sévères déficits du système cholinergique chez les patients atteints de la forme précoce de la MA (Davies and Maloney, 1976; Perry et al., 1977). La corrélation entre le stades clinique de démence et la diminution des marqueurs cholinergiques, comme la choline acétyltransférase ou la densité de récepteurs cholinergiques, ainsi que du niveau d'acétylcholine (Bierer et al., 1995; Gsell et al., 2004; Nordberg, 1992) a mené à l'hypothèse cholinergique de la MA (Bartus, 2000; Bartus et al., 1982).

Des études menées par la suite ont pu déterminer qu'un dysfonctionnement cholinergique est observé aux stades MCI et léger de la MA avant une perte progressive de neurones cholinergiques avec l'évolution vers les stades plus avancés de la MA (Auld et al., 2002; Mufson et al., 2007; Picciotto and Zoli, 2002). Aujourd'hui, cette hypothèse cholinergique de la MA est remise en cause car il apparaît difficile de savoir si les dysfonctionnements du système cholinergique sont la cause de l'accumulation de peptide A β et de l'hyperphosphorylation de la protéine tau ou si ce sont ces derniers phénomènes qui entraînent la dégénération du système cholinergique (Tata et al., 2014).

Une altération du système glutamatergique a, elle aussi été rapportée. En effet, des études *post mortem* sur des cerveaux de patients atteints de la MA indiquent d'importantes diminutions d'ARNm codants pour des sous-unités des récepteurs NMDA et des protéines correspondantes dans des régions comme l'hippocampe (Bi and Sze, 2002; Hynd et al., 2004; Jacob et al., 2007; Mishizen-Eberz et al., 2004). Des études précliniques démontrent que les niveaux pathologiques de peptide A β mènent à une augmentation de la concentration de glutamate dans la fente synaptique par blocage de la recapture (Li et al., 2009). Il en résulte une désensibilisation des récepteurs NMDA synaptiques et une activation des récepteurs NMDA extra-synaptiques (Talantova et al., 2013). L'activation tonique des récepteurs NMDA qui en résulte peut à terme entraîner la mort neuronale par un phénomène appelé excitotoxicité (pour revue, Esposito et al., 2013). Il a également été montré qu'une activation tonique des récepteurs NMDA extra-synaptiques par le peptide A β (à des niveaux similaires à ceux observés dans le cerveau de patients atteints de MA) entraîne des déficits de plasticité synaptique à long terme (Li et al., 2011a).

De même, l'atteinte d'autres systèmes de neurotransmissions a été rapportée dans la MA. Ainsi, il a été rapporté une diminution de la densité des récepteurs D₂ dans le striatum au cours de la MA chez des patients présentant des troubles du comportement comme une agitation ou une agressivité (Tanaka et al., 2003). De façon intéressante, il a été démontré que le traitement d'un modèle de souris transgénique de la MA par la L-DOPA, un précurseur de la dopamine, diminue chez ce modèle des altérations comportementales se rapprochant de celles observées chez les patients atteints de la MA (Ambrée et al., 2009). De plus ce traitement rétablit les déficits de mémoire observés chez ces animaux.

Le système noradrénergique est lui aussi perturbé au cours de la MA (Storga et al., 1996). Dans cette étude les études rapportent une diminution des niveaux de noradrénaline et une augmentation de la concentration de leur précurseur la tyrosine dans le cerveau de patients atteints de la MA. En accord avec cette observation, des études d'imageries ont par la suite démontré une importante perte neuronale dans le locus coeruleus au cours de la MA (Matthews et al., 2002; Szot et al., 2006) et une étude longitudinale a permis de mettre en corrélation cette perte neuronale avec un déclin cognitif (Wilson et al., 2013). De plus, des approches lésionnelles dans des modèles animaux de la MA ont montré une aggravation de l'inflammation et du dépôt de plaques amyloïdes chez des souris APP23 (Heneka et al., 2006) et des troubles de la mémoire olfactive chez des souris APP/PS1 (Rey et al., 2012).

Enfin, en ce qui concerne le système sérotoninergique, une diminution de marqueurs de l'activité sérotoninergique comme le SERT au cours de la MA a été décrite (Smith et al., 2017). De façon intéressante, cette diminution du SERT chez les patients MCI par rapport aux individus sains est particulièrement marquée dans le cortex et le système limbique. Elle est de plus corrélée à de déficits cognitifs et mnésiques. Cette étude donne la preuve d'une diminution de l'activité sérotoninergique pré-synaptique, indiquant que les récepteurs post-synaptiques sont peut-être préservés. En accord avec cette observation, une étude a démontré une corrélation inverse entre la durée de traitement par ISRS (qui permettent d'augmenter les niveaux synaptiques de la sérotonine) et les niveaux d'A β dans les cerveaux de patients atteints de la MA (Cirrito et al., 2011). La même équipe a par la suite testé l'effet d'un traitement par ISRS sur les taux d'A β circulants dans le liquide céphalorachidien de volontaires sains et a rapporté une diminution de ce paramètre suite à l'expérimentation (Sheline et al., 2014). Des tests effectués sur des souris APP/PS1 avec du citalopram ont permis de montrer un arrêt de la croissance des plaques amyloïdes et une diminution de l'apparition de nouvelles plaques (Sheline et al., 2014) ainsi qu'une diminution de la concentration du peptide A β dans le liquide extracellulaire cérébral chez ces souris (Cirrito et al., 2011).

Comme nous l'avons vu, la physiopathologie de la MA est complexe et nous sommes encore loin d'en comprendre l'ensemble. Il reste notamment beaucoup de travail à effectuer pour déterminer les éléments qui ont une implication directe dans le développement de la pathologie et ceux dont la présence en est une conséquence. On comprend donc que la découverte de traitements efficaces soit une démarche compliquée et porte peu de fruits.

II. Traitements pharmacologiques de la maladie d'Alzheimer

La MA est un problème majeur de santé publique. En effet, cette pathologie engendre des coûts considérables pour les collectivités de par la forte dépendance qui lui est associée, que les patients soient placés dans des établissements spécialisés ou pris en charge à domicile. A l'heure actuelle, peu de traitements existent et leur efficacité reste limitée.

1. Traitements actuels

Les traitements disponibles sur le marché se concentrent sur le rétablissement du fonctionnement normal des systèmes cholinergiques et glutamatergiques.

Les inhibiteurs de l'acétylcholinestérase

Le mécanisme d'action de ces molécules, basé sur l'observation d'une diminution de la transmission cholinergique au cours de la MA, vise à rétablir une concentration normale d'acétylcholine dans la fente synaptique en bloquant son élimination par l'acétylcholinestérase. Il existe aujourd'hui trois médicaments de cette classe commercialisés en France; ils sont indiqués dans les stades léger à modéré de la MA.

Le donepezil est commercialisé sous le nom d'ARICEPT®. Cette molécule a une action parasympathomimétique indirecte en inhibant de façon réversible et sélective l'acétylcholinestérase.

La rivastigmine est commercialisée sous le nom d'EXELON®. Cette molécule est un peu moins spécifique, car elle va inhiber l'acétylcholinestérase et la butyrylcholinestérase de façon pseudo-irréversible.

Et enfin, on peut citer la galantamine, commercialisée sous le nom de REMINYL®. Contrairement aux deux précédents, la galantamine va associer à une activité inhibitrice sélectif et réversible de l'acétylcholinestérase, un effet de modulateur allostérique des récepteurs nicotiques qui va favoriser la libération pré-synaptique d'acétylcholine (*figure 37*, (Farlow, 2003).

Ces molécules partagent des effets secondaires dont les principaux sont de nature gastro-intestinale (nausées et diarrhées) et une asthénie.

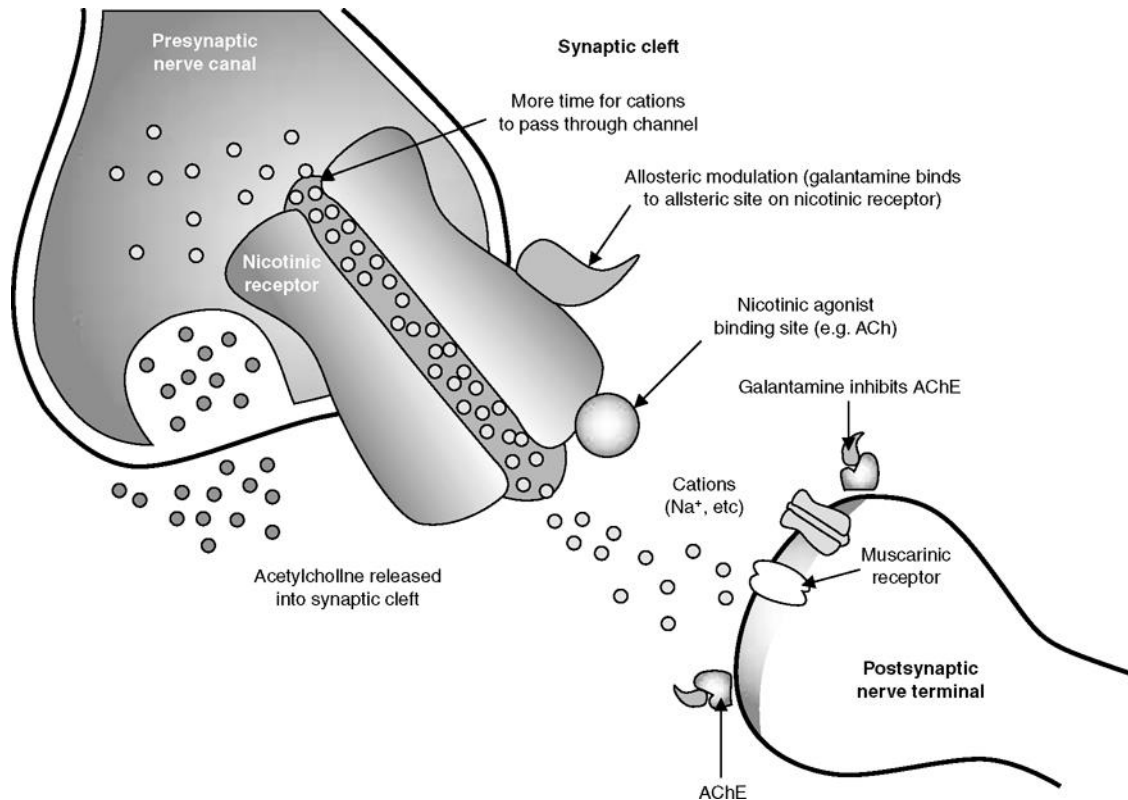


Figure 37: mécanisme d'action double de la galantamine
 ACh : acétylcholine, AChE : acétylcholinestérase

Les antagonistes des récepteurs NMDA

Cette classe médicamenteuse vise à s'opposer à la toxicité liée à une suractivation des récepteurs NMDA observée dans la MA. Il n'existe aujourd'hui qu'un seul représentant de cette classe : la mémantine. Elle est commercialisée sous le nom d'EBIXA[®] et c'est un antagoniste compétitif des récepteurs NMDA qui est indiqué pour le traitement des formes modérées à sévères de la MA. Les principaux effets secondaires regroupent asthénie, vertiges, céphalées, confusion et hallucinations.

Les médicaments de ces deux classes n'exercent malheureusement que des effets symptomatiques et ne permettent donc que de retarder l'évolution des troubles cognitifs et psycho-comportementaux associés à la MA (Nourhashémi, 2006). Leur manque d'efficacité a toujours fait débat et après des années de controverse il a été décidé de procéder à l'arrêt de leur remboursement au 1^{er} Août 2018 (Haute Autorité de Santé, 2016). Ainsi la recherche de nouveaux traitements de la MA est plus que jamais une nécessité.

2. Approches de traitement en développement

Les axes de recherche pour la découverte d'un traitement efficace de la MA s'inspirent de 5 grandes caractéristiques physiopathologiques de cette pathologie : l'excitotoxicité glutamatergique, la déficience cholinergique, l'accumulation extracellulaire de peptide A β , la formation de dégénérescences neurofibrillaires de protéine tau intracellulaires et la neuroinflammation (*figure 38*) (Hung and Fu, 2017).

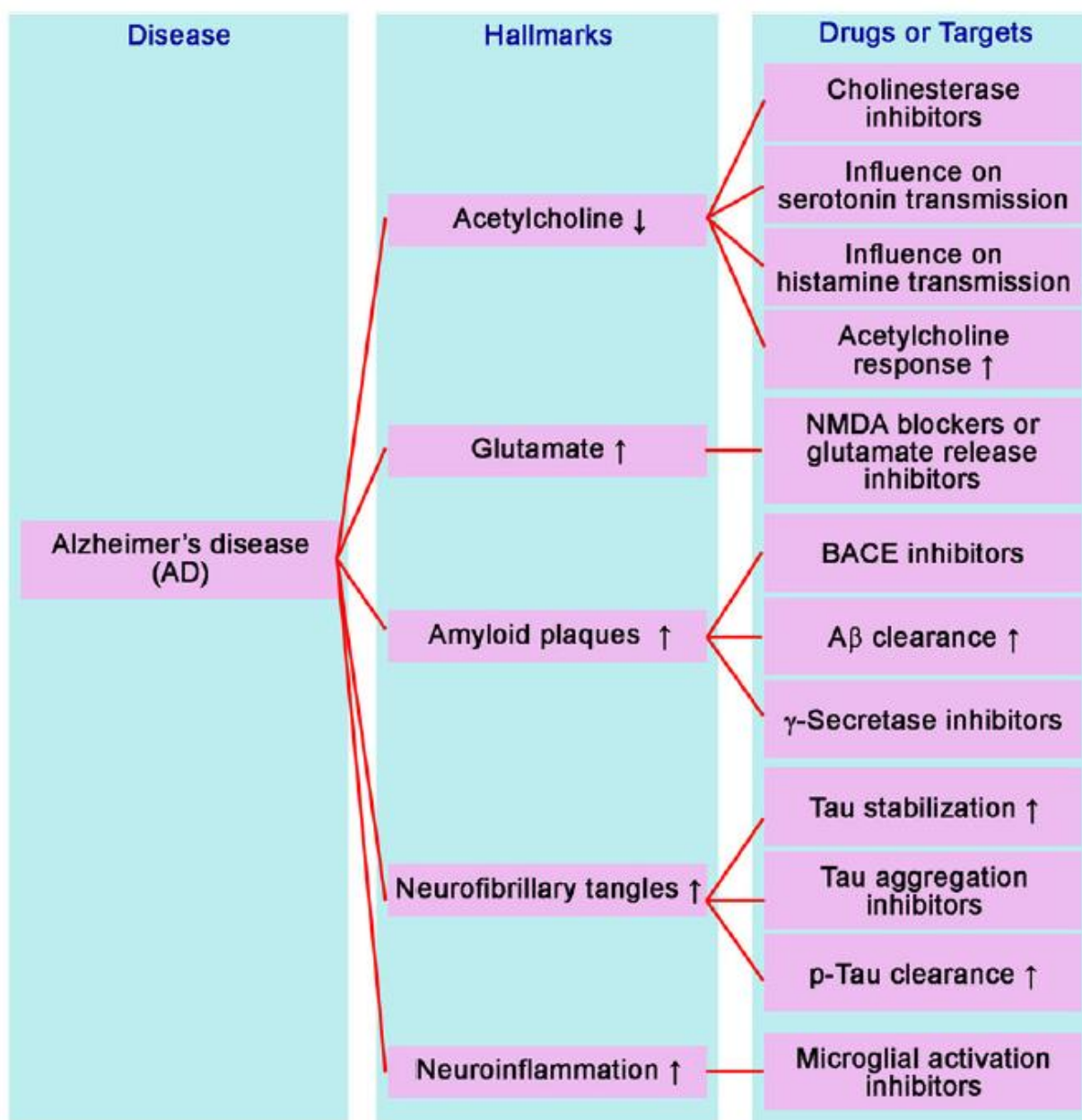


Figure 38: Classification des différents types de molécules et cibles par marqueur physiopathologique (d'après Hung et Fu, 2017)

Déficience en acétylcholine

Les inhibiteurs de l'acétylcholinestérase, ont déjà fait la preuve d'une efficacité limitée et les recherches dans cette direction ont cessé.

Il est connu que le blocage des 5-HT₆R peut entraîner une libération d'acétylcholine (Riemer et al., 2003), ces récepteurs constituent donc une cible thérapeutique pour rétablir la transmission cholinergique diminuée dans la MA. L'idalopirdine, un antagoniste des 5-HT₆R, a montré un profil intéressant, mais a échoué dans plusieurs essais cliniques récents de phase III à prouver une efficacité supérieure à celle d'un placebo (Atri et al., 2018). C'est le cas aussi de l'intepirdine, un autre antagoniste des 5-HT₆R, qui a récemment échoué lors de test de phase III (Khoury et al., 2018). La modulation du système sérotoninergique reste cependant une piste thérapeutique d'actualité. En effet, les 5-HT₄R sont eux aussi capables d'augmenter la libération d'acétylcholine (Consolo et al., 1994) et leur activation semble de plus à même d'impacter la physiopathologie de la MA (Robert et al., 2001). Leur intérêt en tant que cible potentielle pour le traitement de la MA sera développé dans un chapitre ultérieur.

Dans la même optique, le blocage des récepteurs H₃ peut favoriser la libération d'acétylcholine. De nombreux antagonistes H₃ tels que ABT-288 et GSK239512 ont donc fait l'objet d'essais cliniques mais aucun n'a donné de résultats satisfaisant (Haig et al., 2014; Kubo et al., 2015).

Enfin, l'activation des récepteurs nicotiques $\alpha 7$ est une autre piste intéressante. En effet ces récepteurs sont impliqués dans des fonctions cognitives comme la mémoire, la capacité à calculer ou le jugement (Russo et al., 2014). De plus, ces récepteurs peuvent lier le peptide A β et participer à son élimination par autophagie (Hung et al., 2009, 2015). L'encenicline, un agoniste partiel sélectif des récepteurs nicotiques $\alpha 7$, a atteint les essais cliniques de phase III (NCT01969123 et NCT01969136) mais la FDA a stoppé son développement à cause d'effets indésirables importants.

Excitotoxicité glutamatergique

Le riluzole, un bloqueur des canaux sodiques, utilisé dans le traitement de la sclérose latérale amyotrophique est capable de diminuer la concentration de glutamate extracellulaire (Wang et al., 2004). Il réduit la libération de glutamate et favorise sa recapture (Fumagalli et al., 2008; Grant et al., 2010).

De plus il a démontré un effet bénéfique sur un modèle de souris transgénique de tauopathie : il bloque la diminution de l'expression la PSD 95, diminue la concentration de tau et sa phosphorylation (Hunsberger et al., 2015). Le riluzole est actuellement en essai clinique de phase II en association avec le donépézil (NCT01703117).

Surcharge amyloïde

La β -sécrétase étant responsable de la production de peptide A β , elle constitue une cible toute trouvée pour en limiter l'accumulation. La première génération d'inhibiteurs de β -sécrétase a échoué à cause d'une faible biodisponibilité, la seconde à cause d'une toxicité hépatique. En revanche des molécules de troisième génération comme le lanabecestat (NCT02783573), l'atabecestat (NCT02569398) ou l'elenbecestat (NCT02956486) sont actuellement en essai de phase III.

La γ -sécrétase intervenant elle aussi dans la production du peptide A β elle constitue de même une cible thérapeutique intéressante et, là encore, de nombreuses molécules ont vu le jour. Malheureusement, le semagascestat a été arrêté en phase III car il aggravait les symptômes de la maladie et l'avagacestat a été stoppé pour effets indésirables graves. En revanche le NIC5-15 ou pinitol a terminé une étude de phase II mais les résultats en sont encore inconnus (NCT01928420).

Des molécules visant à augmenter la clairance du peptide A β sont également en cours de développement. Il s'agit essentiellement d'anticorps dont l'objectif est de favoriser la solubilisation du peptide A β en vue de la phagocytose par la microglie. L'immunothérapie active vise à produire un vaccin et malgré un certain nombre d'échecs, CAD106 est aujourd'hui un candidat prometteur. Cette stratégie vaccinothérapeutique est en cours d'essai clinique de phase II/III dont la fin est prévue en 2024 (NCT02565511). L'immunothérapie passive consiste en administration d'anticorps et de nombreux anticorps sont aujourd'hui en cours d'essais cliniques. Parmi les plus prometteurs qui subissent actuellement plusieurs essais de phase III on peut citer le crenezumab (NCT03491150, NCT03114657 et NCT02670083), le gantenerumab (NCT02051608 et NCT01900665) et l'aducanumab (NCT02477800 et NCT02484547).

La dégénérescence neurofibrillaire

La première stratégie envisagée repose sur l'utilisation de stabilisateurs des microtubules et elle a déjà été faite la preuve de la validité du concept (Butler et al., 2007). Cependant, aucune molécule n'a dépassé la phase I et il reste à l'heure actuelle un seul candidat en cours d'essai clinique, TPI287 (NCT01966666).

Il a aussi été tenté d'inhiber la formation des neurofibrilles responsables de la mort cellulaire en usant d'inhibiteurs de l'agrégation de la protéine tau, des dérivés de bleu de méthylène. Le Trx0237 est un inhibiteur d'agrégation de la protéine tau de seconde génération et malgré une absence d'efficacité démontrée par certains essais de phase III, il est aujourd'hui encore étudié dans un autre essai de phase III (NCT03446001).

Dans cet axe de recherche aussi l'immunothérapie active est explorée pour favoriser l'élimination de la protéine tau. L'un des vaccins testés est aujourd'hui en phase II : AADvac-1 ([NCT02579252](#)).

Neuroinflammation

La neuroinflammation est associée à l'hyperactivation microgliale et les études précliniques indiquent une forte corrélation entre ce phénomène et l'évolution des plaques amyloïdes et des symptômes de la MA. Un inhibiteur d'activation microgliale, l'Azeliragon a atteint la phase III mais n'a pas présenté d'effets satisfaisants. De même le flurizan et l'ibuprofène, deux anti-inflammatoires, n'ont pas présenté une efficacité suffisante.

Toutes catégories confondues, plus de 200 composés ont ainsi atteint la phase II des essais cliniques depuis 2003 mais aucun nouveau traitement n'a été autorisé dans cette période. La plupart des candidats prometteurs à la sortie de la phase II échouent en phase III souvent à cause de sérieux effets indésirables ou d'un manque d'efficacité. La recherche clinique est aujourd'hui compliquée par le manque de critère diagnostique clair, validé et de marqueur biologique pour le suivi et l'évaluation de l'efficacité.

III. Intérêt des récepteurs 5-HT₄ dans le traitement de la maladie d'Alzheimer

Comme évoqué précédemment, le système sérotoninergique est affecté au cours de la MA ce qui en fait une voie de recherche intéressante pour développer des traitements contre la MA. L'utilisation d'antagonistes des 5-HT₆R dans cette optique a déjà été discutée et a fait l'objet d'un certain nombre d'essais cliniques qui, bien que prometteurs, n'ont pas porté leurs fruits. Nous allons maintenant parler de l'intérêt des 5-HT₄R dans ce contexte.

1. Devenir des récepteurs 5-HT₄ au cours de la MA

Une comparaison *post-mortem* entre des patients atteints de la MA et des individus sains a permis de mettre en évidence une réduction considérable de la densité des 5-HT₄R cérébraux, notamment dans des régions clés pour la mémoire épisodique et pour les fonctions exécutives. En effet, la densité de 5-HT₄R est diminuée de façon significative dans l'hippocampe (près de 70%) et dans le cortex frontal (30%) et une tendance non significative à la diminution (pourtant de 30% aussi) est observée au niveau du cortex temporal (Reynolds et al., 1995).

Par ailleurs, il semble que le système sérotoninergique est perturbé dès le stade MCI. Ainsi, il a été rapporté par une étude d'imagerie en TEP une baisse d'un marqueur des neurones sérotoninergiques, SERT, notamment au niveau de l'hippocampe et du cortex (Smith et al., 2017). Cette diminution de SERT indique une perte de neurones sérotoninergiques et il apparaît donc intéressant, pour rétablir un semblant de transmission sérotoninergique normale chez les patients MCI ou atteints de la MA, d'agir directement sur les récepteurs de la sérotonine présents au niveau post-synaptique, notamment par le biais des 5-HT₄R. Une autre étude en TEP a, par ailleurs, révélé que la densité de 5-HT₄R est corrélée positivement à la charge en peptide A β et négativement aux performances cognitives au début de la MA (Madsen et al., 2011). Les auteurs de cette étude rapportent une régulation à la hausse des 5-HT₄R observable du stade préclinique au stade MCI et suggèrent que cette modification serait une réaction compensatoire suite à la diminution de la transmission sérotoninergique et/ou une réponse de l'organisme visant à contrer l'accumulation du peptide A β et à améliorer les fonctions cognitives.

2. Effets de l'activation des récepteurs 5-HT₄ dans la maladie d'Alzheimer

Etudes précliniques dans les modèles expérimentaux de la MA

Rappelons ici que, dans les conditions physiologiques, les 5-HT₄R sont exprimés plus densément dans des zones associées aux processus de mémoire et d'apprentissage, comme l'hippocampe, les ganglions de la base, le cortex et l'amygdale (Marner et al., 2010; Reynolds et al., 1995; Varnäs et al., 2003). Rappelons également que les 5-HT₄R sont à même de moduler la libération d'autres neurotransmetteurs. Ainsi, il a été rapporté que l'activation des 5-HT₄R entraîne la libération d'acétylcholine au niveau du cortex (Consolo et al., 1994; Yamaguchi et al., 1997) et de l'hippocampe (Matsumoto et al., 2001; Mohler et al., 2007). De même, l'activation de ces récepteurs augmente la libération de dopamine (Barnes and Sharp, 1999; Steward et al., 1996). Or, on sait que les transmissions cholinergique et dopaminergique sont diminuées dans la MA. Enfin, comme précédemment décrit, l'activation des 5-HT₄R influe positivement sur les fonctions mnésiques et la plasticité synaptique, processus largement altérés dans la MA.

Outre ces arguments indirects issus d'expériences réalisées en conditions physiologiques, des études menées dans des modèles expérimentaux de la MA ont permis de mettre en évidence des effets positifs de la stimulation des 5-HT₄R. De façon intéressante, il a été rapporté à la fois des effets sur la symptomatologie de ces modèles de la MA et sur sa physiopathologie. Une étude menée *in vitro* sur des cellules CHO (Chinese hamster ovary) et sur des cellules humaines de neuroblastome (IMR32) a démontré un effet de la stimulation des 5-HT₄R sur le métabolisme de l'APP (Lezoualc'h and Robert, 2003; Robert et al., 2001). Les auteurs rapportent qu'un agoniste de ces récepteurs, le prucalopride, est capable de favoriser la sécrétion du peptide sAPP α et que cet effet s'exerce par l'activation de l'adénylate cyclase, mais indépendamment de la PKA. Une étude ultérieure a pu faire le lien entre l'activation 5-HT₄R et l'activation de l' α -sécrétase : la protéine Rac est activée par Rap1 elle-même activée par Epac1 à la suite de l'augmentation en AMPc (Maillet et al., 2003). *A contrario*, une autre étude n'a pas retrouvé l'implication de l'AMPc dans ces effets mais plutôt une action de SRC, de la PLC et de la caséine kinase 2 (CK2) (*figure 39*, Pimenova et al., 2014).

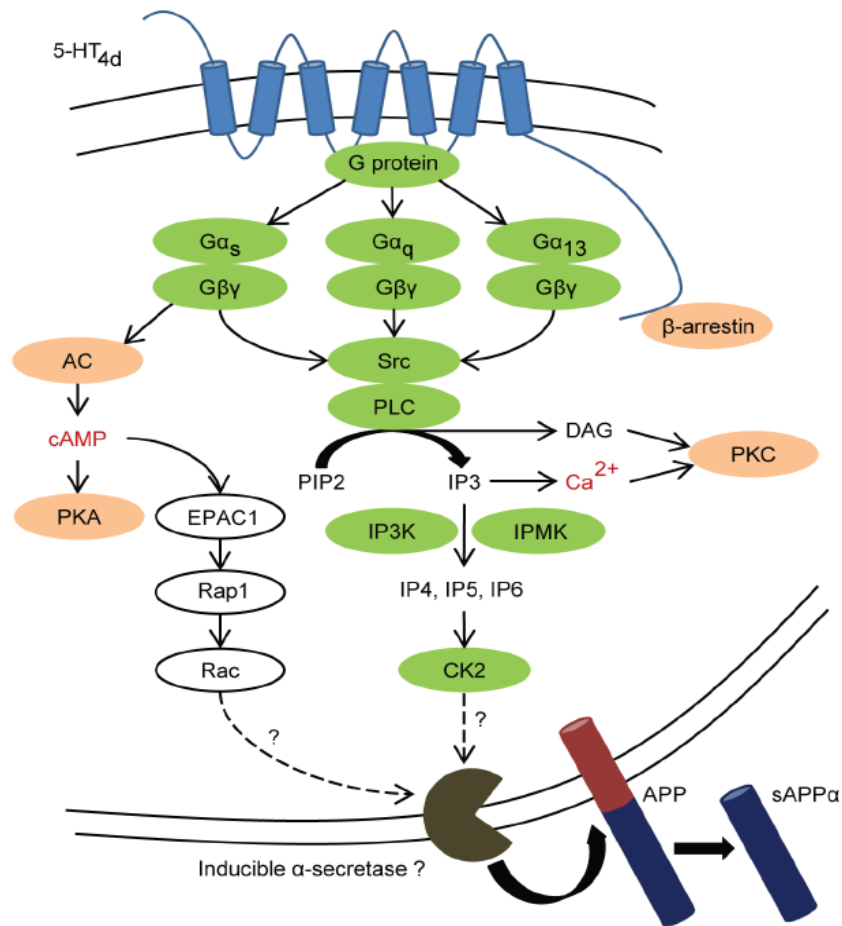


Figure 39: représentation schématique des voies de transduction supposées menant de l'activation des 5-HT₄R à l'activation de l' α -sécrétase (d'après Pimenova et al, 2014)

De plus, il a par la suite été démontré que le 5-HT₄R promeut la voie non-amyloïdogénique de manière constitutive par une interaction physique avec l' α -sécrétase ADAM10 (Cochet et al., 2013). En addition à ces effets observés sur la production de sAPP α , une étude menée sur des cultures cellulaires de neurones provenant de souris transgéniques TG2576 exprimant l'APP humain a démontré que le RS67333 peut inhiber la production de peptide A β et augmenter de façon dose-dépendante la survie neuronale (Cho and Hu, 2007).

Cette régulation du métabolisme de l'APP a pu être retrouvée par des études *in vivo*. Ainsi, dans un modèle animal de la MA (souris APP/PS1), l'administration chronique d'un agoniste des 5-HT₄R a entraîné une diminution de la production de peptide A β soluble et insoluble, ainsi qu'une baisse de l'expression de l'APP et de la β -sécrétase (Tesseur et al., 2013). En revanche, aucune augmentation du sAPP α n'a été retrouvée dans cette étude, au contraire d'une autre étude menée sur la même souche (Hashimoto et al., 2012).

Enfin, plusieurs études menées *in vivo* sur un autre modèle de la MA (souris 5xFAD) ont, elles aussi, rapporté une modification du métabolisme de l'APP suite à la stimulation des 5-HT₄R. Dans la première étude (Giannoni et al., 2013), les auteurs rapportent qu'un traitement chronique (2 ou 3 mois) par un agoniste des 5-HT₄R, le RS67333 (1mg/kg), entraîne une réduction des plaques amyloïdes dans l'hippocampe et dans les cortex frontal et enthorinal ainsi qu'une diminution des niveaux de peptide A β soluble et insoluble. De plus, ils rapportent que le traitement durant 3 mois permet aussi de diminuer l'astroglie et la microglie. Enfin, ils confirment que ces actions sont bien médiées par l'activation des 5-HT₄R car le RS39604, un antagoniste de ces récepteurs, administré lui aussi en chronique bloque les améliorations provoquées par le RS67333 seul. Par ailleurs, ils confirment qu'une injection ponctuelle de RS67333 augmente les niveaux de sAPP α à la fois *in vitro* (dans des cultures cellulaires COS-7) et *in vivo* (dans l'hippocampe et le cortex frontal de souris 5xFAD).

Dans une seconde étude (Baranger et al., 2017), les auteurs rapportent une diminution des plaques dans le cortex enthorinal suite à un traitement chronique de 2 et 4 mois par le RS67333 (1mg/kg) ainsi qu'une diminution des médiateurs de l'inflammation et de la réactivité microgliale dans cette même région. Les auteurs rapportent de plus une diminution de 70% de la quantité de peptide A β dans le cortex enthorinal chez les souris traitées pendant 4 mois par rapport aux souris non traitées, en revanche aucun effet sur ce paramètre n'est observé après seulement 2 mois de traitement.

Le symptôme principal observé dans la MA est une amnésie qui va toucher progressivement différentes mémoires. De façon intéressante, des études *in vivo* menées sur les souris 5xFAD ont rapporté des effets anti-amnésiant de la stimulation des 5-HT₄R. Ainsi, il a été décrit que chez ces souris qui présentent des déficits dans une tâche d'apprentissage associatif (labyrinthe olfactif en tube), un effet bénéfique d'une administration chronique (4 mois) d'un agoniste des 5-HT₄R, le RS67333 (Baranger et al., 2017). De même, une autre étude réalisée chez la même souche de souris a démontré que l'administration de RS67333 pendant 2 mois suffit à rétablir des performances de mémoire normales dans le test de reconnaissance de nouvel objet (Giannoni et al., 2013).

Essais cliniques

Tous les éléments exposés précédemment laissent à penser que l'activation des récepteurs 5-HT₄ est une stratégie thérapeutique des plus intéressantes pour le traitement de la MA. Il apparaît cependant que les choses ne soient pas aussi simples. En effet, un seul agoniste des récepteurs 5-HT₄ a été testé dans des essais cliniques portant sur la MA à notre connaissance : le PRX-03140. Cet agoniste a produit d'excellents résultats au cours d'une courte étude de phase IIa : en effet en seulement deux semaines le traitement par monothérapie a entraîné une amélioration de 5.7 points sur l'échelle ADAS-cog (Alzheimer's Disease Assessment Scale cognitive subscale), comparé à une diminution de 0.2 points chez les sujets ayant reçu un placebo. Ces résultats très encourageants ont motivé le lancement de deux études de phase IIb mais elles ont été stoppées en cours et nous n'avons pas plus d'information à ce sujet à l'heure actuelle.

OBJECTIFS

Objectifs

Du fait de l'allongement de l'espérance de vie, les pathologies associées au vieillissement deviennent une préoccupation majeure en santé publique. Ainsi, la prévalence de la maladie d'Alzheimer (MA) ne cesse d'augmenter : cette pathologie affecterait près de 50 millions de personnes dans le monde en 2015, ce qui en fait la première cause de démence et de dépendance de la personne âgée. Il en résulte un coût sociétal et familial très important. De plus, les traitements actuels ne permettent pas de soigner la maladie mais peuvent au mieux retarder sa progression. Ce manque d'efficacité a d'ailleurs mené au déremboursement de ses traitements en France. Il en résulte une nécessité urgente de développer de nouveaux traitements efficaces, non seulement pour soulager les symptômes de la maladie, mais également pour stopper sa progression.

Dans ce contexte, un sous-type de récepteurs à la sérotonine, les 5-HT₄R semblent être une cible thérapeutique des plus intéressante. En effet, ces récepteurs sont présents à une forte densité dans des zones cérébrales critiques pour les fonctions d'apprentissage et de mémoire telles que l'hippocampe ou l'amygdale. Or l'un des symptômes majeurs de la MA constitue en une atteinte des fonctions cognitives et, en particulier de la mémoire épisodique, supportée notamment par l'hippocampe. De façon intéressante, l'expression des 5-HT₄R est augmenté dans les stades précoces de la MA, ce qui devrait d'autant augmenter l'efficacité d'une stratégie visant à les activer. Par ailleurs, l'activation des 5-HT₄R facilite la libération d'acétylcholine, ce qui peut permettre de contrebalancer la diminution de l'activité du système cholinergique observée dans la MA. Enfin, il a été démontré que l'activation de ces récepteurs influe sur le métabolisme du peptide A β , diminuant la production de ce dernier en faveur du peptide sAPP α aux propriétés neuroprotectrices et pro-mnésiantes. Compte tenu de ces caractéristiques prometteuses des 5-HT₄R, de nombreuses études comportementales se sont penchées sur les effets de la stimulation ou du blocage des 5-HT₄R sur les performances de mémoire hippocampique. Dans l'ensemble, il en ressort que l'activation de ces récepteurs serait favorable aux processus d'apprentissage et de mémoire et que leur blocage exercerait l'effet opposé. Ainsi, chez des animaux sains, il a pu être observé une amélioration des performances de mémoire (dans de nombreux types de mémoire, comme la mémoire spatiale de référence, la mémoire spatiale de travail ou la mémoire de reconnaissance) suite à l'administration d'agonistes des 5-HT₄R, dénotant un effet pro-mnésiant de ces molécules.

De même, dans des conditions de déficits mnésiques (chez des animaux âgés ou ayant subi une injection de produit amnésiant ou encore dans des modèles de la MA), l'administration d'agonistes des 5-HT₄R permet de contrebalancer les déficits et entraîne donc un effet anti-amnésiant.

Comme nous l'avons évoqué précédemment, la MA est une affection multifactorielle à la physiopathologie complexe. Ceci explique la grande difficulté à trouver des thérapies efficaces, tant pour réduire les symptômes de la maladie que pour en stopper la progression. En accord avec ces observations, de nombreuses études pointent vers la nécessité de combiner une action sur plusieurs cibles thérapeutiques pour obtenir une efficacité dans le traitement de la MA. Le premier objectif de mes travaux de thèse a consisté à étudier l'intérêt d'une stratégie thérapeutique combinée, associant un inhibiteur d'acétylcholine estérase à un agoniste des 5-HT₄R. L'efficacité de cette association a ainsi été testée *in vivo*, via différents tests comportementaux, dans un modèle murin d'amnésie induite pharmacologiquement (injection de scopolamine).

Si les effets de la modulation de l'activité des 5-HT₄R sur la mémoire semblent clairs au regard des données comportementales disponibles, ses effets sur la plasticité synaptique le sont beaucoup moins. En effet, relativement peu d'études ont été menées sur le sujet et leurs résultats sont quelque peu contradictoire. Ainsi, sur les 2 seules études menées au sein de la région CA1, l'une indique une augmentation de la LTP par l'activation des 5-HT₄R, tandis que l'autre ne démontre pas d'effet de la stimulation des 5-HT₄R sur la LTP. Le deuxième objectif de mes travaux a ainsi été de mieux comprendre les effets d'une modulation des récepteurs 5-HT₄ sur la plasticité synaptique hippocampique au niveau du champ CA1. Cette étude a été réalisée dans un modèle réductionniste *ex vivo* chez la souris saine, compte tenu de l'hétérogénéité des résultats de littérature décrits précédemment obtenus *in vivo*. En effet, le modèle de la coupe transverse d'hippocampe que nous utilisons fait abstraction des influences exercées par d'autres régions cérébrales. Cependant, ce modèle permet un contrôle total des conditions d'enregistrement. Ces deux particularités font défaut aux modèles *in vivo* et il est possible qu'elles soient en partie responsables des résultats parfois contradictoires rencontrés dans la littérature. De plus, nous utiliserons différents protocoles d'induction de la plasticité mettant en jeu des propriétés de réseau différentes pour essayer de déterminer les mécanismes par lesquels les 5-HT₄R exercent une régulation sur la plasticité synaptique.

Le troisième objectif de ma thèse a consisté en l'étude des effets d'une modulation des 5-HT₄R sur la plasticité hippocampique dans un modèle murin d'amyloïdogenèse (souris 5xFAD). En effet, plusieurs études comportementales menées dans ce modèle murin ont démontré les effets bénéfiques sur les performances de mémoire de l'administration d'un agoniste des récepteurs 5HT₄R. Compte tenu du lien fort entre plasticité synaptique et mémoire, il apparaît en effet intéressant d'une part de mieux caractériser les potentiels dysfonctionnement de plasticité hippocampique dans ce modèle murin transgénique ; mais également d'étudier l'effet d'une modulation des 5-HT₄R sur ces processus électrophysiologiques.

METHODOLOGIE GENERALE

Méthodologie générale

I. Animaux

Les études ont été réalisées avec des souris NMRI (Naval Medical Research Institute) mâles jeunes adultes (âgées de 10 à 12 semaines), des souris C57/BL6 mâles adultes (âgées de 9 à 10 mois) et des souris transgéniques de la souche 5xFAD mâles de même âge que les C57 élevées au CURB (Centre Universitaire de Ressources Biologiques, Université de Caen Normandie). Les animaux sont hébergés par groupes de 8 individus dans des cages standard (polycarbonate, 37x21x19 cm³) dont la litière est composée de sciure et dans lesquelles l'eau et la nourriture sont disponibles *ad libitum*, au sein d'une animalerie en cycle inversé (lumière de 20h00 à 8h00, afin de pouvoir réaliser les expériences pendant la phase d'activité des souris (phase nocturne du cycle nycthémeral) dont la température est maintenue à 21±2°C et où le pourcentage d'humidité est de 55±10%. Avant toute manipulation, les souris disposent d'une semaine d'adaptation à leur milieu après leur transfert du CURB vers l'animalerie du laboratoire.

Toutes les expériences ont été réalisées en conformité avec la directive du Conseil de l'Union Européenne et approuvées par le Comité d'Ethique NORMANDIE en Matière d'EXpérimentation Animale (CENOMEXA).

II. Traitements pharmacologiques

Pour étudier les effets de la stimulation des 5-HT₄R, l'agoniste RS67333 a été choisi. Cet agoniste partiel a été utilisé *ex vivo* à trois concentrations (0.1, 1 et 10µM). Pour étudier les effets du blocage des 5-HT₄R, un antagoniste de ces récepteurs, le RS39604, a été utilisé *ex vivo*, lui aussi à trois concentrations (0.01, 0.1 et 1µM). Ces deux molécules ont été choisies sur la base de leur propriétés pharmacocinétiques (bonne sélectivité, haute affinité) et en raison de leur fréquente utilisation dans la littérature. Les doses testées ont été sélectionnées vis-à-vis de l'affinité de ces molécules pour les 5-HT₄R. La bicuculline à la concentration de 10µM et le CGP55845 à la concentration de 1µM ont été utilisés pour bloquer respectivement les récepteurs GABA_a et les récepteurs GABA_b. L'antagoniste des récepteurs non-NMDA, le NBQX, a été utilisé à la concentration de 50µM pour les mesures de patch-clamp et pour la mesure des réponses NMDA. Enfin, l'APV a été utilisé à la concentration de 50µM pour bloquer les récepteurs NMDA dans les mesures de patch-clamp.

Pour ce qui concerne les études *in vivo*, le RS67333, agoniste partielle des 5-HT₄R, a été utilisé à quatre doses (0.25, 0.5, 1 et 2mg/kg) et la galantamine, un inhibiteur de l'acétylcholinestérase, a été employé à trois doses (0.3, 1 et 3mg/kg). Pour provoquer des déficits de mémoire, un antagoniste des récepteurs muscarinique, la scopolamine, a été administrée à la dose de 1mg/kg.

L'ensemble des produits utilisés ont été dissous dans de l'eau distillée à l'exception du RS39604 et du CGP55845 qui ont été dissous dans le DMSO avant d'être ajoutés dans l'aCSF à la concentration idoine. Pour les mesures impliquant ces deux produits, du DMSO était ajouté dans le milieu contrôle à la concentration adéquate (0.2% et 0.1% pour le RS39604 et el CGP55845 respectivement) pour éliminer tout effet du solvant. Le RS67333, le RS39604, le NBQX et l'APV proviennent de Tocris Biosciences® et les autres produits proviennent de Sigma-Aldrich®.

III. Tests comportementaux

Après arrivée des souris dans notre animalerie, un délai de 2 semaines a été systématiquement respecté avant tout test comportemental pour que les animaux puissent se remettre du changement d'environnement. Les souris ont été manipulées régulièrement afin de les habituer au contact du manipulateur et avant chaque test une phase d'habituation à la pièce de trente minutes a été respectée. Toutes les expérimentations ont été effectuées en aveugle (l'expérimentateur et la personne injectant les souris n'étant pas la même personne) et sur des groupes d'animaux randomisés. Nous avons sélectionné ces deux tests en particulier car la mémoire de travail (étudiée par l'alternance spontanée) et la mémoire de référence (étudiée par l'évitement passif) sont deux types de mémoire requérant une élévation de l'activité cholinergique ce qui les rends particulièrement sensibles à l'effet de la scopolamine (Micheau and Marighetto, 2011).

1. Test de l'alternance spontanée

Les performances en mémoire de travail spatiale ont été étudiées en enregistrant le comportement d'alternance spontanée dans un labyrinthe en Y (Anisman, 1975b). Le labyrinthe est constitué de trois bras de taille équivalente (22 x 6.5 x 10cm³) en plastique gris foncé (*figure 40*).

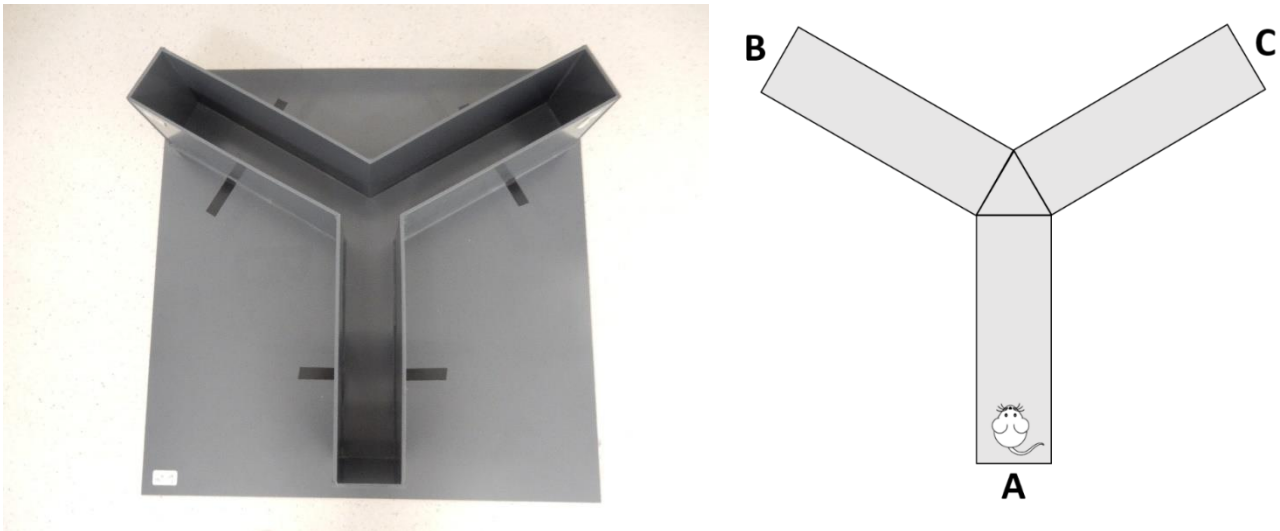


Figure 40: photographie et représentation schématique du labyrinthe en Y

Au début de chaque test, la souris est placée à l'extrémité d'un bras et laissée en exploration libre pendant 5 minutes. Le nombre et la séquence d'entrées dans les différents bras est enregistré, un comportement d'alternance étant défini par l'entrée successive dans les trois bras. Le pourcentage d'alternance est calculé pour fournir un index de mémoire par la formule suivante : $(\text{nombre d'alternances} / \text{nombre théorique maximal d'alternances}) \times 100$. Les souris effectuant moins de cinq entrées dans un bras ont été retirées de l'étude.

2. Test de l'évitement passif

Dans ce test, nous avons utilisé une boîte d'évitement passif (Letica[®] LE 872) divisée en deux compartiments : un grand compartiment blanc et éclairé ($22 \times 21 \times 30\text{cm}^3$) et un petit compartiment noir et sombre ($7.3 \times 7.5 \times 14\text{cm}^3$) avec une grille au sol. Une porte en guillotine sépare les deux compartiments (*figure 41*).

Au cours de la première session, chaque souris est placée dans le compartiment blanc et dès qu'elle pénètre dans le compartiment sombre (la latence maximale fixée à 50s), la porte est refermée et elle subit un choc électrique (0.4mA, 2s) auquel elle ne peut se soustraire. La réponse au choc des souris est vérifiée par l'observation de sauts et de vocalisations. Une seconde session est réalisée 24 heures après pour tester la rétention. Chaque souris est à nouveau placée dans le compartiment blanc. Le temps mis par la souris pour entrer dans le compartiment sombre est mesuré (latence maximale fixée à 300s) et aucun choc n'est délivré.



Figure 41: photographie de la boîte d'évitement passif

IV. Electrophysiologie extracellulaire

Les mesures d'électrophysiologie ont été réalisées suivant le protocole décrit par le Dr. Jean-Marie Billard (Billard, 2010; Billard and Rouaud, 2007).

1. Préparation des coupes d'hippocampe

Après anesthésie rapide par isoflurane à 5% dans un mélange O₂/N₂O (30/70), les souris sont euthanasiées par élancement cervicale puis décapitées, à raison d'une souris par jour d'enregistrement. Le cerveau est ensuite extrait de la boîte crânienne et déposé dans du liquide céphalorachidien artificiel (aCSF) à 0°C pour stopper les réactions biochimiques consécutives à la mort de l'animal. L'hippocampe de chaque hémisphère est ensuite récupéré avant d'être coupé en tranches de 400µm d'épaisseur suivant un plan transversal à l'aide d'un *tissue chopper* de Mc Ilwain®. Enfin, les tranches obtenues sont déposées dans de l'aCSF dont la température est maintenue à 28°C, l'ensemble de la procédure ne prend pas plus de 10 minutes. Avant toute mesure électrophysiologique, les tranches sont laissées en récupération dans ce milieu pendant 45 minutes minimum. A la fin de la journée les tranches non utilisées sont jetées.

L'aCSF est préparé de façon extemporanée à partir d'une solution mère (x10) conservée à 4°C dont la composition est la suivante : NaCl 124mM, KCl 3.5mM, MgSO₄ 1.5mM, NaH₂PO₄ 1.2mM et CaCl₂ 2.5mM. Après dilution au dixième de la solution mère, du glucose et du bicarbonate de sodium sont ajoutés pour atteindre les concentrations suivantes : 11 et 26.2 mM respectivement. L'aCSF est équilibré à un pH de 7.4 (±0.05) par bullage de carbogène (95% O₂ et 5% CO₂) et son osmolarité est de 300mosM.

2. Enregistrements des potentiels de champs

Après la période de récupération, les tranches d'hippocampe sont placées dans la cuve de mesure de 1.5cm de diamètre sur 1.2cm de hauteur (~2ml) entre deux filets (l'un à petite mailles au-dessous et l'autre à grosses mailles au-dessus pour la stabiliser, *figure 42, droite*). La cuve de mesure est située sur le plateau d'un microscope binoculaire (Modèle SZ30, Olympus®) et deux micromanipulateurs (WPI® MM301R pour l'électrode de stimulation et DC3001L pour l'électrode d'enregistrement) placés de chaque côté du microscope (*figure 42, gauche*). L'ensemble de ces éléments est installé sur une table à coussin d'air et la cuve est alimentée en aCSF par 2 pompes (Modèle 77122-14, Masterflex®) à un débit de 1ml/mn à partir d'un béccher de 60ml d'aCSF.

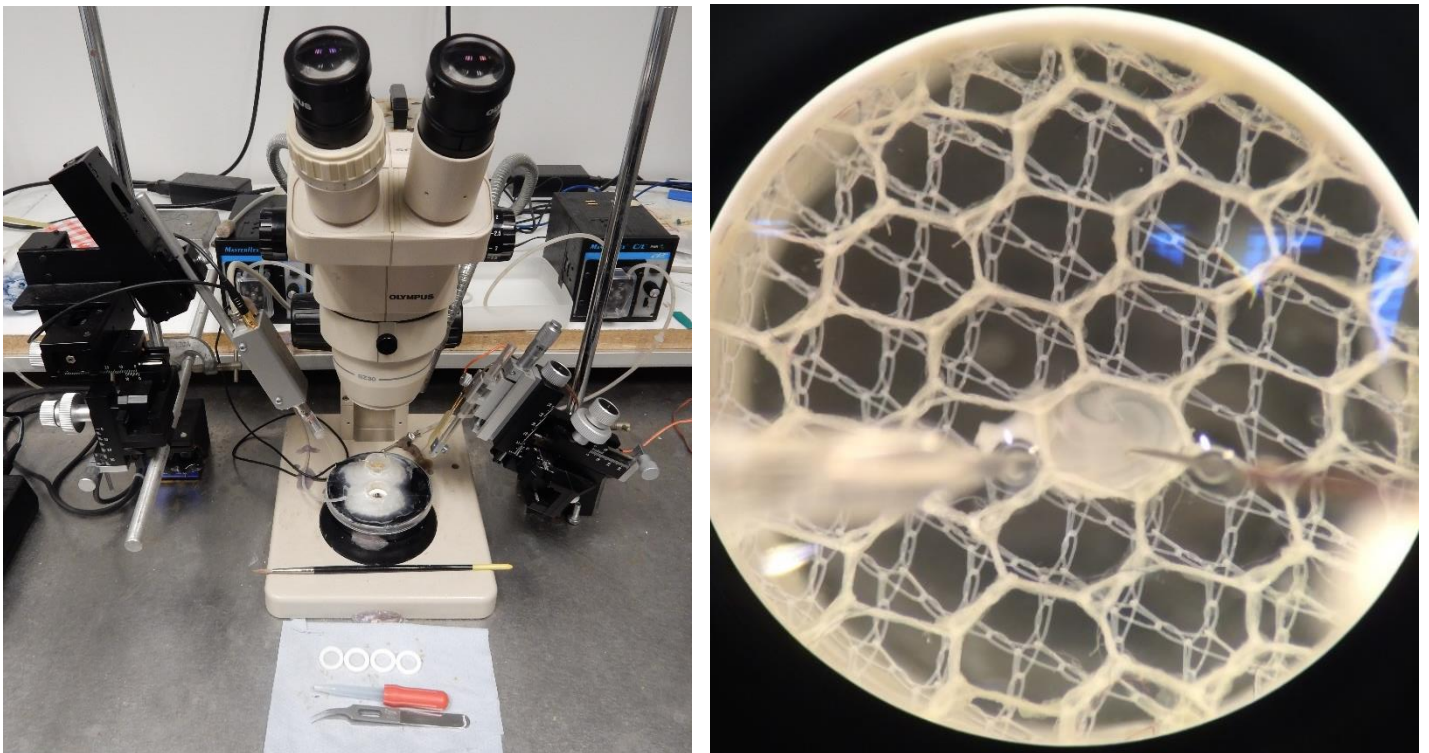


Figure 42: placement des électrodes autour de la cuve d'enregistrement (gauche) et vue de la coupe transverse d'hippocampe dans la cuve d'enregistrement (droite)

Les enregistrements sont obtenus au moyen de microélectrodes de borosilicate (~5 M Ω , PHYPEP réf : GC-150F-10) obtenues au moyen d'une étireuse de capillaires (Narishige®, PB7 ; *figure 43*) et remplie de NaCl 2M placée au niveau de la partie médiane (*stratum radiatum*) de l'arbre dendritique des cellules pyramidales de l'aire CA1 (*figure 42, droite*). Les potentiels post-synaptiques excitateurs (fEPSP) de champ sont provoqués par stimulation électrique des fibres afférentes (collatérale de Schaeffer).



Figure 43: étireuse de capillaire (Narishige, PB7)

Les stimuli sont appliqués entre les deux pôles d'une électrode en acier bipolaire (PHYMEP[®], réf : UESMGESEKNNM) dont l'un des pôles est dans la tranche tandis que l'autre est situé juste au-dessus dans le bain d'aCSF.

Les expérimentations sont pilotées par ordinateur, au moyen du logiciel WinLTP[®] (Anderson and Collingridge, 2001). Une carte d'interface permet de transmettre les instructions envoyées par l'ordinateur au poste d'électrophysiologie qui est constitué des éléments suivants :

- une boîte de stimulation (Modèle DS2, Digitimer Ltd. [®]), elle produit les stimuli et permet le réglage de l'intensité
- l'électrode d'enregistrement raccordée à la tête de mesure (Modèle Ext02-B, NPIelectronics[®]), qui va récupérer le signal électrique au niveau post-synaptique
- un système d'acquisition (Modèle Ext02-B, NPIelectronics[®]), qui filtre et amplifie le signal récupéré par l'électrode d'enregistrement
- un système de filtrage et d'amplification supplémentaire (Modèle AM502, Tektronix[®])
- un humbug (Questscientific[®]) qui permet de supprimer les signaux à 50Hz produits par les appareils électriques proches

3. Protocoles de stimulation

Dans l'ensemble des protocoles détaillés ci-après, chaque point de mesure enregistré est obtenu par la moyenne de trois réponses enregistrées à 10 secondes d'intervalle (soit une valeur enregistrée toutes les 30 secondes). Lorsqu'un ligand pharmacologique est utilisé, il est ajouté directement dans le milieu de mesure à la concentration désirée. De plus, un intervalle de 15 minutes est systématiquement respecté entre l'ajout du ligand et le début des mesures pour laisser à celui-ci le temps de diffuser dans les tissus et de faire effet.

Etude de la transmission synaptique basale ou AMPA

L'efficacité de la transmission synaptique basale a été déterminée par des stimulations d'intensité constante et croissante (0.6 à 1.2mA). Les stimulations électriques induisent une dépolarisation membranaire, se traduisant par la production d'un fEPSP. En amont de ce potentiel de champ apparaît une petite déflexion négative appelée volée afférente (VA), proportionnelle à la quantité de fibres stimulées. Des courbes I/O (Input/Output) peuvent alors être réalisées. Elles représentent pour une intensité donnée (en mA), le rapport entre la pente du PPSE (exprimée en mV/ms) et la pente de la VA (exprimée en mV/ms) ce rapport donne un indice d'efficacité de la transmission synaptique. Ces courbes I/O permettent d'évaluer la transmission glutamatergique de base, médiée par les récepteurs AMPA.

Etude de la transmission synaptique NMDA

La mesure de la transmission NMDA va suivre le même protocole que pour la mesure de la transmission AMPA à quelques exceptions près. En premier lieu les mesures vont être effectuées dans un aCSF fortement appauvri en Mg^{2+} (0.1mM) afin de lever le blocage que ces ions exercent sur les récepteurs NMDA en condition normale. Ensuite du NBQX est ajouté au milieu à une concentration de 10 μ M pour bloquer les récepteurs AMPA et ainsi isoler la réponse des récepteurs NMDA. La gamme d'intensité étudiée va de 0.3 à 0.5mA.

Etude de la plasticité synaptique

Une forme transitoire de plasticité synaptique, la Pulse Paired Facilitation (PPF), et deux formes de plasticité synaptique durables ont été étudiées, la LTP et la LTD.

La PPF est une potentialisation de la transmission synaptique qui se produit lorsque deux stimulations sont appliquées successivement dans un très court laps de temps, il en résulte une augmentation transitoire du second PPSE, due à des modifications de l'élément pré-synaptique (cette augmentation est mesurée dans notre étude par le rapport de la pente de second PPSE sur la pente du premier). Ainsi, la PPF sera obtenue par application de deux stimulations espacées de 30ms à une intensité fixée arbitrairement de sorte à ce que la pente du premier PPSE soit proche de 0.07mV/ms.

La LTD et la LTP correspondent respectivement à une diminution et à une augmentation durable de l'efficacité de la transmission synaptique après un stimulus conditionnant. Pour la LTD et la LTP, il est donc nécessaire d'établir une ligne de base stable à une intensité fixe et appropriée avant d'appliquer un stimulus conditionnant. Le stimulus conditionnant et la valeur de la ligne de base varient en fonction de la forme de la plasticité synaptique étudiée (*figure 44*). La LTD sera obtenue en appliquant une stimulation à basse-fréquence (LFS, 10 minutes à 2Hz) à une ligne de base ayant -0.2mV/ms pour valeur de pente des PPSE. Enfin, la LTP sera obtenue en appliquant une stimulation haute fréquence (une stimulation téτανique à une fréquence de 100Hz pendant 1 seconde (HFS) ou une stimulation thêta-burst - 5 trains de 4 impulsions à 100 Hz séparés de 200ms – répétés 4 fois à 10 secondes d'intervalle (TBS)), à une ligne de base ayant -0.1mV/ms pour valeur de pente des PPSE.

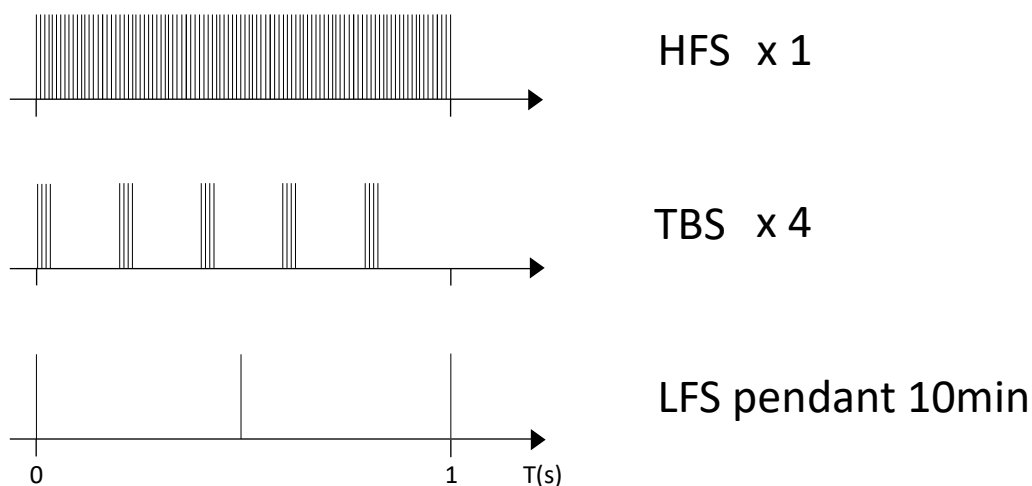


Figure 44: représentation schématique des différents stimulus conditionnant utilisé pour les mesures de plasticité

V. Patch-clamp

Les mesures de patch-clamp ont été réalisées en collaboration avec le laboratoire « Biophotonics and neuronal networks » UMR-S 9188 de l'Université Paris Sud par le Dr. Brigitte Potier.

1. Préparation des coupes d'hippocampe

La préparation des coupes d'hippocampe pour les mesures de patch-clamp suit les mêmes étapes que pour les mesures d'électrophysiologie extracellulaire à deux détails près. En effet, les coupes sont ici sagittales et réalisées au moyen d'un vibratome (Leica® VT1200 S).

2. Enregistrements des courants GABAergiques évoqués

Les enregistrements de patch-clamp sont réalisées en configuration « cellule entière » suivant un protocole couramment utilisé par le Dr. Potier (Potier et al., 2006). Les mesures sont effectuées à température ambiante au moyen de pipettes en borosilicate (~5M Ω , PHYMEP réf : GC-150F-10) obtenues au moyen d'une étireuse de capillaires (Narishige®, PB7) et remplies du mélange suivant : CsCH₄O₃S 140mM, CsCl 6mM, MgCl₂ 2mM, HEPES 10mM, EGTA 1,1 mM, QX-314 5mM, ATP 4mM, (pH 7.3; 290mosM).

Les courants sont acquis et filtrés à 2Hz par un amplificateur AxoPatch 1-D (Axon Instruments), l'enregistrement et l'analyse en temps réel sont effectués grâce au logiciel WinLTP®. La résistance de série est contrôlée et compensée durant l'enregistrement et toute mesure présentant une variation de plus de 20% de ce paramètre est stoppée et la tranche jetée.

Les courants GABAergiques (inhibitory post-synaptic currents, IPSC) sont évoqués par stimulation électrique à une fréquence de 0.07Hz au niveau de la collatérale de Schaeffer par le biais d'une électrode bipolaire en présence de NBQX (10 μ M) et d'APV (50 μ M).

VI. Analyses statistiques

L'ensemble des données obtenues au cours de cette étude est présenté sous la forme de moyenne \pm écart standard à la moyenne. Les analyses statistiques ont été réalisées au moyen du logiciel R[®] avec un seuil de significativité fixé à 5%.

Pour les courbes I/O (transmissions AMPA et NMDA), une ANOVA à deux facteurs dépendants (traitement et intensité de stimulation) a été utilisée. Les mesures de PPF ont été analysées par un test de Student apparié pour les comparaisons intra-souches et non apparié pour les comparaisons inter-souches.

Pour l'étude de la plasticité synaptique à long terme, les mesures ont été analysées par des ANOVA avec mesures répétées. Les mesures de LTP et de LTD dans les différentes conditions (contrôle/ligands à différentes concentrations) ont été comparées sur les 15 dernières minutes pour déterminer un éventuel effet des ligands utilisés.

L'analyse statistique des résultats de patch-clamp a nécessité l'emploi d'ANOVA avec mesures répétées pour les mesures des IPSC évoqués en fonction du traitement.

Le cas échéant, des analyses *post-hoc* par le test de Student avec correction de Bonferroni ont été effectuées.

RESULTATS

Résultats

I. Etude de l'intérêt de l'association d'un agoniste des récepteurs 5-HT₄ à un inhibiteur de l'acétylcholinestérase présentant une activité modulatrice allostérique des récepteurs nicotiques : étude comportementale chez la souris NMRI adulte en condition de déficit mnésique.

1. Objectifs

Au vu de la complexité de la physiopathologie de la MA, il n'a pas encore été possible aujourd'hui d'identifier un mécanisme *princeps* qui serait à l'origine de toutes les manifestations observées au cours de la pathologie. L'existence même d'un tel mécanisme est d'ailleurs sujet à caution, la MA étant considérée comme multifactorielle. Il apparaît donc vain d'espérer guérir cette maladie au moyen de stratégies thérapeutiques mono-cibles et la notion de thérapies multi-cibles fait aujourd'hui consensus dans le cadre de la MA. Il faut cependant tenir compte du fait que les patients atteints de la MA sont des personnes majoritairement âgées, souffrant de multiples comorbidités et donc souvent en situation de poly-médication (source d'erreurs médicamenteuses et d'iatrogénie) qui serait donc aggravée par une thérapie associant plusieurs composés. L'émergence du concept de MTDL (multi target directed ligand) permettrait de contourner ce problème par le design de molécules capables d'agir sur différentes cibles. Un tel composé associant une activité inhibitrice de l'acétylcholinestérase et agoniste des 5-HT₄R, le donécopride, a été développé récemment (Lecoutey et al., 2014) dans le cadre de la MA et présente des résultats prometteurs.

Notre objectif dans cette étude est donc de tester l'association d'un agoniste des 5-HT₄R avec un autre inhibiteur de l'acétylcholinestérase, la galantamine. Cette molécule présente des particularités qui la rendent plus intéressante que les autres inhibiteurs de l'acétylcholinestérase. Il a en effet été démontré que la galantamine peut agir comme un modulateur allostérique positif des récepteurs nicotiques, récepteurs dont l'activation a montré des effets bénéfiques pour la mémoire et l'apprentissage.

2. Article 1: “Co-modulation of an allosteric modulator of nicotinic receptor-cholinesterase inhibitor (galantamine) and a 5-HT4 receptor agonist (RS-67333): effect on scopolamine-induced memory deficit in the mouse”

Thomas Freret, Véronique Lelong-Boulouard, Pierre Lecouflet, Katia Hamidouche, François Dauphin et Michel Boulouard.

Article publié en 2017 dans Psychopharmacology



ORIGINAL INVESTIGATION

Co-modulation of an allosteric modulator of nicotinic receptor-cholinesterase inhibitor (galantamine) and a 5-HT₄ receptor agonist (RS-67333): effect on scopolamine-induced memory deficit in the mouse

Thomas Freret¹ · Véronique Lelong-Boulouard¹ · Pierre Lecoufflet¹ ·
 Katia Hamidouche¹ · François Dauphin¹ · Michel Boulouard¹

Received: 8 December 2016 / Accepted: 28 May 2017 / Published online: 19 June 2017
 © Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2017

Abstract

Aim It is widely assumed that the upcoming therapeutics for Alzheimer's disease will require to act on more than one target to be effective. We investigated here whether a combination of the nicotinic receptor allosteric modulator/cholinesterase inhibitor galantamine can act synergistically with the type 4 serotonin receptor (5-HT₄R) partial agonist, RS-67333, to counterbalance deficits in short- and long-term memory. To select sub-efficacious doses of both drugs, dose-response studies were first performed on the scopolamine-induced deficits of spontaneous alternation in the Y-maze task and of acquisition and retrieval processes in a passive avoidance task. **Result** For spontaneous alternation behavior, combination of 1 mg/kg galantamine and 0.5 mg/kg RS-67333 fully reversed the deficit. In the passive avoidance task, no sub-efficacious doses could be found in the retention paradigm, but a beneficial effect of the association has been demonstrated in the acquisition paradigm.

Conclusion Mnestic effects of galantamine can be thus potentiated by activation of 5-HT₄R. Such a combination treatment might (1) strengthen symptomatic relief, (2) attenuate adverse

effects given the lower doses of each compound required, and (3) afford a disease-modifying effect given the known action of 5-HT₄R on amyloidogenesis cascade.

Keywords Acetylcholinesterase inhibitor · Neurodegenerative · Memory · Behavior · Serotonin
 Thomas Freret, Véronique Lelong-Boulouard, François Dauphin, and Michel Boulouard contributed equally to this work.

Introduction

Based on the cholinergic hypothesis of cognitive dysfunctions (Perry et al. 1981), the current therapeutic for Alzheimer's disease (AD) mainly focuses on acetylcholinesterase (AChE) inhibition. Three cholinesterase inhibitors have till now been released on the market, the last having been approved in 2000, namely galantamine. According to Cochrane Database of systematic Reviews, all of these three drugs are efficacious for mild to moderate AD (Birks 2006) though the symptomatic relief provided by AChE inhibition therapy is weak (Lleó et al. 2006) and fails to reverse disease progression (so-called disease-modifying effect). Owing to the multifactorial aspects of AD, it is accepted that efficient therapy would require the simultaneous modulation of multiple targets to manage the course of the disease (Cavalli et al. 2008), leading to increasing interest in multi-treatments therapy and/or multi-target drug ligands (Hughes et al. 2016). Besides, the development of a new strategy with combined treatments acting on multiple targets might be an attractive perspective not only to increase the beneficial effect of a singly targeted-treatment (cholinergic system), but also to limit side peripheral effects of AChE inhibitors by using doses that are not efficacious when the drug is used alone. Accordingly, it has been demonstrated that

Chemical compounds studied in this article: RS-67333 (PubChem CID: 183,782); Galantamine hydrobromide (PubChem: 121,587); Scopolamine (PubChem CID: 3,000,322)

Thomas Freret, Véronique Lelong-Boulouard, François Dauphin, and Michel Boulouard contributed equally to this work.

✉ Thomas Freret
 thomas.freret@unicaen.fr

¹ Normandie University, UNICAEN, INSERM, COMETE, 14000 Caen, France

5-HT₄R agonists can stimulate the release of the non-amyloidogenic soluble amyloid precursor protein (sAPP α), with putative neuroprotective and enhancing memory properties (Lezoualc'h and Robert 2003; Robert and Lezoualc'h 2008). Unfortunately, only five studies had so far associated AChE inhibitors with 5-HT₄R agonists, at doses that were ineffective alone (Moser et al. 2002; Lamirault et al. 2003; Mohler et al. 2007; Cachard-Chastel et al. 2008; Freret et al. 2012): three have investigated the rationale of the association on rodents' recognition memory performances, only one has investigated the context of working memory, and one tested spatial reference memory. Most importantly, except the work of Cachard-Chastel, none of these studies assessed the interest of such an association in pharmacologically induced deficit conditions.

With regard to recognition memory, each of the three AChE inhibitors has demonstrated efficiency to improve rodents' performances when associated with sub-active doses of a partial 5-HT₄R agonist (RS-67333, except SL65.0155 for rivastigmine) (Moser et al. 2002; Lamirault et al. 2003; Freret et al. 2012). Historically, rivastigmine was first tested in 2002 (Moser et al. 2002), then galantamine the following year (Lamirault et al. 2003), and finally our group explored in 2012 the beneficial effect of association of sub-active doses of donepezil with RS-67333 (Freret et al. 2012). The reasons that led authors to choose one or the other AChE inhibitors to be associated to the 5-HT₄R agonist are not clearly spelled, even though it might be guessed. For instance, a long-term comparative study has shown significant advantages in the treatment response to galantamine (versus donepezil) on cognition in Alzheimer's patients (Wilcock et al. 2003). In 2012, our choice was guided by the close structural proximity of donepezil and RS-67333, which afterwards allowed us to design the first MTDL donepezil, associating a dual profile of AChE inhibition and 5-HT₄R agonism (Lecoutey et al. 2014; Rochais et al. 2015). Nonetheless, beyond the chemical structure, a choice driven on pharmacological arguments could have led to select galantamine that displays some advantages when compared to other AChE targeting drugs (for review, see Pepeu and Giovannini 2009). Indeed, galantamine also acts as a positive allosteric modulator of nicotinic receptors, thus enhancing the release of ACh (for review, see Woodruff-Pak et al. 2002). Even though this effect is unselective, its action on some subtypes of nicotinic receptors, notably α 7 (α 7-nAChR), appears of particular interest. Indeed, α 7-nAChR are mainly expressed in the hippocampus and cortex and has been suggested to be involved in the memory effects of nicotinic drugs (De Jaco et al. 2016). Consequently, a growing number of studies argue for the targeting of α 7-nAChR as a complementary therapeutic strategy to increase treatment efficacy in the field of AD, or psychiatric diseases such as schizophrenia. Thus, as previously suggested by others, galantamine can be seen "as a prototype" (Woodruff-Pak et al.

2002) to test with the aim to develop new MTDL acting both as AChE inhibitors, α 7-nAChR modulators, as well as partial 5-HT₄R agonists.

With regard to spatial working memory, a sub-active dose of galantamine has been tested in association with a newly designed 5-HT₄R agonist, VRX-03011, and demonstrated abilities to enhance memory performances in a delayed spontaneous alternation test (through cross-maze test) (Mohler et al. 2007). Finally, only donepezil has been tested in a spatial reference memory, namely the Morris water maze test. In this work, the combination of donepezil with sub-active doses of prucalopride (a full 5-HT₄R agonist) completely counteracted scopolamine-induced amnesia (Cachard-Chastel et al. 2008). Indeed, contrary to previous experiments, the efficacy of AChE therapy has been sought there in a state of pharmacologically induced deficit, trying thus to get closer to a pathological situation. Indeed, the muscarinic acetylcholine receptors antagonist, scopolamine, produces cognitive deficits in both experimental animals and humans (Buccafusco 2009). The scopolamine reversal test is thus a valuable and relevant preclinical model for estimating the therapeutic potential of novel cognition-enhancing drugs.

Yet, no study has explored the effect of a combination of galantamine and RS-67333 in a state of pharmacologically induced deficit. Herein, we investigated if the two ligands, each at sub-effective doses, can act synergistically to counterbalance scopolamine-induced alterations in short-term working memory (spontaneous alternation test) or long-term memory tasks in the mouse (passive avoidance test).

Methods

Animals

Experiments were performed on male NMRI mice (Janvier labs, France) weighing 25–30 g. Mice were housed by groups of ten animals in standard polycarbonate cages and maintained in a regulated environment (22 \pm 1 °C) under 12 h–12 h light/dark cycle (light on between 20:00 and 8:00) with food and water ad libitum. Behavioral tests were conducted during the dark phase of the cycle. All experiments complied with the European Community guidelines and the French law on animal experimentation (personal authorization no. 14-10 for VLB).

Drugs

RS-67333 (1-[4-amino-5-chloro-2-methoxyphenyl]-3-[1-n-butyl-4-piperidinyl]-1-propanone), galantamine hydrobromide, and scopolamine hydrobromide were purchased respectively from Tocris®, Janssen®, and Sigma®. Starting doses, administration route (intraperitoneal or subcutaneous, 10 ml/kg), and the

timing of dosing were selected according to previous related studies (Sweeney et al. 1989, 1990; Bores et al. 1996; Fontana et al. 1997; Marchetti-Gauthier et al. 1997; Lelong et al. 2001; Da Silva Costa-Aze et al. 2012).

Behavioral procedures

To select sub-effective doses of each compound (RS-67333 and galantamine), dose-response studies were first performed for each behavioral procedure, in mice treated or not with scopolamine (1 mg/kg, s.c.). For all experiments, the observer was blind to the treatment.

Spontaneous alternation test

Immediate spatial working memory performances were assessed by recording spontaneous alternation behavior in a single-session Y-maze test (Anisman 1975), as we previously described (Lelong et al. 2003; Rochais et al. 2015). The maze consisted in three equally spaced arms ($22 \times 6.5 \times 10 \text{ cm}^3$) made of black painted wood. At the beginning of the test, each mouse ($n = 10$ per group) was placed at the end of one arm and allowed to freely explore the maze during a 5-min session. The number and the sequence of arm entries were recorded. An arm entry was scored when all four feet crossed into the arm. Alternation behavior is defined as consecutive entries into all three arms. The percentage of alternation was calculated as a memory index by the (number of alternation/maximal theoretical number of alternation) $\times 100$. Mice that exhibited less than five arm entries during the test were eliminated from the group. Scopolamine was administered 30 min before the test, while galantamine and RS-67333 were respectively administered 120 and 30 min before the test.

Passive avoidance test

A step-through type passive avoidance box (Leticia® LE 872), divided into a wide, white, and illuminated compartment ($22 \times 21 \times 30 \text{ cm}^3$) and a small, black, and dark compartment ($7.3 \times 7.5 \times 14 \text{ cm}^3$) with a grid floor, was used as previously described (Leger et al. 2015). A guillotine door separated the two compartments. During a first training trial ("session 1"), each mouse ($n = 15$ per group) was placed in the white compartment. As soon as the mouse had entered into the dark compartment (the step-through maximal latency is fixed at 50 s), the door was closed and the mouse received a unique inescapable electric shock (0.4 mA, 2 s). The response of mice to electric shock was ascertained through the verification of vocalizations and jumps for each mouse. Twenty-four hours later, mice were tested for retention ("session 2"); each mouse was placed again into the white compartment and the time until it re-enters into the dark compartment was measured

(the step-through maximal latency is fixed at 300 s; no electric shock is delivered).

Two protocols of drug injections were undertaken to distinguish different steps of memory: pre-acquisition or acquisition (before the "session 1") and pre-retrieval or recall (before the "session 2") (Table 1). Scopolamine was administered 30 min before either session 1 (acquisition paradigm) or 2 (retention paradigm). Drugs were administered at 120 min for galantamine and 30 min for RS-67333 before either session 1 or 2, respectively. Less than 30 s elapsed time was ensured between two administrations (RS-67333 and scopolamine) scheduled at the same time.

Statistical analyses

Data are expressed as mean \pm SEM. A priori, scopolamine-induced deficit was validated by a Student's *t* test comparing scopolamine-treated and control groups. Then, analyses of variances (ANOVA) with scopolamine and dose factors (with repeated measurements for the passive avoidance test) were performed. When necessary, inter-group differences were investigated by a post-hoc multiple comparison test (PLSD of Fischer). *p* values lesser than 0.05 were considered to be significant.

Results

Spontaneous alternation test

The scopolamine-induced amnesic effect was illustrated in all experiments by a significant decrease of the percentage of alternation (Student's *t* test, scopolamine versus saline, $p = 0.004$, <0.001 , and <0.001 , for respectively experiments 1, 2, and 3) (Fig. 1a–c).

Experiment 1: dose-response study of RS-67333 effect (0.25, 0.5, and 1 mg/kg)

Analysis of variance for alternation percentages revealed a significant "scopolamine" effect [$F(1,72) = 44.786$, $p < 0.0001$], a significant "dose" effect [$F(3,72) = 6.605$, $p < 0.001$], but no "scopolamine \times dose" interaction [$F(3,72) = 1.177$, $p = 0.3247$] (Fig. 1a).

In the absence of scopolamine, one-way ANOVA revealed a "dose" effect [$F(3,36) = 4.124$, $p = 0.0130$]. None of animals' groups treated with either of the three doses of RS-67333 was different from the control group. Post-hoc comparisons revealed that the "dose" effect was due to significant differences between the group treated by RS-67333 at 0.25 mg/kg and the two groups treated by higher doses of RS-67333 ($p = 0.013$ and 0.003 , at 0.5 and 1 mg/kg, respectively). Similarly, under scopolamine treatment, one-way

Table 1 Timing of drugs' administration. All drugs were dissolved in NaCl 0.9% and administered in a volume of 10 ml/kg

Drugs	Behavioral test		
	Spontaneous alternation test	Passive avoidance test	
		Acquisition	Recall
NaCl or scopolamine (1 mg/kg, s.c.)	30 min before the test	30 min before "session 1"	30 min before "session 2"
RS-67333 (i.p.)	30 min before the test	30 min before "session 1"	30 min before "session 2"
Galantamine (i.p.)	120 min before the test	120 min before "session 1"	120 min before "session 2"

ANOVA revealed a significant "dose" effect [$F(3,36) = 3.83, p = 0.018$]. Post-hoc comparisons revealed that the highest dose of RS-67333 reversed the scopolamine-induced deficit. Indeed, RS-67333 1 mg/kg-treated mice display a significantly higher percentage of alternation than all other groups ($p = 0.016, p = 0.0061, \text{ and } p = 0.0102$, respectively, versus "scopolamine alone," "scopolamine + RS 0.25 mg/kg," and "scopolamine + RS 0.5 mg/kg").

Experiment 2: dose-response study of galantamine effect (0.3, 1, 3 mg/kg)

Analysis of variance revealed a significant "scopolamine" effect [$F(1,72) = 58.46, p < 0.0001$], a significant "dose" effect [$F(3,72) = 4.656, p = 0.0050$], and a "scopolamine \times dose" interaction [$F(3,72) = 5.56, p = 0.0017$] (Fig. 1b).

In the absence of scopolamine, one-way ANOVA failed to reveal a significant "dose" effect [$F(3,36) = 1.26, p = 0.302$]. In contrast, a significant dose difference effect has been shown between groups of animals treated by scopolamine [$F(3,36) = 7.99,$

$p < 0.001$]. Post-hoc comparisons revealed that only galantamine at 3 mg/kg reversed the scopolamine-induced deficit. Indeed, animals that received scopolamine and galantamine at the highest dose display an alternation percentage significantly higher than all other groups ($p < 0.0001, p = 0.0016, \text{ and } p = 0.0004$, respectively, versus "scopolamine alone," "scopolamine + galantamine 0.3 mg/kg," and "scopolamine + galantamine 1 mg/kg").

Experiment 3: effect of co-administration of sub-effective doses of RS-67333 and galantamine

The statistical analysis revealed a significant "dose" effect [ANOVA: $F(4,45) = 10.395, p < 0.0001$] (Fig. 1c). Post-hoc comparisons revealed, similarly than in the dose-response studies, that neither RS-67333 at 0.5 mg/kg nor galantamine at 1 mg/kg could reverse the scopolamine-induced deficit ($p = 0.7484 \text{ and } 0.9335$, respectively). On the contrary, animals that received the combination of these sub-effective doses of galantamine and RS-67333 displayed an alternation percentage that did not differ from control animals ($p > 0.05$),

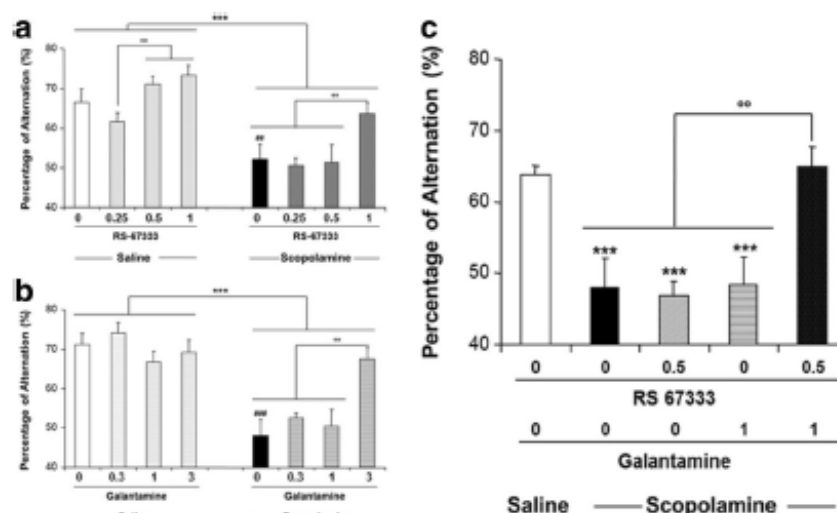


Fig. 1 Spontaneous alternation behavior in mice treated or not by scopolamine (1 mg/kg; s.c.). **a** Effects of RS-67333 (0.25, 0.5, and 1 mg/kg, i.p.). **b** Effects of galantamine (0.3, 1, and 3 mg/kg, i.p.). **c** Effects of the association of RS-67333 (0.5 mg/kg; i.p.) and galantamine (1 mg/kg, i.p.). Alternation percentages are expressed as mean \pm SEM. $n = 10$ by group.

$p < 0.01$ scopolamine-induced amnesic effect (Student's t test, scopolamine versus saline control group); *** $p < 0.001$ "scopolamine effect" different from saline group(s); and ** $p < 0.01$ group comparisons (ANOVA, followed by post-hoc PLSD of Fisher)

and that was additionally significantly higher than for all other scopolamine-treated animal groups ($p < 0.001$).

Passive avoidance test

Acquisition paradigm

Scopolamine significantly reduced escape latencies during “session 2” when compared to the saline control group ($p < 0.001$ and $p = 0.004$, Student’s *t* test for respectively experiments 1 and 2), indicating that administration of scopolamine before acquisition induced memory deficits in this test (Figs. 2 and 3).

Experiment 1: dose-response study of RS-67333 effect (0.5, 1, and 2 mg/kg) Two-way ANOVA with repeated measurements of escape latencies revealed a significant “scopolamine” effect [$F(1,56) = 15.476, p < 0.001$] (Fig. 2a). In the absence of scopolamine, the two-way ANOVA with repeated measurements revealed a significant “session” effect [$F(1,56) = 42.083, p < 0.0001$], but neither “dose” effect [$F(3,56) = 0.217, p = 0.8840$], nor “session \times dose” interaction [$F(3,56) = 0.255, p = 0.8578$], revealing thus that all animals behaved similarly. In basal condition, administration of RS-67333 before acquisition session did not modify the animals’ performances, whatever the dose considered. Under scopolamine treatment, the two-way ANOVA with repeated measurements revealed a “session” effect [$F(1,56) = 24.381, p < 0.0001$], a significant “dose” effect [$F(3,56) = 6.800, p = 0.0005$], as well as a “session \times dose” interaction [$F(3,56) = 8.563, p < 0.0001$]. While no “dose” effect was observed during session 1, one-way ANOVA revealed a significant “dose” effect during session 2 [respectively, $F(3,56) = 0.837$ and $8.719, p = 0.4795$ and $p < 0.0001$]. These results suggested that pre-acquisition administration of RS-67333 at 2 mg/kg significantly reversed scopolamine-induced deficit. Indeed, post-hoc comparisons revealed that animals’ group with 2 mg/kg of RS-67333 displayed an escape latency significantly higher than all other scopolamine-treated groups ($p < 0.001, p = 0.0006$, and $p = 0.0001$ versus either “scopolamine alone,” “scopolamine + RS 0.5 mg/kg,” and “scopolamine + RS 1 mg/kg,” respectively).

Experiment 2: dose-response study of galantamine effect (0.3, 1, 3 mg/kg) Two-way ANOVA of escape latencies revealed a significant “scopolamine” effect [$F(1,56) = 57.059, p < 0.0001$] (Fig. 2b). In the absence of scopolamine, two-way ANOVA with repeated measurements revealed a “session” effect [$F(1,56) = 131.888, p < 0.0001$], a significant “dose” effect [$F(3,56) = 2.986, p = 0.0387$], as well as a “session \times dose” interaction [$F(3,56) = 3.154, p = 0.0318$]. While no difference was observed for session 1, ANOVA revealed a significant “dose” effect for session 2

[$F(3,56) = 3.122, p = 0.0330$], suggesting thus that pre-acquisition administration of galantamine significantly modified performances in basal conditions. Post-hoc comparisons revealed that galantamine at 0.3 mg/kg increased escape latencies when compared to control animals ($p = 0.0161$) and to groups receiving either 1 or 3 mg/kg of galantamine ($p = 0.0084$ and 0.0363 , respectively). Under scopolamine treatment, ANOVA revealed only a significant “session” effect [$F(1,56) = 56.275, p < 0.0001$], indicating thus that none of the three dose of galantamine bromide tested modified the scopolamine-induced deficit.

Experiment 3: effect of co-administration of RS-67333 (1 mg/kg) and galantamine (0.3, 1, 3 mg/kg) on scopolamine-induced deficit in an acquisition paradigm

Two-way ANOVA with repeated measurements of escape latencies revealed a “session” effect [$F(1,126) = 177.22, p < 0.001$], a significant “dose” effect [$F(8,126) = 10.371, p < 0.0001$], as well as a “session \times dose” interaction [$F(8,126) = 10.946, p < 0.0001$] (Fig. 2c). With regard to session 1, no significant difference could be observed, indicating that during the first session all animals behaved similarly, whatever the pharmacological treatment received [$F(8,126) = 0.770, p = 0.6302$]. Contrarily, a significant “dose” effect has been observed during “session 2” [$F(8,126) = 11.019, p < 0.0001$]. When compared to control animals (saline), post-hoc tests revealed that all scopolamine-treated groups displayed reduced escape latency performances ($p < 0.001$), except the group having received the association of RS-67333 with galantamine at the highest dose (3 mg/kg), which displayed a significant increased escape latency ($p = 0.0136$). This association of RS-67333 (1 mg/kg) with galantamine (3 mg/kg) not only reversed scopolamine-induced deficit ($p < 0.0001$ versus scopolamine group), but also induced a significantly increased escape latency when compared to the other groups treated or not with RS-67333 and galantamine ($p < 0.0001$ versus “scopolamine + RS” and “scopolamine + RS + galantamine 0.3” and “scopolamine + RS + galantamine 1” treated group).

Retrieval paradigm

Scopolamine significantly reduced escape latencies during session 2 when compared to saline-treated animals ($p < 0.001$, Student’s *t* test, for both dose-response studies of RS-67333 and galantamine), indicating that pre-retrieval administration of scopolamine impaired memory in this test (Fig. 3a, b).

Experiment 1: dose-response study of RS-67333 effect (0.5, 1, and 2 mg/kg) Two-way ANOVA with repeated measurements of escape latencies revealed a significant “scopolamine” effect [$F(1,112) = 18.932, p < 0.0001$]

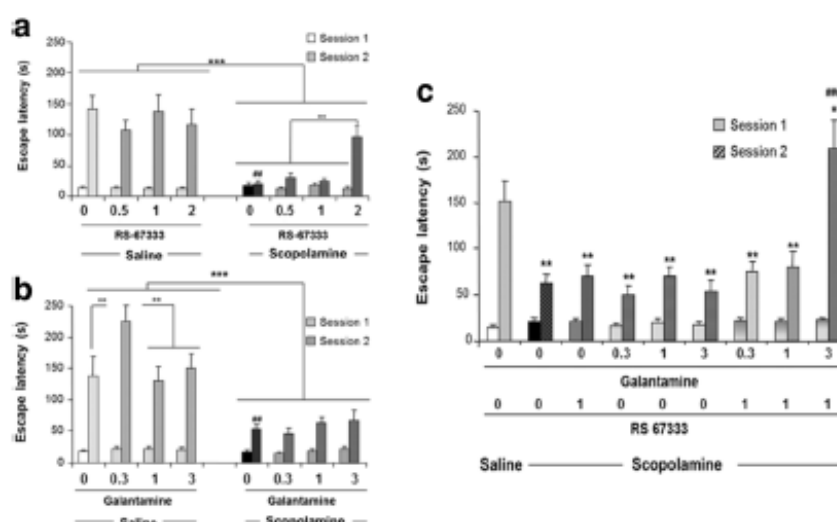


Fig. 2 Memory performances in the acquisition paradigm of the passive avoidance test of mice, treated or not by scopolamine (1 mg/kg; s.c. 30 min before session 1). **a** Effects of RS-67333 (0.5, 1, and 2 mg/kg, i.p.) administrated 30 min before session 1. **b** Effects of galantamine administrated 120 min before session 1 (0.3, 1, and 3 mg/kg, i.p.). **c** Effects of the association of RS-67333 (1 mg/kg; i.p.) and galantamine (0.3, 1, and 3 mg/kg, i.p.) administrated, respectively, 30 and 120 min

(Fig. 3a). In the absence of scopolamine, two-way ANOVA only revealed a significant “session” effect [$F(1,56) = 81.028$, $p < 0.0001$], but neither “dose” effect [$F(3,56) = 1.344$, $p = 0.2693$], nor “session \times dose” interaction [$F(3,56) = 2.113$, $p = 0.1088$], indicating that all animals learnt the test in a similar manner. In basal condition, whatever the dose considered, RS-67333 did not modify the animals’ performances in a retention paradigm. Contrarily, under scopolamine treatment, a two-way ANOVA revealed a “session” effect [$F(1,56) = 31.593$, $p < 0.0001$], a significant “dose” effect [$F(3,56) = 4.553$, $p = 0.0063$], as well as a “session \times dose” interaction [$F(3,56) = 4.725$, $p = 0.0052$]. Whereas no significant difference is observed during session 1, ANOVA revealed a “dose” effect during session 2 [respectively, $F(3,56) = 1.719$ and 4.687 , $p = 0.1736$ and 0.0054]. Post-hoc comparisons revealed that administration of RS-67333 at either 1 or 2 mg/kg just before session 2 significantly reduced scopolamine-induced deficits ($p = 0.0136$ and 0.0076 , respectively).

Experiment 2: dose-response study of galantamine effect (0.3, 1, 3 mg/kg)

Two-way ANOVA with repeated measurements of escape latencies revealed a significant “scopolamine” effect [$F(1,112) = 16.288$, $p < 0.0001$] (Fig. 3b). In the absence of scopolamine, two-way ANOVA only revealed a significant “session” effect [$F(1,56) = 201.722$, $p < 0.0001$], but neither “dose” effect [$F(3,56) = 0.850$, $p = 0.4722$] nor “session \times dose” interaction [$F(3,56) = 0.727$, $p = 0.5404$], indicating that all animals learnt the test in a similar manner. In basal condition, whatever the

before session 1. Escape latencies are expressed as mean \pm SEM, $n = 15$ mice per group. ## $p < 0.01$ scopolamine-induced amnesic effect (Student’s t test, scopolamine versus saline control group); *** $p < 0.001$ “scopolamine effect” different from saline group(s); and $\infty p < 0.01$ group comparisons (ANOVA, followed by post-hoc PLSD of Fisher)

dose considered, galantamine did not modify the animals’ performances in a retention paradigm. Conversely, under scopolamine treatment, two-way ANOVA with repeated measurements revealed a “session” effect [$F(1,56) = 94.631$, $p < 0.0001$], a significant “dose” effect [$F(3,56) = 3.830$, $p = 0.0145$], as well as a “session \times dose” interaction [$F(3,56) = 4.392$, $p = 0.0076$]. Whereas no significant difference is observed during session 1, ANOVA revealed a “dose” effect during session 2 [respectively, $F(3,56) = 0.113$ and 4.158 , $p = 0.9522$ and 0.0099]. Post-hoc comparisons revealed that administration of galantamine just before session 2, whatever the dose considered, significantly reduced scopolamine-induced deficit ($p = 0.0410$, 0.0022 , and 0.0056 , respectively, for dose of 0.3, 1, and 3 mg/kg of galantamine).

Discussion

The present findings demonstrate the relevance to associate a 5-HT₄R agonist (RS-67333) to an AChE inhibitor (galantamine) to improve working memory and long-term reference memory performances in a condition of pharmacologically induced deficits. Indeed, we demonstrated that subactive doses of both compounds can act synergistically to demonstrate anti-amnesic effects in the spontaneous alternation test and the passive avoidance task. In its simplest form, spontaneous alternation behavior comprises the tendency of rats, mice, and other animals to alternate their (conventionally) non reinforced choices of T- or Y-maze arms on successive

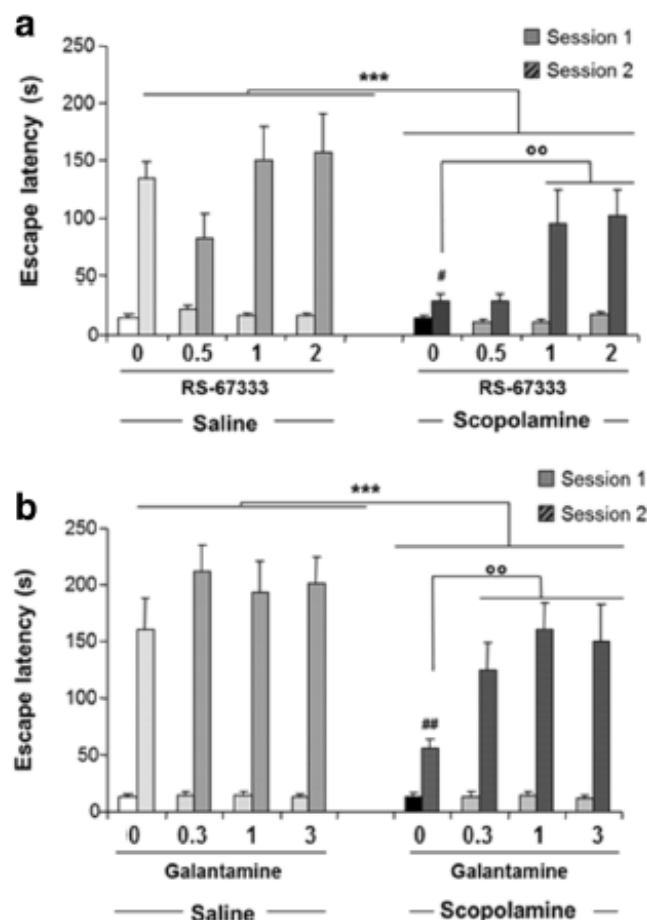


Fig. 3 Memory performances in the retention paradigm of the passive avoidance test of mice, treated or not by scopolamine (1 mg/kg; s.c. 30 min before session 2). **a** Effects of RS-67333 (0.5, 1, and 2 mg/kg, i.p.) administered 30 min before session 2. **b** Effects of galantamine administered 120 min before session 2 (0.3, 1, and 3 mg/kg, i.p.). Escape latencies are expressed as mean \pm SEM, $n = 15$ mice per group. $\#p < 0.01$ scopolamine-induced amnesic effect (Student's t test, scopolamine versus saline control group); $***p < 0.001$ "scopolamine effect" different from saline group(s); and $^{oo}p < 0.01$ group comparisons (ANOVA, followed by post-hoc PLSD of Fisher)

opportunities (for review, see (Hughes 2004). Since its first description, this phenomenon has been ascribed to the operation of a variety of mechanisms and notably spatial working memory (Sarter et al. 1988). Otherwise, the inhibitory/passive avoidance task is a paradigm of associative learning that can be acquired in a single training session through the activation of several brain structures (such as the amygdala, hippocampus, and various cortical regions) (Izquierdo et al. 2006). This test is one of the most frequently used paradigms to study neurotransmission systems that underpin processes of learning and long-term reference memory. Besides, as previously demonstrated, the two types of memories targeted by these two behavioral tests required an increase in cholinergic activity (Micheau and Marighetto 2011).

With regard to spontaneous working memory, we demonstrated that in basal conditions and in the tested doses' range

neither RS-67333 nor galantamine, per se, were able to modify the spontaneous alternation behavior. Contrarily, under scopolamine treatment (i.e., 1 mg/kg s.c., 30 min before the test), the highest tested dose of each compound fully reversed the pharmacologically induced deficit (1 and 3 mg/kg respectively, for RS-67333 and galantamine). When concerned to 5-HT₄R activation, our results—at least those obtained in basal conditions—are in accordance with the literature (Lelong et al. 2003; Mohler et al. 2007). Indeed, except our previous work (Lelong et al. 2003), no other research group has specifically investigated the effects of RS-67333 or other 5-HT₄R agonist on scopolamine-induced deficits of spontaneous alternation. Thenceforth, in basal condition, despite differences in terms of behavioral apparatus (Y-maze or cross-maze), or in pharmacological ligands used (BIMU1, RS-67333, or VRX-03011, according to the study considered), the same timing for stimulation of 5-HT₄R (i.e., 30 min before the test) ensured the same result (Lelong et al. 2003; Mohler et al. 2007)—i.e., no modification of alternation behavior. Of note, even though RS-67333 did not modify the performances when compared to control animals, a significant dose-effect could be observed with a spontaneous alternation behavior that increased along with the escalating doses used. Furthermore, in a more demanding task and while it was ineffective in the no-delay test, VRX-03011 appeared able to enhance delayed spontaneous alternation performances (30 s delay condition) (Mohler et al. 2007). Overall, these results suggest a specific role of 5-HT₄R in the resolution of tasks either when it requires a high cognitive demand (Marchetti et al. 2000; Lelong et al. 2001; Lamirault and Simon 2001; Meneses 2007), or when it is performed under conditions of pharmacologically induced deficits. Interestingly, in the same high demanding task (delayed spontaneous alternation), galantamine (2.5 mg/kg) also demonstrated abilities to enhance alternation scores (Mohler et al. 2007), whereas it did not herein modify per se behavioral performances under basal conditions. Furthermore, we have also shown here that under scopolamine treatment, galantamine counterbalanced the deficit in spontaneous alternation behavior at a comparable dose than the one (3 mg/kg) used in the literature (Sweeney et al. 1988; Fishkin et al. 1993). Considering both our results and literature data, it appears that in basal condition either the behavioral test was not sensitive enough (despite tendency of 5-HT₄R agonist to increase alternation percentage) or the reinforcement of cholinergic activity was insufficient (whatever the pharmacological compound considered) to observe an improvement of animals' performance. Conversely, under scopolamine treatment, the highest dose of each compound was able to counterbalance the blockade of muscarinic receptors that hampered optimal behavioral performances.

As regard to passive avoidance task, the involvement of the cholinergic system has been nicely reviewed recently (Robinson et al. 2011), notably through a table summarizing available results coming from lesional or pharmacological

studies (using selective stimulation or blockage of muscarinic/nicotinic receptors), as well as experiments with transgenic mice. Physostigmine, administered alone just after the acquisition session, has demonstrated cognitive-enhancing properties (Wilcock et al. 2003). Herein, we demonstrated a similar property for galantamine, when administered before the acquisition session and not before the retrieval session. This result leads us to conclude that this compound selectively acts as an acquisition enhancer, without modifying the processes of retrieval. Interestingly, the fact that only the lowest dose (0.3 mg/kg) has demonstrated cognitive enhancer property was also found with physostigmine (Madjid et al. 2006). Such a result reinforces the hypothesis of an optimal level of cholinergic activation to amplify the acquisition process. Under scopolamine treatment, the properties of donepezil and physostigmine were briefly summarized by the reversal effect on scopolamine-induced deficit (Robinson et al. 2011). Herein, we demonstrated that galantamine showed beneficial effects only when administered before retrieval session (with the three tested doses). To our knowledge, no study has investigated the effect of galantamine on the two phases in the passive avoidance test (i.e., using thus same paradigm, timing, strain of animal, etc.), and only one work has demonstrated reversal of scopolamine-induced impairment when administered before acquisition session contrasting thus with ours (Bores et al. 1996). However, as mentioned, not only differences in species or strains used may account for such a discrepancy, but most of all timing and dose of administration, still reinforcing the hypothesis of an optimal level of cholinergic transmission to ascertain memory functions. For instance, in the work of Bores and colleagues (Bores et al. 1996), a beneficial effect of pre-acquisition administration of galantamine was observed at 0.1 and 0.3 but not 1 mg/kg. Additionally, the deficit was induced through an administration of dose of scopolamine 6-fold higher than in our experiments and that occurs 5 min before training session. All those differences could thus explain the existence or not of a functional antagonism of scopolamine-induced deficit.

Very few is known about the implication of the serotonergic system—and notably 5-HT₄R—in the passive avoidance test (Galeotti et al. 1998; Matsumoto et al. 2001; Micale et al. 2006; Lo et al. 2014). Herein, we demonstrated that whatever the targeted phase of memory process (acquisition or retention), RS-67333 per se did not modify rodents' performances (0.5, 1, 2 mg/kg) in basal conditions. In accordance with the literature, showing notably that even when administered centrally before the acquisition session, a 5-HT₄R agonist (SC-53116, 10 µg; i.c.v.) do not modify passive avoidance retention performances (Matsumoto et al. 2001), our data argue for a non-tonic influence of these receptors in cognitive processes. However, it is worth noting that blockade of 5-HT₄R immediately after termination of the acquisition session produces an amnesic effect (Galeotti et al. 1998). Besides, under scopolamine treatment, RS-67333 reverses the scopolamine-induced

deficits of acquisition and retention, respectively, at 2 mg/kg and from 1 mg/kg.

The main result of our present work is that the highest subactive tested doses of the two compounds, when associated together, act synergistically to reverse scopolamine-induced deficits in the spontaneous alternation and in the passive avoidance task, when administered before acquisition session (i.e., 0.5 and 1 mg/kg or 1 or 3 mg/kg for, respectively, RS-67333 and galantamine for the two tests). We were not able to study the effects of such an association on recall phase of long-term memory since all the tested doses of galantamine have been active. Nonetheless, comparing the doses required to counterbalance the scopolamine-induced deficits in either of the two behavioral tests, one might argue that long-term memory deficits appear more resistant than those of short-term memory for a same level of cholinergic alteration (as obtained with 1 mg/kg scopolamine). This could suggest that recovery of normal performances of long-term memory requires a more important displacement of scopolamine from muscarinic receptors through a higher increase of central acetylcholine concentrations, or that normal mnemonic processes in short-term memory (spontaneous alternation test) would require a lower occupation rate of muscarinic receptors by acetylcholine than the one required for long-term memory (passive avoidance test).

To date, except one study (Cachard-Chastel et al. 2008), pro-cognitive effects of combined treatments of 5-HT₄R agonists with one of the three AChE inhibitors on the market have mainly addressed recognition (Moser et al. 2002; Lamirault et al. 2003; Freret et al. 2012) or working memory (Mohler et al. 2007) in “normal” conditions, leading thus to the conclusion on the cognitive-enhancing capabilities of such an association. Herein, the interest of associating those two targets, notably within a single molecule (multiple targets drug ligand), has been demonstrated in a pharmacological model of cognitive impairments through the use of two behavioral tasks, respectively, involving short- and long-term memory processes. More precisely, we demonstrated that a combined treatment with sub-effective doses of an AChE inhibitor/allosteric modulator of nicotinic receptors and a 5-HT₄R agonist reverses the scopolamine-induced cognitive dysfunctions in a similar manner than higher doses of each compound. Such an observation should be linked to the clear advantage of a decreased amount and severity of (dose-dependent) secondary effects. Obviously, these data strengthen the interest of a Multiple-Medication-Therapy strategy in the treatment of the cognitive changes associated either with “normal” aging or Alzheimer's disease (Sobow 2010; Chopra et al. 2011). Additionally, given the growing interest of α 7-nAChR agonists to treat memory impairments either within the field of neurodegenerative or psychiatric diseases (De Jaco et al. 2016), and the known positive allosteric modulation role of galantamine, these results reassert the need for further

forthcoming pharmacomodulation works, taking galantamine as both a prototype and/or a good starting point.

Acknowledgments This work was supported by grants from the University of Caen.

References

- Anisman H (1975) Dissociation of disinhibitory effects of scopolamine: strain and task factors. *Pharmacol Biochem Behav* 3:613–618. doi:10.1016/0091-3057(75)90182-3
- Birks JS (2006) Cholinesterase inhibitors for Alzheimer's disease. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2006, Issue 1. Art. No.: CD005593. doi:10.1002/14651858.CD005593
- Bores GM, Huger FP, Petko W et al (1996) Pharmacological evaluation of novel Alzheimer's disease therapeutics: acetylcholinesterase inhibitors related to galanthamine. *J Pharmacol Exp Ther* 277:728–738
- Buccafusco JJ (2009) The revival of scopolamine reversal for the assessment of cognition-enhancing drugs. In: Buccafusco JJ (ed) *Methods of behavior analysis in neuroscience*, 2nd edn. Boca Raton, CRC Press/Taylor & Francis, p 1–9
- Cachard-Chastel M, Devers S, Siesic S et al (2008) Prucalopride and donepezil act synergistically to reverse scopolamine-induced memory deficit in C57Bl/6j mice. *Behav Brain Res* 187:455–461. doi:10.1016/j.bbr.2007.10.008
- Cavalli A, Bolognesi ML, Minarini A et al (2008) Multi-target-directed ligands to combat neurodegenerative diseases. *J Med Chem* 51:347–372. doi:10.1021/jm7009364
- Chopra K, Misra S, Kuhad A (2011) Current perspectives on pharmacotherapy of Alzheimer's disease. *Expert Opin Pharmacother* 12:335–350. doi:10.1517/14656566.2011.520702
- Da Silva Costa-Aze V, Quiedeville A, Boulouard M, Dauphin F (2012) 5-HT₆ receptor blockade differentially affects scopolamine-induced deficits of working memory, recognition memory and aversive learning in mice. *Psychopharmacology* 222:99–115. doi:10.1007/s00213-011-2627-3
- De Jaco A, Bernardini L, Rosati J, Tata AM (2016) Alpha-7 nicotinic receptors in nervous system disorders: from function to therapeutic perspectives. *Cent Nerv Syst Agents Med Chem* 17:3
- Fishkin RJ, Ince ES, Carlezon WA, Dunn RW (1993) D-cycloserine attenuates scopolamine-induced learning and memory deficits in rats. *Behav Neural Biol* 59:150–157
- Fontana DJ, Daniels SE, Wong EH et al (1997) The effects of novel, selective 5-hydroxytryptamine (5-HT)₄ receptor ligands in rat spatial navigation. *Neuropharmacology* 36:689–696
- Freret T, Bouet V, Quiedeville A et al (2012) Synergistic effect of acetylcholinesterase inhibition (donepezil) and 5-HT₄ receptor activation (RS67333) on object recognition in mice. *Behav Brain Res* 230:304–308. doi:10.1016/j.bbr.2012.02.012
- Galeotti N, Ghelardini C, Bartolini A (1998) Role of 5-HT₄ receptors in the mouse passive avoidance test. *J Pharmacol Exp Ther* 286:1115–1121
- Hughes RN (2004) The value of spontaneous alternation behavior (SAB) as a test of retention in pharmacological investigations of memory. *Neurosci Biobehav Rev* 28:497–505. doi:10.1016/j.neubiorev.2004.06.006
- Hughes RE, Nikolic K, Ramsay RR (2016) One for all? Hitting multiple Alzheimer's disease targets with one drug. *Front Neurosci* 10:177. doi:10.3389/fnins.2016.00177
- Izquierdo I, Bevilacqua LRM, Rossato JI et al (2006) Different molecular cascades in different sites of the brain control memory consolidation. *Trends Neurosci* 29:496–505. doi:10.1016/j.tins.2006.07.005
- Lamirault L, Simon H (2001) Enhancement of place and object recognition memory in young adult and old rats by RS 67333, a partial agonist of 5-HT₄ receptors. *Neuropharmacology* 41:844–853
- Lamirault L, Guillou C, Thal C, Simon H (2003) Combined treatment with galanthaminium bromide, a new cholinesterase inhibitor, and RS 67333, a partial agonist of 5-HT₄ receptors, enhances place and object recognition in young adult and old rats. *Prog Neuro-Psychopharmacol Biol Psychiatry* 27:185–195. doi:10.1016/S0278-5846(02)00351-2
- Lecoutey C, Hedou D, Freret T et al (2014) Design of donecopride, a dual serotonin subtype 4 receptor agonist/acetylcholinesterase inhibitor with potential interest for Alzheimer's disease treatment. *Proc Natl Acad Sci U S A* 111:E3825–E3830. doi:10.1073/pnas.1410315111
- Leger M, Paizanis E, Dzahini K et al (2015) Environmental enrichment duration differentially affects behavior and neuroplasticity in adult mice. *Cereb Cortex* 25:4048–4061. doi:10.1093/cercor/bhu119
- Lelong V, Dauphin F, Boulouard M (2001) RS 67333 and D-cycloserine accelerate learning acquisition in the rat. *Neuropharmacology* 41:517–522
- Lelong V, Lhonneur L, Dauphin F, Boulouard M (2003) BIMU 1 and RS 67333, two 5-HT₄ receptor agonists, modulate spontaneous alternation deficits induced by scopolamine in the mouse. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 367:621–628. doi:10.1007/s00210-003-0743-2
- Lezoualc'h F, Robert SJ (2003) The serotonin 5-HT₄ receptor and the amyloid precursor protein processing. *Exp Gerontol* 38:159–166
- Lleó A, Greenberg SM, Growdon JH (2006) Current pharmacotherapy for Alzheimer's disease. *Annu Rev Med* 57:513–533. doi:10.1146/annurev.med.57.121304.131442
- Lo AC, De Maeyer JH, Vermaercke B et al (2014) SSP-002392, a new 5-HT₄ receptor agonist, dose-dependently reverses scopolamine-induced learning and memory impairments in C57Bl/6 mice. *Neuropharmacology* 85:178–189. doi:10.1016/j.neuropharm.2014.05.013
- Madjid N, Tottie EE, Lüttgen M et al (2006) 5-Hydroxytryptamine 1A receptor blockade facilitates aversive learning in mice: interactions with cholinergic and glutamatergic mechanisms. *J Pharmacol Exp Ther* 316:581–591. doi:10.1124/jpet.105.092262
- Marchetti E, Dumuis A, Bockaert J et al (2000) Differential modulation of the 5-HT₄ receptor agonists and antagonist on rat learning and memory. *Neuropharmacology* 39:2017–2027
- Marchetti-Gauthier E, Roman FS, Dumuis A et al (1997) BIMU1 increases associative memory in rats by activating 5-HT₄ receptors. *Neuropharmacology* 36:697–706. doi:10.1016/S0028-3908(97)00058-0
- Matsumoto M, Togashi H, Mori K et al (2001) Evidence for involvement of central 5-HT₄ receptors in cholinergic function associated with cognitive processes: behavioral, electrophysiological, and neurochemical studies. *J Pharmacol Exp Ther* 296:676–682
- Meneses A (2007) Stimulation of 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B}, 5-HT_{2A/2C}, 5-HT₃ and 5-HT₄ receptors or 5-HT uptake inhibition: short- and long-term memory. *Behav Brain Res* 184:81–90. doi:10.1016/j.bbr.2007.06.026
- Micale V, Leggio GM, Mazzola C, Drago F (2006) Cognitive effects of SL65.0155, a serotonin 5-HT₄ receptor partial agonist, in animal models of amnesia. *Brain Res* 1121:207–215. doi:10.1016/j.brainres.2006.08.108
- Micheau J, Marighetto A (2011) Acetylcholine and memory: a long, complex and chaotic but still living relationship. *Behav Brain Res* 221:424–429. doi:10.1016/j.bbr.2010.11.052
- Mohler EG, Shacham S, Noiman S et al (2007) VRX-03011, a novel 5-HT₄ agonist, enhances memory and hippocampal acetylcholine efflux. *Neuropharmacology* 53:563–573. doi:10.1016/j.neuropharm.2007.06.016
- Moser PC, Bergis OE, Jegham S et al (2002) SL65.0155, a novel 5-hydroxytryptamine(4) receptor partial agonist with potent

- cognition-enhancing properties. *J Pharmacol Exp Ther* 302:731–741. doi:10.1124/jpet.102.034249
- Pepcu G, Giovannini MG (2009) Cholinesterase inhibitors and beyond. *Curr Alzheimer res* 6:86–96
- Perry EK, Blessed G, Tomlinson BE et al (1981) Neurochemical activities in human temporal lobe related to aging and Alzheimer-type changes. *Neurobiol Aging* 2:251–256
- Robert SJ, Lezoualc'h F (2008) Distinct functional effects of human 5-HT4 receptor isoforms on beta-amyloid secretion. *Neurodegener Dis* 5:163–165. doi:10.1159/000113691
- Robinson L, Platt B, Riedel G (2011) Involvement of the cholinergic system in conditioning and perceptual memory. *Behav Brain Res* 221:443–465. doi:10.1016/j.bbr.2011.01.055
- Rochais C, Lecoutey C, Gaven F et al (2015) Novel multitarget-directed ligands (MTDLs) with acetylcholinesterase (AChE) inhibitory and serotonergic subtype 4 receptor (5-HT4R) agonist activities as potential agents against Alzheimer's disease: the design of donecopride. *J Med Chem* 58:3172–3187. doi:10.1021/acs.jmedchem.5b00115
- Sarter M, Bodewitz G, Stephens DN (1988) Attenuation of scopolamine-induced impairment of spontaneous alternation behaviour by antagonist but not inverse agonist and agonist beta-carbolines. *Psychopharmacology* 94:491–495
- Sobow T (2010) Combination treatments in Alzheimer's disease: risks and benefits. *Expert Rev Neurother* 10:693–702. doi:10.1586/em.10.43
- Sweeney JE, Höhmann CF, Moran TH, Coyle JT (1988) A long-acting cholinesterase inhibitor reverses spatial memory deficits in mice. *Pharmacol Biochem Behav* 31:141–147
- Sweeney JE, Puttfarcken PS, Coyle JT (1989) Galanthamine, an acetylcholinesterase inhibitor: a time course of the effects on performance and neurochemical parameters in mice. *Pharmacol Biochem Behav* 34:129–137
- Sweeney JE, Bachman ES, Coyle JT (1990) Effects of different doses of galanthamine, a long-acting acetylcholinesterase inhibitor, on memory in mice. *Psychopharmacology* 102:191–200
- Wilcock G, Howe I, Coles H et al (2003) A long-term comparison of galantamine and donepezil in the treatment of Alzheimer's disease. *Drugs Aging* 20:777–789
- Woodruff-Pak DS, Lander C, Geerts H (2002) Nicotinic cholinergic modulation: galantamine as a prototype. *CNS Drug Rev* 8:405–426

II. Etude des effets de la modulation de l'activité des récepteurs 5-HT₄ sur la plasticité synaptique mesurée sur tranches d'hippocampe chez la souris jeune NMRI: implication du système GABAergique.

1. Objectifs

A l'heure actuelle, les données de la littérature concernant les effets de la modulation de l'activité des 5-HT₄R sur la plasticité synaptique hippocampique dans la région CA1 sont contradictoires. En effet, les deux seules études menées sur le sujet rapportent suite à l'activation des 5-HT₄R, soit une augmentation de la LTP (Matsumoto et al., 2001), soit une absence d'effet (Kemp and Manahan-Vaughan, 2005). Ces deux études rapportent en revanche toutes deux une absence d'effet du blocage des 5-HT₄R sur la LTP. En ce qui concerne la LTD, elle n'a été étudiée dans ce contexte que par Kemp et Manahan-Vaughan, qui rapportent un blocage de la LTD par l'activation des 5-HT₄R et une facilitation de celle-ci lors du blocage de ces récepteurs.

Devant ces résultats contradictoires concernant la LTP, nous avons décidé de déterminer les effets de la modulation de l'activité des 5-HT₄R sur l'activité et la plasticité synaptique hippocampique de la région CA1 dans un modèle *ex vivo*. En effet, les deux études existantes avaient été réalisées *in vivo*, des conditions qui ne permettent pas un contrôle strict de l'environnement immédiat de la zone à étudier, ce qui favorise une certaine variabilité. Or dans le modèle de la coupe transversale d'hippocampe, tous les paramètres environnementaux (température, pH du milieu, oxygénation...) sont contrôlés, ce qui, combiné à la simplicité de placement des électrodes, permet des mesures reproductibles.

2. Article 2: «Interplay between GABAergic system and 5-HT₄ receptors in the synaptic plasticity of hippocampal CA1 region »

Pierre Lecouflet, Jean-Marie Billard, Brigitte Pottier, Elie Brunet, Pascale Schumann-Bard, Thomas Freret

Article en préparation

Interplay between GABAergic system and 5-HT₄ receptors in the synaptic plasticity of hippocampal CA1 region

Pierre Lecouflet (Dpharm-PhD student)¹, Jean-Marie Billard (PhD)¹, Brigitte Pottier² (PhD), Pascale Schumann-Bard (DPharm-PhD)¹, Thomas Freret (PhD)^{1*}

¹Normandie Univ, UNICAEN, INSERM, COMETE, 14000 Caen, France

²Paris sud Univ, PSU, CNRS Biophotonics and neuronal networks 92290 Chatenay-Malabry, France

* Corresponding author: Freret Thomas

Address: COMETE UMR-S 1075 INSERM-Unicaen, Université de Caen Normandie, UFR SANTE, Faculté de Pharmacie, Bâtiment GMPC, Campus CYCERON-GANIL, Bd Henri Becquerel, CS 14032 Caen Cedex 5, France

Telephone number: +33 2 31 56 68 77

E-mail address: thomas.freret@unicaen.fr

Running title: 5-HT₄R and hippocampal synaptic plasticity

Abstract:

The type 4 serotonin receptor (5-HT₄R) is thought to be highly involved in cognitive process such as learning and memory. Indeed, behavioral studies showed a beneficial effect of its activation on memory performances, and conversely reported memory impairments by its blockade. Besides, electrophysiological studies have demonstrated that its modulation can modify hippocampal synaptic plasticity. However, the mechanisms involved in this regulation remains elusive although some studies points toward an involvement of the GABAergic system. To shed light on the mechanism at work, we investigated through two different electrophysiological protocols, the effects of RS67333, a 5HT₄R agonist, on long-term potentiation (LTP) within CA1 area. While high-frequency stimulation (HFS) induced LTP remained unaffected, magnitude of LTP induced by theta-burst stimulation (TBS) was significantly decreased. This effect was selective of 5-HT₄R activation since it was blocked in the presence of RS39604 (a selective 5-HT₄R antagonist). Besides, 5-HT₄R-induced decrease of LTP was fully abolished through application of bicuculline, a GABA_AR antagonist; hence, demonstrating involvement of GABA neurotransmission. Furthermore, we demonstrated that application of a GABA_BR antagonist, CGP55845, mimicked the effect of 5-HT₄R activation. Finally, concurrent application of CGP55845 and RS67333 did not elicit further inhibition of LTP than what was observed for each of these compounds alone. Altogether, these data show for the first time an effect of 5-HT₄R activation on TBS-induced LTP and establish a relationship between 5-HT₄R and GABA_BR in the regulation of CA1 area LTP.

Introduction

Serotonin type 4 receptor (5-HT₄R) has gained an increasing interest in the field of therapeutic strategy development for Alzheimer Disease (AD). Indeed, numerous behavioral studies have shown beneficial effect of pharmacological activation of 5-HT₄R (either acute or chronic) on memory and learning functions^{1,2} (for review ³). In the field of AD, 5-HT₄R is upregulated through early and mild stages of the disease ⁴, in response to the observed early degeneration of the serotonergic system ⁵. Such modification should strengthen the effect of a pharmacological intervention on this receptor. However, activation of 5-HT₄R, both *in vivo* and *in vitro* ⁶⁻⁸, has shown disease modifying effect, inhibiting the amyloid protein precursor processing into A β in favor of sAPP α pathway. Hence, a decrease of amyloid load as well as of neuro-inflammation markers, have recently been described in a transgenic mouse model of AD following a chronic treatment with RS67333, a 5-HT₄R agonist ⁹. Additionally, this disease modifying effect was associated with decreased memory impairments ^{9,10}. Conversely, blockade of these receptors leads to learning and memory impairments.

In line with its cerebral expression (notably within the hippocampus) ¹¹, behavioral studies investigating the effect of 5-HT₄R modulation, have focused on hippocampus-dependent memory tasks. Through optogenetic technique, a recent study demonstrated a direct influence of 5-HT₄R modulation within the CA1 area of the hippocampus on spatial memory performances ¹². Indeed, they demonstrated that optogenetic activation of serotonergic fibers in this area was associated with an increase of spatial memory performances. Quite interestingly, this activation of serotonergic fibers also elicited synaptic potentiation, which was blocked by 5-HT₄R antagonist. Synaptic plasticity, an activity-induced change in the weight of a synapse, is widely recognized as a cellular mechanism necessary to store memory in the brain ^{13,14}. Within the hippocampus, long term memory is closely linked to durable forms of synaptic plasticity, namely the long term potentiation (LTP) ^{15,16} and the long term depression (LTD) ^{15,17}. To date, literature data argued for a complex regulatory role of 5-HT₄R on the hippocampal synaptic plasticity. Indeed, its modulation affect LTP and LTD in different ways depending on the subzone considered ³. In the dentate gyrus (DG) of freely moving rats, 5-HT₄R activation dose-dependently inhibits LTP ¹⁸ and blocks LTD ¹⁹. Conversely, its blockade facilitates LTD, but does not affect LTP ¹⁹. In the CA3 area, 5-HT₄R activation inhibits both LTP and LTD, while its blockade facilitates both form of plasticity *in vivo* ¹⁹. In the subiculum, through *ex vivo* investigations, it has been shown that LTP is unaffected by either blockage or activation of 5-HT₄R, while LTD is inhibited by blockade and conversely enhanced by activation of this

receptor ²⁰. Regarding the CA1 area, things are a bit more complex as two different studies conducted *in vivo* have led to conflicting results. One researchers' group showed that activation of 5-HT₄R enhances LTP ²¹, while the other one reported no effect on LTP but an inhibited LTD ²². In any case, it seems that blockage of 5-HT₄R neither affects LTP nor LTD in CA1 area ²².

To summarize the previously described results, *i.e.* looking at hippocampal formation as a whole, activation of 5-HT₄R seems to favor the induction of LTP over LTD. So far misunderstood, the involved neurobiological processes should implied in certain way the GABAergic system. Indeed, activation of 5-HT₄R has been shown to depolarize the - presumed inhibitory - hilar neurons within the DG; an observation which was associated with enhancement of GABA_A and GABA_B receptor-mediated hyperpolarization of DG granule cells ²³. Besides, if application of a 5-HT₄R agonist did not change spontaneous GABA release from hippocampal slices, a bidirectional modification was observed when the release was electrically evoked, *i.e.* increased and reduced at respectively low and high concentration of 5-HT₄R agonist ²⁴. Finally, 5-HT₄R has also been reported to regulate GABA_a receptors in an activity-dependent manner in the cortex ²⁵. Therefore, effects of 5-HT₄R activation appear to rely, at least in part, on excitatory state of GABAergic neurons.

The present study aims to better understand the interplay of 5-HT₄R with GABA neurotransmission within the modulatory effect of hippocampal Schaeffer's collateral-CA1 synaptic plasticity. To this end, two different stimulation protocols for LTP induction, with different pattern of electrical stimulations and thus a different sensibility to GABAergic influences, were performed.

Materials and methods:

I. Animals

Experiments were performed on adult (10-14 weeks old) NMRI male mice (Janvier Labs, France), weighting 25–30g. Mice were group housed of 8 within standard polycarbonate cages, with food and water *ad libitum* and maintained in a regulated environment ($22\pm 1^\circ\text{C}$) under 12h reversed light/dark cycle (light on from 8pm to 8am). All experiments complied with the European Community guidelines and the French law on animal experimentation.

II. Pharmacology

All drugs used were perfused at least 15min before any recording to ensure full diffusion in the tissues and full expression of their effects. The selective 5-HT₄R agonist RS67333²⁶ (1-(4-Amino-5-chloro-2-methoxyphenyl)-3-[1-butyl-4-piperidiny]-1-propanone hydrochloride) and the selective 5-HT₄R antagonist RS39604²⁷ (1-[4-Amino-5-chloro-2-(3,5-dimethoxyphenyl) methyloxy]-3-[1-[2-methylsulphonylamino]ethyl]piperidin-4-yl]propan-1-one hydrochloride) were used at, respectively 1 or 10 μM and 1 μM (based on these compounds pharmacological profiles); and were both purchased from Tocris biosciences®. NMDA (N-methyl-d-aspartate) and non-NMDA receptor antagonists (respectively, APV (2-amino-5-phosphonopentanoic acid) and NBQX (2,3-Dioxo-6-nitro-1,2,3,4-tetrahydrobenzo [f]quinoxaline-7-sulfonamide) were purchased from Sigma-Aldrich®. Likewise, GABA_A receptor antagonist bicuculline methiodide ([R-(R*,S*)]-5-(6,8-Dihydro-8-oxofuro[3,4-e]-1,3-benzodioxol-6-yl)-5,6,7,8-tetrahydro-6,6-dimethyl-1,3-dioxolo[4,5-g] isoquinolinium iodide, 10 μM) and GABA_B receptor antagonist CGP55845 ((2S)-3-[[1S)-1-(3,4-Dichlorophenyl)ethyl]amino-2-hydroxypropyl] (phenylmethyl) phosphinic acid) were obtained from the same distributor.

III. Extra-cellular recordings

Mice were deeply anesthetized (isoflurane 5%) and decapitated. Brain was extracted from the skull and submerged half a minute in ice-cold artificial cerebrospinal fluid (aCSF). The aCSF composition was as follows (in mM): NaCl 124; KCl 3.5; MgSO₄ 1.5; NaH₂PO₄ 1.2; CaCl₂ 2.5; NaHCO₃ 26; D-glucose 12. The solution was bubbled with O₂/CO₂ carbogen gas mixture (95%/5%) to keep the pH around 7.4. Hippocampi were removed from each hemisphere and cut in 400 μm thickness transverse slices with a tissue chopper (McIlwain®).

Slices were then deposited in a holding chamber containing aCSF at 28°C at least half an hour to recover from the slicing.

For recordings, slices were placed between two nylon meshes completely submerged in a recording chamber and perfused with a constant flow rate of 2mL/min of a bubbled aCSF at room temperature. All drugs were applied *via* direct bath perfusion. Synaptic responses of CA1 pyramidal neurons were elicited by stimulation of the Schaffer collateral. Stimulation pulses (0.02msec duration) triggered by a computer controlled by the WinLTP® software²⁸ were delivered by a stimulus isolation unit through a bipolar electrode. Responses were recorded with glass micropipettes filled with 2M NaCl placed in the apical dendritic layer of the CA1 area.

For LTP recording, stimulation pulses were delivered every 10sec and field excitatory post-synaptic potentials (fEPSP) were recorded. The mean slope of 3 successive fEPSP was considered as a data point and electrical intensity of the pulses was set to obtain a baseline fEPSP slope of 0.1mV/s. After 15min stable recordings for baseline, either one or the other of the two protocols of different conditioning stimulus was applied to induce long-term potentiation (LTP). High Frequency Stimulation protocol (HFS) consisted of a 100Hz tetanus during 1sec (HFS). Theta Burst Stimulation protocol (TBS) consisted of 4 repetitions (0.1Hz) of 5 burst separated by 200ms (5Hz). Each burst was constituted of 4 pulses at 100Hz. HFS and TBS protocols impact network activity differently. Indeed, the first elicits a strongest excitatory input, while the second requires specific GABAergic regulation through the GABA_B receptors to induce LTP^{29,30}. Whatever the protocol considered, baseline recording was resume for 60min after the conditioning stimulus. Therefore, the last 15min recording, reflecting LTP magnitude, was used for statistical analysis. Additionally, for TBS protocol, arear under curve (AUC) of the two first bursts responses were calculated. We then evaluated the potentiation of the second burst corresponding to AUC2/AUC1, which reflect the efficacy of the TBS.

For NMDA receptors activity recordings, measurements were made in a low magnesium aCSF (0.1mM) in the presence of NBQX (10µM). Stimulations were delivered as for the LTP baseline (every 10s with a data point recorded based on the average of three successive responses) and fEPSP and fiber volley (FV) slopes were recorded at increasing stimulus intensity (300 to 500µA). To evaluate the level of receptor activation, an index of synaptic efficacy (I_{SE}) corresponding to the fEPSP slope/FV slope ratio was plotted against stimulus intensity. Input/output (I/O) curves were thus constructed in order to assess changes in NMDA receptor activity after 5-HT₄R activation or blockade.

IV. Patch-clamp recordings

Whole-cell patch-clamp recordings of CA1 pyramidal neurons were performed at room temperature from acute hippocampal slices perfused with aCSF, using borosilicate patch pipettes (5 M Ω) filled with (in mM) CsCH₃O₃S 140, CsCl 6, MgCl₂ 2, HEPES 10, EGTA 1,1, QX-314 5, ATP 4, (pH 7.3; 290mosM). Membrane currents were acquired and filtered at 2Hz using an AxoPatch 1-D amplifier (Axon Instruments). On-line acquisitions and analysis were performed using WinLTP software²⁸. Series resistance was compensated and regularly monitored throughout the experiment and recordings showing unstable (>20%) series resistance were rejected.

GABAR-dependent synaptic current (IPSC) was evoked at 0.07Hz by electrical stimulation of the Schaffer collateral/commissural pathway using a bipolar electrode located in the *stratum radiatum*, in the presence of extracellular NBQX (10 μ M) and APV (50 μ M). RS67333 (10 μ M) was added during 30min and then washed out. A continuous recording was performed, from the 10min preceding application of RS67333 (baseline measurement) until the 10min following wash out.

V. Statistical analyses

Data are expressed as mean \pm SEM. R[®] software was used for statistical analysis and p-value lesser than 0.05 was considered significant. Analysis of variance (ANOVA) was performed; followed, when necessary, by post-hoc multiple comparison test with a Bonferroni-Dunn correction factor to investigate inter-group differences.

Results:

- I. 5-HT₄R agonist, RS67333, did not affect HFS-induced LTP but inhibited TBS-induced LTP.

When using HFS protocol, ANOVA with repeated measurements of mean fEPSP slopes during the last 15min showed no group effect ($F_{(1,26)}=0.022$, $p=0.8825$), no time effect ($F_{(1,29)}=1.375$, $p=0.0915$) and no group x time interaction ($F_{(1,29)}=1.209$, $p=0.2084$) (figure 1A). Thus, 10 μ M of RS67333 did not change the stable and robust tetanus-induced LTP observed in control condition (149.9 \pm 16% and 146 \pm 13% of baseline, respectively).

Conversely, when using the TBS protocol, ANOVA revealed a group effect ($F_{(2,33)}=5.937$, $p=0.0063$), a time effect ($F_{(2,29)}=1.956$, $p=0.0019$), but no group x time interaction ($F_{(2,58)}=1.198$, $p=0.1530$) (figure 1B and 1D). Whereas a stable LTP was observed in control condition (133 \pm 5% of baseline), the magnitude of LTP was significantly decreased in RS67333 treated hippocampal slices (whatever the concentration considered: 118 \pm 3% and 113 \pm 4%, for respectively 1 and 10 μ M). Post-hoc analysis with Bonferroni-Dunn correction revealed a significant difference between the control slices group and RS67333-treated slices groups ($p=0.0121$ and 0.0041 for 1 or 10 μ M, respectively), but no difference between both RS67333-treated slices groups ($p=0.5382$) (figure 1D).

- II. Blockade of 5-HT₄R suppressed RS67333 effects on TBS-induced LTP

ANOVA with repeated measurements showed no group effect ($F_{(2,31)}=0.145$, $p=0.8655$), but a time effect ($F_{(2,29)}=2.167$, $p=0.0004$), and a group x time interaction ($F_{(2,58)}=1.577$, $p=0.0047$) (figure 1C). 5-HT₄R antagonist, RS39604, alone had no effect on LTP compared to control group (128 \pm 10% and 128 \pm 11% of baseline, respectively), and blocked the RS67333-induced decrease magnitude of LTP (129 \pm 9% of baseline for RS67333 + RS39604). Thus, this result demonstrated that RS67333 inhibits TBS-induced LTP in the CA1 area of hippocampal slices through specific activation of 5-HT₄R.

- III. Blockade of GABA_A receptors suppressed the effect of 5-HT₄R activation on LTP

ANOVA with repeated measurements showed no group effect ($F_{(2,40)}=0.180$, $p=0.8356$), no time effect ($F_{(2,29)}=0.958$, $p=0.5299$) and no group x time interaction ($F_{(2,58)}=0.816$, $p=0.8365$) (figure 2). Accordingly, TBS-induced LTP was similar with or without bicuculline (10 μ M) (128 \pm 5% and 132 \pm 8% of baseline, respectively) and not different from LTP observed

in RS67333 plus bicuculline treated hippocampal slices ($131\pm 6\%$ of baseline). This last result suggested that the decrease magnitude of TBS-induced LTP observed with 5-HT₄R activation acts through activation of GABA_A receptors.

IV. Activation of 5-HT₄R had no direct effect on GABA_A receptor

ANOVA of the time course of evoked IPSC with or without RS67333 revealed neither group effect ($F_{(2,7)}=2.468$, $p=0.1544$), nor time effect ($F_{(29,203)}=1.355$, $p=0.1172$), or group x time interaction ($F_{(58,203)}=1.158$, $p=0.2292$). Here, we showed no effect of 5-HT₄R activation on evoked IPSC, their amplitude staying constant before and after addition of RS67333 in the recording medium, as well as after washout (figure 3). Therefore, we demonstrated that 5-HT₄R activation did not directly enhance inhibitory transmission toward CA1 pyramidal neurons.

V. Activation of 5-HT₄R increased NMDAR responses

As regards to dose effect of RS67333 on NMDAR responses, two-way ANOVA with repeated measurements showed a group effect ($F_{(2,20)}=3.581$, $p=0.0468$), but neither stimulation intensity effect ($F_{(2,20)}=0.716$, $p=0.501$), nor group x stimulation intensity interaction ($F_{(4,40)}=0.542$, $p=0.706$) (figure 4A). Post-hoc analysis revealed a significant difference between control slices group and RS67333-treated slices groups (whatever the dose considered $p=0.00011$ and $p=0.01888$, for 1 and $10\mu\text{M}$ respectively).

VI. Activation of 5-HT₄R decreased the potentiation of the second burst

One-way ANOVA of the potentiation of the second burst showed a treatment effect ($F_{(1,16)}=4.826$, $p=0.0431$) (figure 4B), demonstrating that RS67333 at $10\mu\text{M}$ decreased the efficiency of the TBS protocol.

VII. GABA_B receptors blockade mimicked and occluded 5-HT₄R activation effect on LTP.

ANOVA with repeated measurements showed a group effect ($F_{(3,36)}=3.950$, $p=0.0156$), a time effect ($F_{(3,29)}=1.626$, $p=0.0199$), and a group x time interaction ($F_{(3,87)}=1.363$, $p=0.182$) (figure 5). Compared to control slices group ($134.87\pm 5.07\%$ of baseline), magnitude of TBS-induced LTP was significantly decreased in slices infused with RS67333 alone ($10\mu\text{M}$, $p=0.0183$) and non-significantly decreased with CPG55645 alone ($1\mu\text{M}$, a selective GABA_B receptor antagonist, $p=0.078$) or combination of both compounds ($p=0.0966$) ($113,290\pm 4.55\%$, $116.98\pm 8.03\%$ and $115.87\pm 8.34\%$ of baseline, respectively). Furthermore, all three treated groups were not different from each other ($p=1$). Thus, the concurrent 5-HT₄R activation and

GABA_BR blockade did not produce a stronger impairment of TBS-induced LTP than modulation of each of these receptors taken apart.

Discussion:

We demonstrated for the first time that 5-HT₄R activation on LTP in CA1 field of hippocampus led to highly contrasting effects, according to the conditioning protocol used. Thus, through *ex vivo* experiments, we observed either an unaffected LTP or a conversely highly decreased potentiation (HFS *versus* TBS). As discussed later, the in-between key difference of the two conditioning stimulation protocols stands in the recruitment of GABA neurotransmission.

The classic HFS conditioning protocol (100Hz tetanus during 1sec) is less sensitive to GABA neurotransmission variation than TBS protocol³¹. While using such a protocol, we did not observe an effect of 5-HT₄R activation on the magnitude of CA1 hippocampal LTP. Interestingly, this first observation is consistent with an existing *in vivo* study conducted in the CA1 area of freely moving rats²². In this study, Manahan-Vaughan's team used a similar (100Hz tetanus during 1sec) induction protocol but repeated it 4 times. On the contrary, in the sole other study conducted *in vivo* in the same area by the group of Matsumoto, contrasting results were reported²¹. Comparisons of this last work to either our study or Manahan-Vaughan team's one are difficult to draw. Indeed, Matsumoto and collaborators have recorded population spike (PS) amplitude (somatic responses), whereas we, like Manahan-Vaughan's team, recorded fEPSP slope (dendritic response). Existing data indicates that 5-HT₄R activation-induced changes in fEPSP slope correspond with changes in PS amplitude. But these data were collected in the dentate gyrus^{18,19} and in the CA3 area¹⁹. Thus, we cannot rule out the possibility that fEPSP slope and PS amplitude respond differently to 5-HT₄R activation in the CA1 area. Furthermore, the authors observed that 5-HT₄R activation induced an increased potentiation with an entirely different LTP induction protocol (5 trains at 1Hz, each composed of 8 pulses at 400Hz).

Conversely, TBS protocol is viewed as a more physiological pattern of stimulation³¹. Indeed, TBS mimics two particularities of hippocampal physiology: the complex spike discharges of pyramidal neurons³² and the rhythmic modulation of their excitability during theta rhythm³³. Hippocampal theta rhythm was originally described as the arousal rhythm³⁴ and was associated with motor behavior³⁵, and the updating of the cognitive spatial map through hippocampal place cells³⁶, as well as with memory and learning processes^{37,38}. Numerous studies have shown that TBS-induced LTP is more susceptible than HFS-induced LTP³¹ to various experimental manipulations, many of which also lead to memory deficits. When TBS

protocol was used herein, activation of 5-HT₄R led to a significant decrease of the magnitude of LTP. This is the first time that effect such an effect of 5-HT₄R activation on TBS-induced LTP is reported. Nonetheless, in 1992, before the discovery of 5-HT₄R, one *ex vivo* experiment had investigated the effect of serotonin application on rat hippocampal slices³⁹. In this study, Corradetti and collaborators reported no change of HFS-induced LTP (consistent with our previously discussed result), and a decrease of primed burst-induced LTP³⁵. Of note, primed burst protocol in this study shares close properties with the TBS protocol we used, in such a way that a similar time interval was used between priming pulse and the following burst (4 pulses at 100Hz). Hence, in line with our result, one might hypothesize that impairments of LTP observed with serotonin application rely on activation of 5-HT₄R. At that time, effects on the primed burst induced LTP was attributed to activation of 5-HT_{1a} and 5-HT₃ receptors, the former hyperpolarizing pyramidal cells³⁶ while the latter enhancing GABA release⁴¹. To make certain the action specific of 5-HT₄R on the observed decrease magnitude of TBS-induced LTP, we used a highly selective antagonist, RS39604. This antagonist affords a 1000 time higher affinity for type 4 receptor of serotonin rather than both 1A and 3²⁷. Whereas RS39604 had no effect alone, it blocked RS67333-induced decrease magnitude of TBS-induced LTP. Furthermore, the similar effects observed at 1 and 10µM of RS67333 also argued in favor of a specific involvement of 5-HT₄R. Indeed, considering the pharmacological profile of RS67333, if 5-HT_{1a}R or 5-HT₃R (pK_i=6.4 for both receptors) were involved in the decrease of LTP magnitude observed at 10µM (~90% receptor occupancy), one would have obtained different results for the 1µM dose (~50% receptor occupancy).

As regards to the different effects of serotonin application according to the protocol they used, Corradetti's team argued at that time that the HFS represents a so powerful type of afferent stimulation that it overcomes the inhibitory action of 5-HT on LTP induction. Herein, we tried to explore further the mechanism at work and first investigated whether a direct effect of 5-HT₄R activation on either AMPAR or NMDAR activity was involved. On basal synaptic transmission (relying on AMPAR activity), we reported no effect of RS67333 at 1µM, but a small increase at 10µM (supplementary data). However, modification of basal transmission is unlikely to be involved on the reported decrease of TBS-induced LTP since it was similar with the two doses of RS67333 (1 and 10µM). Moreover, RS39604 failed to block RS67333-induced increase in basal transmission, suggesting that this effect may not involve 5-HT₄R. As regards to NMDAR, while a decrease of their activity would have explained impairments of LTP, RS67333 induced an increase in NMDAR activity (recorded in low Mg²⁺ medium with a

blockade of non-NMDA receptors). Furthermore, HFS-induced LTP also required NMDAR and was unaffected by RS67333. Hence, RS67333-induced increase of NMDAR activity did not account for the reported effect on TBS-induced LTP.

As stated earlier in the introduction, several studies have advanced converging arguments for a role of GABAergic transmission in the modulatory role of 5-HT₄R on synaptic plasticity²³⁻²⁵. Here, we reported that 5-HT₄R activation did not change the amplitude of evoked IPSC at low frequency. Consistent with the absence of modification after application of a 5-HT₄R agonist of endogenous GABA release from hippocampal slices at rest²⁴, this result suggest that 5-HT₄R activation did not modify basal GABA neurons excitability. Contrarily, effects of 5-HT₄R activation on TBS-induced LTP appeared to mainly rely on modifications of GABAergic functioning. Indeed, we observed that 1) the expected potentiation of the second burst of the conditioning stimulus was abolished with 5-HT₄R agonist; 2) GABA_AR blockade suppressed impairments induced by 5-HT₄R activation; 3) GABA_BR blockade alone induced similar impairments of synaptic plasticity than 5-HT₄R activation 4) concomitant GABA_BR blockade with 5-HT₄R activation did not produce additive effect. Taken together, these results argue for a major interplay of 5-HT₄R activation with GABAergic functioning, notably during the conditioning stimulations of TBS protocol. Indeed, one of the property of TBS protocol relies on the increase of action potential firing across bursts repetition, which results from cumulative loss of synaptic inhibition³¹. Post-burst hyperpolarization – caused by synaptic activation of both GABA_AR and GABA_BR – being more or less suppressed across bursts, according to the inter-burst interval. Of note, the loss of inhibition has been described to most rapidly occur with a 200msec burst interval (as used here)⁴². Furthermore, this loss of inhibition was confirmed in our experiments, since no change of TBS-induced LTP was observed in the presence or the absence of the postsynaptic GABA_AR antagonist, bicuculline. When we investigated the effect of RS67333, we did not observe burst potentiation across conditioning stimuli, suggesting that 5-HT₄R activation has prevented TBS protocol-induced inhibition of GABAergic neurotransmission. Therefore, we investigated the GABA_AR neurotransmission and demonstrated that co-application of RS67333 with a selective GABA_AR antagonist fully blocked effect of 5-HT₄R activation on TBS-induced LTP. This result demonstrated that 5-HT₄R activation required an activation of GABA_AR to impair the TBS-induced LTP. As regards to GABA_BR neurotransmission, we reported that blockade of GABA_BR, by CGP55845, induced similar impairments of TBS-induced LTP than 5-HT₄R activation. GABA_BR are both pre- and post-synaptically localized and depending on this localization, their blockade exert

different effects on TBS or HFS-induced LTP. This was demonstrated by a study using an antagonist of GABA_BR with a different affinity for pre and post-synaptic receptors (i.e. high affinity for post-synaptic receptors and low affinity for pre-synaptic receptors)⁴³. Blockade of post-synaptic GABA_BR enhanced HFS-induced LTP as well as TBS-induced LTP. Concurrent blockade of both pre and post-synaptic receptors by a higher concentration of antagonist had no further effect on HFS-induced LTP (i.e. it was still potentiated) demonstrating that HFS-induced LTP is unaffected by pre-synaptic GABA_BR. Conversely, blockade of both receptors impaired TBS-induced LTP. As stated before, TBS induces a cumulative loss of synaptic inhibition³¹. This phenomenon, that lasts for about a second⁴⁴, relies on the activation of presynaptic GABA_B auto-receptors to disinhibit the postsynaptic element^{45,46} and decrease GABA release allowing sufficient depolarization and hence the activation of NMDA receptor leading to LTP. Hence, blockade of all GABA_BR reactivates GABAergic transmission during TBS through GABA_AR (and post-synaptic GABA_BR if they are not blocked); therefore impairing TBS-induced LTP.

As we observed an impairment in TBS-induced LTP but no effect on HFS-induced LTP with RS67333, we hypothesize that 5-HT₄R activation somehow alters the role of GABA_B auto-receptors in the GABAergic neurotransmission. The fact that concurrent action of RS67333 and CGP55845 produced the same effect than each compounds alone further support this hypothesis, suggesting an overlapping mechanism of action.

Taken altogether, our results suggest that activation of 5-HT₄R induced a preserved inhibitory neurotransmission during a TBS protocol induced LTP. Consecutively, the preservation of GABA release (or absence of loss of inhibition) has enabled an activation of postsynaptic GABA_AR neurotransmission. In turn, this has decreased the excitability of Schaffer collateral-CA1 glutamatergic synapse eliciting impairments of TBS-induced LTP.

This observation leads to put in question the exact nature of the negative regulation 5-HT₄Rs exert on GABA_B auto-receptors action in GABAergic neurotransmission. A first possibility is an indirect action through the release of other neurotransmitters, such as the acetylcholine whose receptors are presents on interneurons in the CA1²⁴. A second one is a direct effect through 5-HT₄R located on GABAergic interneurons. However, such mechanisms would require the presence of 5-HT₄R on GABAergic interneurons which is not consistent with existing data as the expression of 5-HT₄R mRNA does not seem to co-localize with the Gad-65 mRNA (a marker of GABAergic neurons) in the hippocampus⁴⁹.

The precise elucidation of the mechanisms by which 5-HT₄Rs exert their regulation on synaptic plasticity still needs a lot of work. However, this study points toward the exploration of the regulation of the inhibitory system by GABA_B auto-receptors and their role in the hippocampal network. Furthermore, our results are a reminder of the usefulness of the theta-burst stimulation protocol to induce LTP in the context of learning and memory, both for its physiological relevance as well as for its sensibility to subtle modulations.

Funding and Disclosure:

This work was supported by Normandy University and Normandy Regional Health Agency.

The authors declare no conflict of interest.

References:

1. Galeotti, N., Ghelardini, C. & Bartolini, A. Role of 5-HT₄ receptors in the mouse passive avoidance test. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **286**, 1115–1121 (1998).
2. Marchetti, E., Dumuis, A., Bockaert, J., Soumireu-Mourat, B. & Roman, F. S. Differential modulation of the 5-HT₄ receptor agonists and antagonist on rat learning and memory. *Neuropharmacology* **39**, 2017–2027 (2000).
3. Hagen, H. & Manahan-Vaughan, D. The serotonergic 5-HT₄ receptor: A unique modulator of hippocampal synaptic information processing and cognition. *Neurobiology of Learning and Memory* (2016). doi:10.1016/j.nlm.2016.06.014
4. Madsen, K. *et al.* Cerebral serotonin 4 receptors and amyloid- β in early Alzheimer's disease. *J. Alzheimers Dis.* **26**, 457–466 (2011).
5. Smith, G. S. *et al.* Molecular imaging of serotonin degeneration in mild cognitive impairment. *Neurobiology of Disease* **105**, 33–41 (2017).
6. Robert, S. J., Zugaza, J. L., Fischmeister, R., Gardier, A. M. & Lezoualc'h, F. The Human Serotonin 5-HT₄ Receptor Regulates Secretion of Non-amyloidogenic Precursor Protein. *The journal of biological chemistry* **276**, 44881–44888 (2001).
7. Cochet, M. *et al.* 5-HT₄ receptors constitutively promote the non-amyloidogenic pathway of APP cleavage and interact with ADAM10. *ACS Chem Neurosci* **4**, 130–140 (2013).
8. Tesseur, I. *et al.* Chronic 5-HT₄ receptor activation decreases A β production and deposition in hAPP/PS1 mice. *Neurobiol. Aging* **34**, 1779–1789 (2013).
9. Baranger, K. *et al.* Chronic treatments with a 5-HT₄ receptor agonist decrease amyloid pathology in the entorhinal cortex and learning and memory deficits in the 5xFAD mouse model of Alzheimer's disease. *Neuropharmacology* **126**, 128–141 (2017).
10. Giannoni, P. *et al.* Early administration of RS 67333, a specific 5-HT₄ receptor agonist, prevents amyloidogenesis and behavioral deficits in the 5XFAD mouse model of Alzheimer's disease. *Frontiers in Aging Neuroscience* **5**, (2013).
11. Marner, L. *et al.* Brain imaging of serotonin 4 receptors in humans with [¹¹C]SB207145-PET. *NeuroImage* **50**, 855–861 (2010).
12. Teixeira, C. M. *et al.* Hippocampal 5-HT Input Regulates Memory Formation and Schaffer Collateral Excitation. *Neuron* (2018). doi:10.1016/j.neuron.2018.04.030
13. Takeuchi, T., Duszkiewicz, A. J. & Morris, R. G. M. The synaptic plasticity and memory hypothesis: encoding, storage and persistence. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* **369**, 20130288–20130288 (2013).
14. Morris, R. G. M., Anderson, E., Lynch, G. S. & Baudry, M. Selective impairment of learning and blockade of long-term potentiation by an N-methyl-D-aspartate receptor antagonist, AP5. *Nature* **319**, 774–776 (1986).

15. Kemp, A. & Manahan-Vaughan, D. Hippocampal long-term depression and long-term potentiation encode different aspects of novelty acquisition. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **101**, 8192–8197 (2004).
16. Whitlock, J. R. Learning Induces Long-Term Potentiation in the Hippocampus. *Science* **313**, 1093–1097 (2006).
17. Goh, J. J. & Manahan-Vaughan, D. Spatial Object Recognition Enables Endogenous LTD that Curtails LTP in the Mouse Hippocampus. *Cerebral Cortex* **23**, 1118–1125 (2013).
18. Kulla, A. & Manahan-Vaughan, D. Modulation by serotonin 5-HT₄ receptors of long-term potentiation and depotentiation in the dentate gyrus of freely moving rats. *Cerebral Cortex* **12**, 150–162 (2002).
19. Twarkowski, H., Hagen, H. & Manahan-Vaughan, D. The 5-hydroxytryptamine₄ receptor enables differentiation of informational content and encoding in the hippocampus: Role of 5-HT₄ Receptor in Hippocampal Plasticity. *Hippocampus* **26**, 875–891 (2016).
20. Wawra, M., Fidzinski, P., Heinemann, U., Mody, I. & Behr, J. 5-HT₄-Receptors Modulate Induction of Long-Term Depression but Not Potentiation at Hippocampal Output Synapses in Acute Rat Brain Slices. *PLoS ONE* **9**, e88085 (2014).
21. Matsumoto, M. *et al.* Evidence for involvement of central 5-HT₄ receptors in cholinergic function associated with cognitive processes: behavioral, electrophysiological, and neurochemical studies. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* **296**, 676–682 (2001).
22. Kemp, A. & Manahan-Vaughan, D. The 5-Hydroxytryptamine₄ Receptor Exhibits Frequency-dependent Properties in Synaptic Plasticity and Behavioural Metaplasticity in the Hippocampal CA1 Region In vivo. *Cerebral Cortex* **15**, 1037–1043 (2005).
23. Bijak, M. & Misgeld, U. Effects of serotonin through serotonin_{1A} and serotonin₄ receptors on inhibition in the guinea-pig dentate gyrus in vitro. *Neuroscience* **78**, 1017–1026 (1997).
24. Bianchi, C., Rodi, D., Marino, S., Beani, L. & Siniscalchi, A. Dual effects of 5-HT₄ receptor activation on GABA release from guinea pig hippocampal slices. *Neuroreport* **13**, 2177–2180 (2002).
25. Cai, X., Flores-Hernandez, J., Feng, J. & Yan, Z. Activity-dependent bidirectional regulation of GABA A receptor channels by the 5-HT₄ receptor-mediated signalling in rat prefrontal cortical pyramidal neurons. *The Journal of Physiology* **540**, 743–759 (2002).
26. Eglen, R. M., Bonhaus, D. W., Johnson, L. G., Leung, E. & Clark, R. D. Pharmacological characterization of two novel and potent 5-HT₄ receptor agonists, RS 67333 and RS 67506, in vitro and in vivo. *British Journal of Pharmacology* (1995).
27. Hegde, S. S. *et al.* RS 39604: a potent, selective and orally active 5-HT₄ receptor antagonist. *British journal of pharmacology* **115**, 1087–1095 (1995).

28. Anderson, W. W. & Collingridge, G. L. The LTP Program: a data acquisition program for on-line analysis of long-term potentiation and other synaptic events. *Journal of Neuroscience Methods* **108**, 71–83 (2001).
29. Stelzer, A., Simon, G., Kovacs, G. & Rai, R. Synaptic disinhibition during maintenance of long-term potentiation in the CA1 hippocampal subfield. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **91**, 3058–3062 (1994).
30. Perez, Y., Chapman, C. A., Woodhall, G., Robitaille, R. & Lacaille, J.-C. Differential induction of long-lasting potentiation of inhibitory postsynaptic potentials by theta patterned stimulation versus 100-Hz tetanization in hippocampal pyramidal cells in vitro. *Neuroscience* **90**, 747–757 (1999).
31. Larson, J. & Munkácsy, E. Theta-burst LTP. *Brain Research* **1621**, 38–50 (2015).
32. Ranck, J. B. Studies on single neurons in dorsal hippocampal formation and septum in unrestrained rats. I. Behavioral correlates and firing repertoires. *Exp. Neurol.* **41**, 461–531 (1973).
33. Rudell, A. P., Fox, S. E. & Ranck, J. B. Hippocampal excitability phase-locked to the theta rhythm in walking rats. *Experimental Neurology* **68**, 87–96 (1980).
34. Green, J. D. & Arduini, A. A. Hippocampal electrical activity in arousal. *J. Neurophysiol.* **17**, 533–557 (1954).
35. Vanderwolf, C. H. Hippocampal electrical activity and voluntary movement in the rat. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* **26**, 407–418 (1969).
36. O’Keefe, J. & Nadel, L. *The hippocampus as a cognitive map*. (Clarendon Press ; Oxford University Press, 1978).
37. Buzsáki, G. & Moser, E. I. Memory, navigation and theta rhythm in the hippocampal-entorhinal system. *Nature Neuroscience* **16**, 130–138 (2013).
38. Hasselmo, M. E. What is the function of hippocampal theta rhythm?—Linking behavioral data to phasic properties of field potential and unit recording data. *Hippocampus* **15**, 936–949 (2005).
39. Corradetti, R., Ballerini, L., Pugliese, A. M. & Pepeu, G. Serotonin blocks the long-term potentiation induced by primed burst stimulation in the CA1 region of rat hippocampal slices. *Neuroscience* **46**, 511–518 (1992).
40. Andrade, R. & Nicoll, R. A. Pharmacologically distinct actions of serotonin on single pyramidal neurones of the rat hippocampus recorded in vitro. *Journal of Physiology* **395**, 109–124 (1987).
41. Guy, N. & Ropert, N. Serotonin facilitates GABAergic inhibition on hippocampal CA1 neurones in vitro. *Journal of Physiology* **423**, (1990).
42. Grover, L. M., Kim, E., Cooke, J. D. & Holmes, W. R. LTP in hippocampal area CA1 is induced by burst stimulation over a broad frequency range centered around delta. *Learn Mem* **16**, 69–81 (2009).

43. Stäubli, U., Scafidi, J. & Chun, D. GABAB Receptor Antagonism: Facilitatory Effects on Memory Parallel Those on LTP Induced by TBS but Not HFS. *J. Neurosci.* **19**, 4609–4615 (1999).
44. Davies, C. H., Davies, S. N. & Collingridge, G. L. Paired-pulse depression of monosynaptic GABA-mediated inhibitory postsynaptic responses in rat hippocampus. *The Journal of Physiology* **424**, 513–531 (1990).
45. Davies, C. H., Starkey, S. J., Pozza, M. F. & Collingridge, G. L. GABAB autoreceptors regulate the induction of LTP. *Nature* **349**, 609–611 (1991).
46. Mott, D. D. & Lewis, D. V. GABAB receptors mediate disinhibition and facilitate long-term potentiation in the dentate gyrus. *Epilepsy Res. Suppl.* **7**, 119–134 (1992).
47. Nasehi, M., Farrahizadeh, M., Ebrahimi-Ghiri, M. & Zarrindast, M.-R. Modulation of cannabinoid signaling by hippocampal 5-HT₄ serotonergic system in fear conditioning. *J Psychopharmacol* **30**, 936–944 (2016).
48. Nasehi, M., Rostam-Nezhad, E., Ebrahimi-Ghiri, M. & Zarrindast, M.-R. Interaction between hippocampal serotonin and cannabinoid systems in reactivity to spatial and object novelty detection. *Behavioural Brain Research* **317**, 272–278 (2017).
49. Peñas-Cazorla, R. & Vilaró, M. T. Serotonin 5-HT₄ receptors and forebrain cholinergic system: receptor expression in identified cell populations. *Brain Structure and Function* **220**, 3413–3434 (2015).

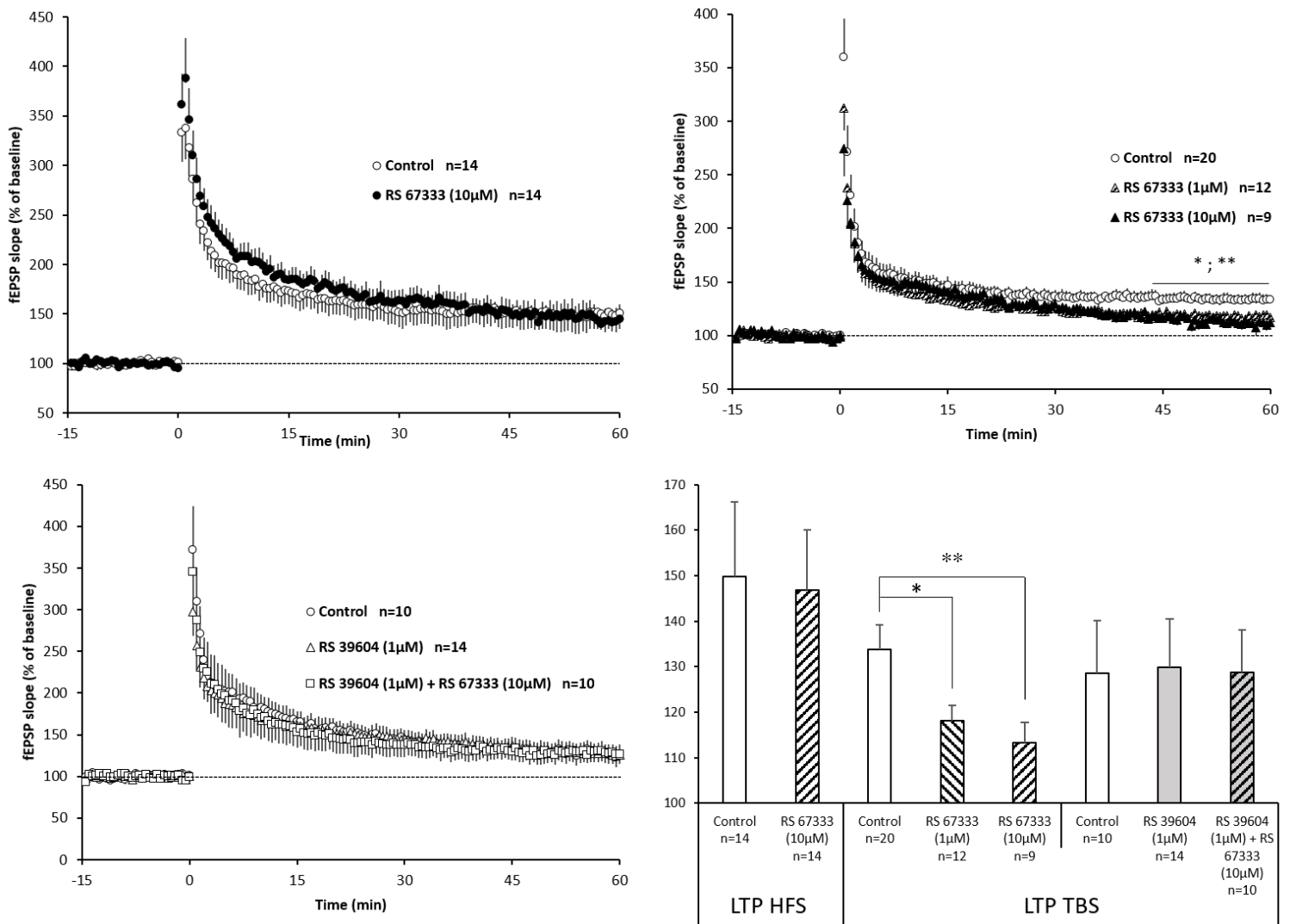


Figure 1: 5HT₄R agonist, RS67333, inhibits TBS- induced LTP through activation of 5-HT₄R in hippocampal CA1

A., RS67333 at 10µM concentration does not affect LTP induced by HFS (100Hz tetanus). **B.** RS67333 at 1 and 10µM concentration inhibits LTP induced by TBS (*p<0,05 vs RS67333 1µM ; **p<0,01 vs RS67333 10 µM). **C.** RS67333 (10µM) effects on TBS-induced LTP are blocked by RS39604 (1µM), a 5-HT₄R antagonist that has no effect by itself on such LTP. **D.** Comparison of the mean fEPSP slope for the last 15 minutes of all conditions (*p<0,05 vs RS67333 1µM ; **p<0,01 vs RS67333 10 µM).

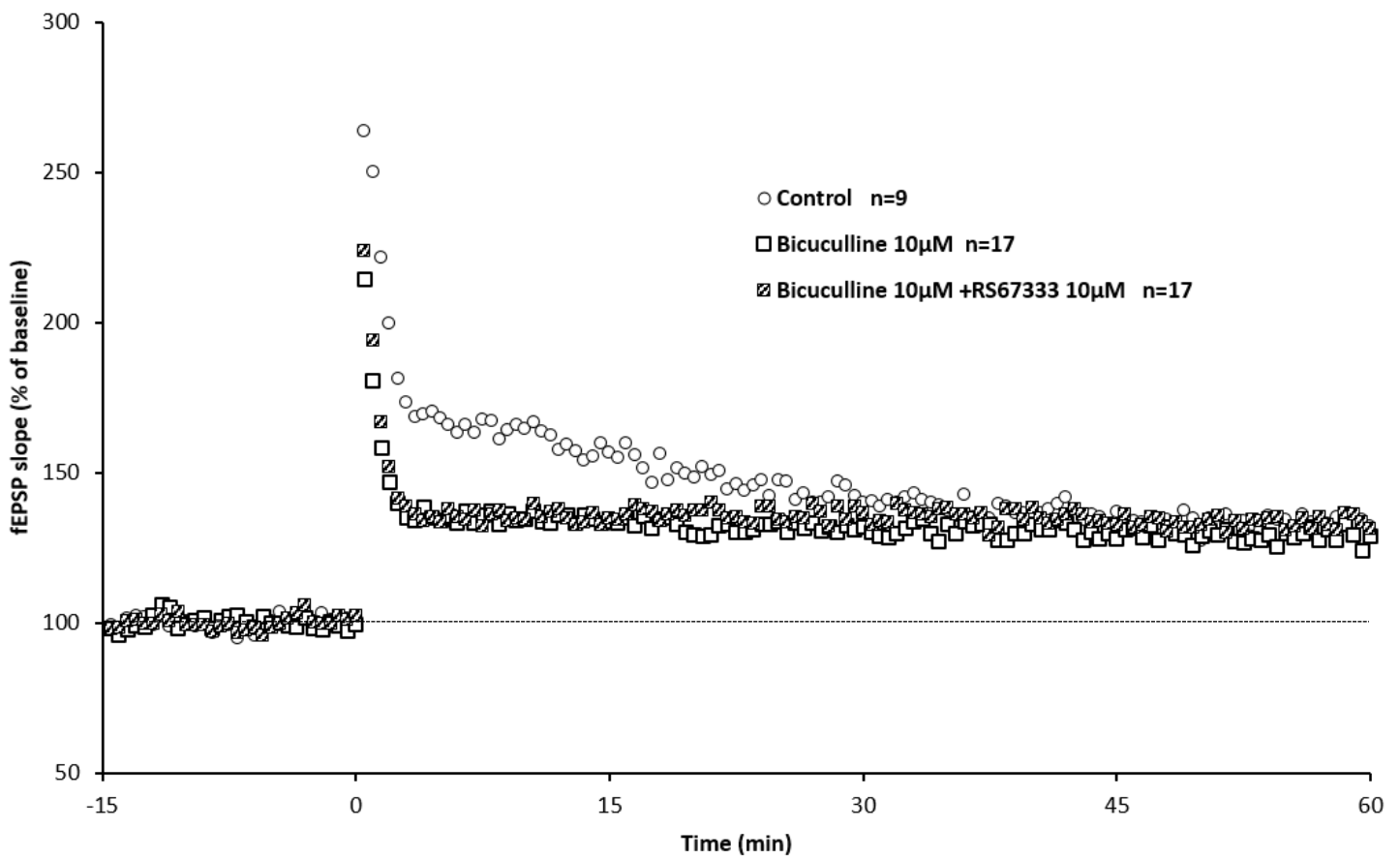


Figure 2: *GABA_A* antagonist, bicuculline at 10µM suppresses the effects of 5HT₄R agonist RS67333 at 10µM on TBS-induced LTP in hippocampal CA1. At 10µM, bicuculline alone did not modify the strength of TBS-induced LTP but prevented RS67333-induced decrease of LTP amplitude. Of note, bicuculline changed the post-tetanic potentiation slope.

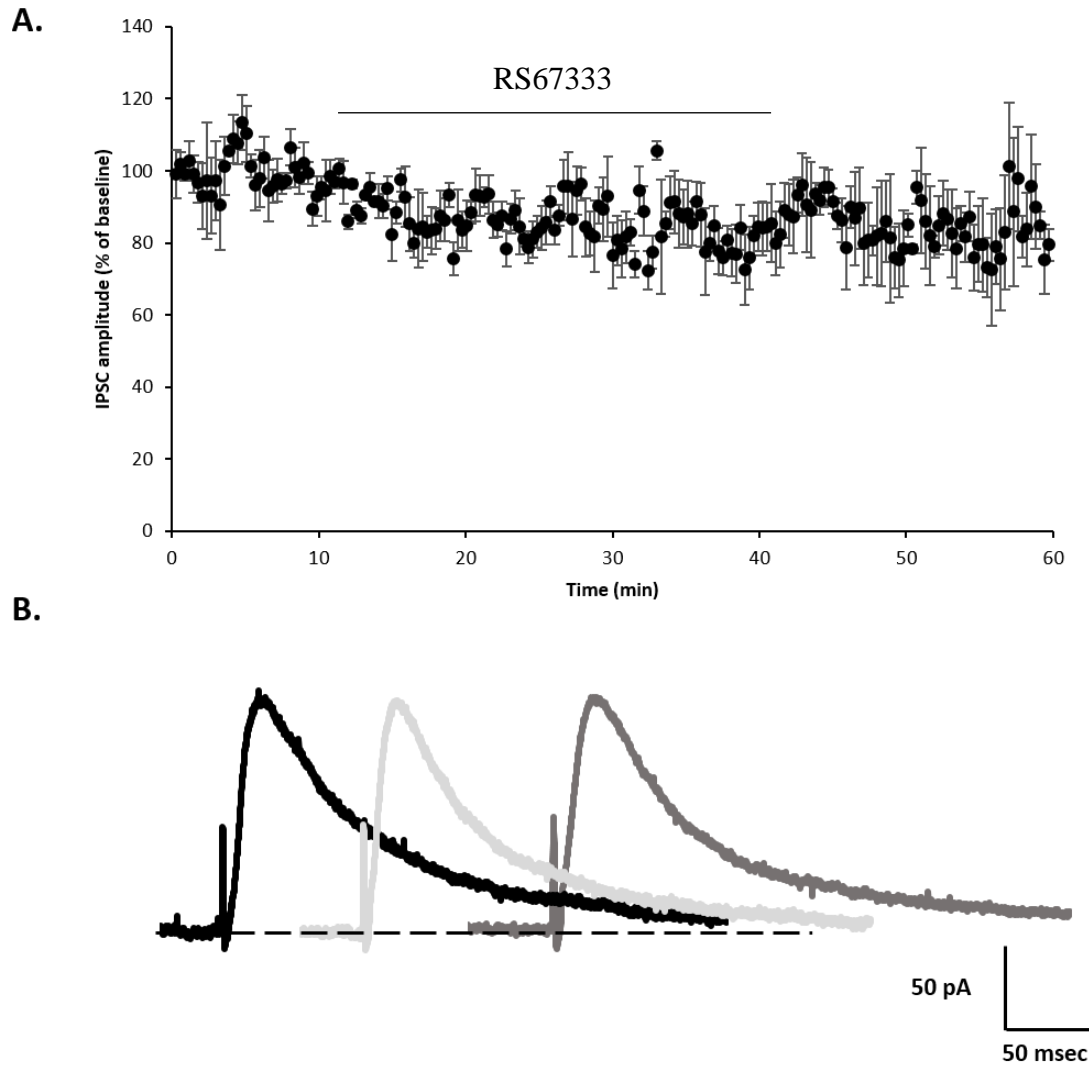


Figure 3: 5HT₄R agonist, RS67333, at 10 μM concentration does not affect the amplitude of evoked IPSC in pyramidal CA1 neurons

A. Time-course of RS67333 effect on evoked IPSCs amplitude. RS67333 (10μM) was applied after 10 min of stable baseline of GABA_A-dependent IPSCs evoked at 0.06 Hz. IPSC amplitude was normalized to the mean amplitude of baseline current for each cell. N = 5 cells in 5 slices from 5 mice. **B.** Example of RS67333 effect on evoked IPSCs in a pyramidal CA1 neuron. GABA_A-dependent IPSCs were evoked from a -30 mV holding potential (dashed line) by electrical stimulation of the *stratum radiatum*, in the presence of 10μm NBQX and 50μM AP-5, to respectively block AMPA and NMDA receptors. Black: control IPSC; light grey: after 25 min RS67333 infusion; dark grey: after RS67333 washout.

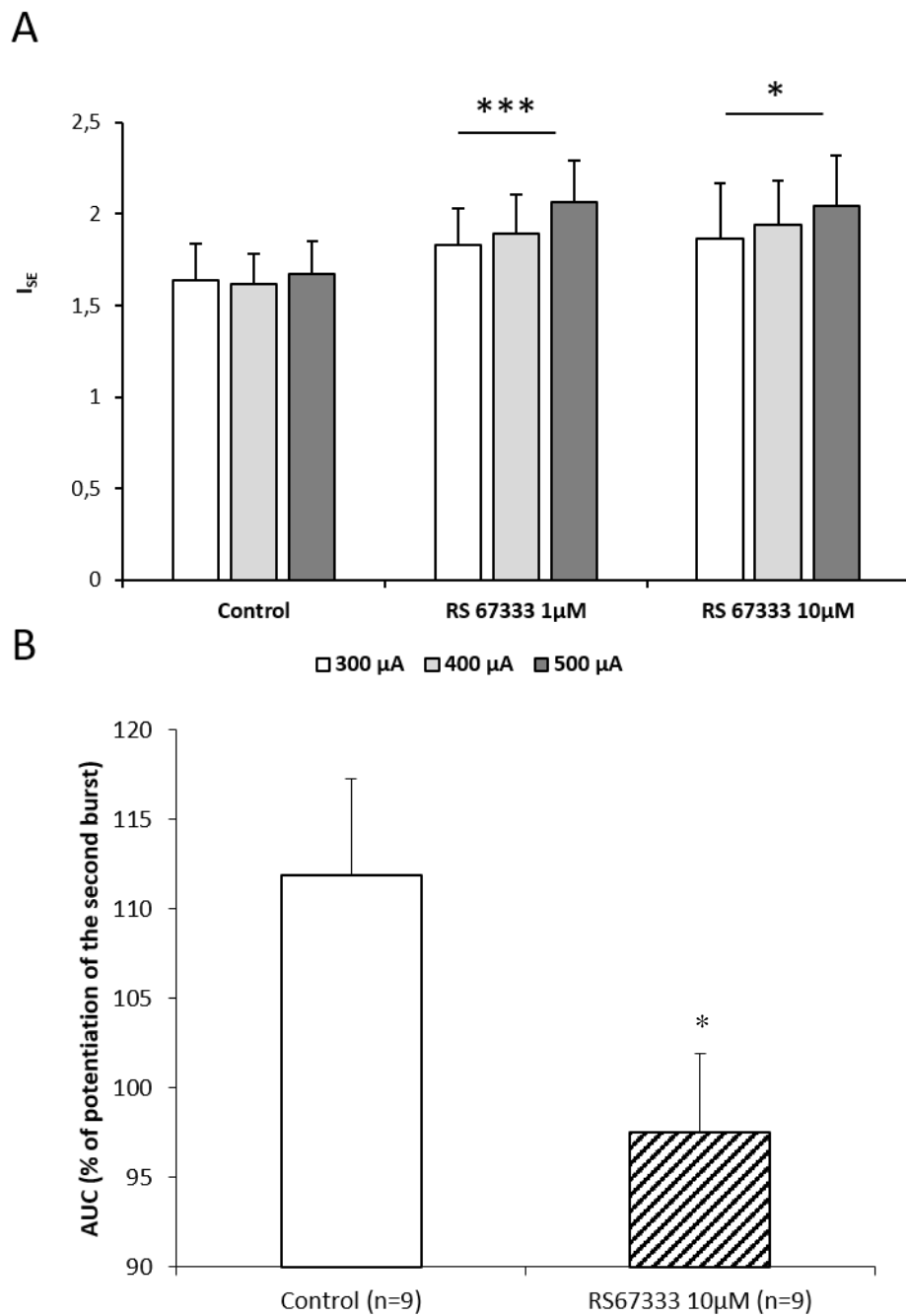


Figure 4: *5HT₄R* agonist, RS67333, slightly enhances NMDAR response and decreases primed burst area under curve

A. RS67333 increases NMDAR responses at 1 and 10µM (*p<0,05 vs control ; ***p<0,001 vs control), I_{SE}: index of synaptic efficiency. **B.** RS67333 decreases the potentiation of the second burst elicited by the first one (AUC: area under curve).

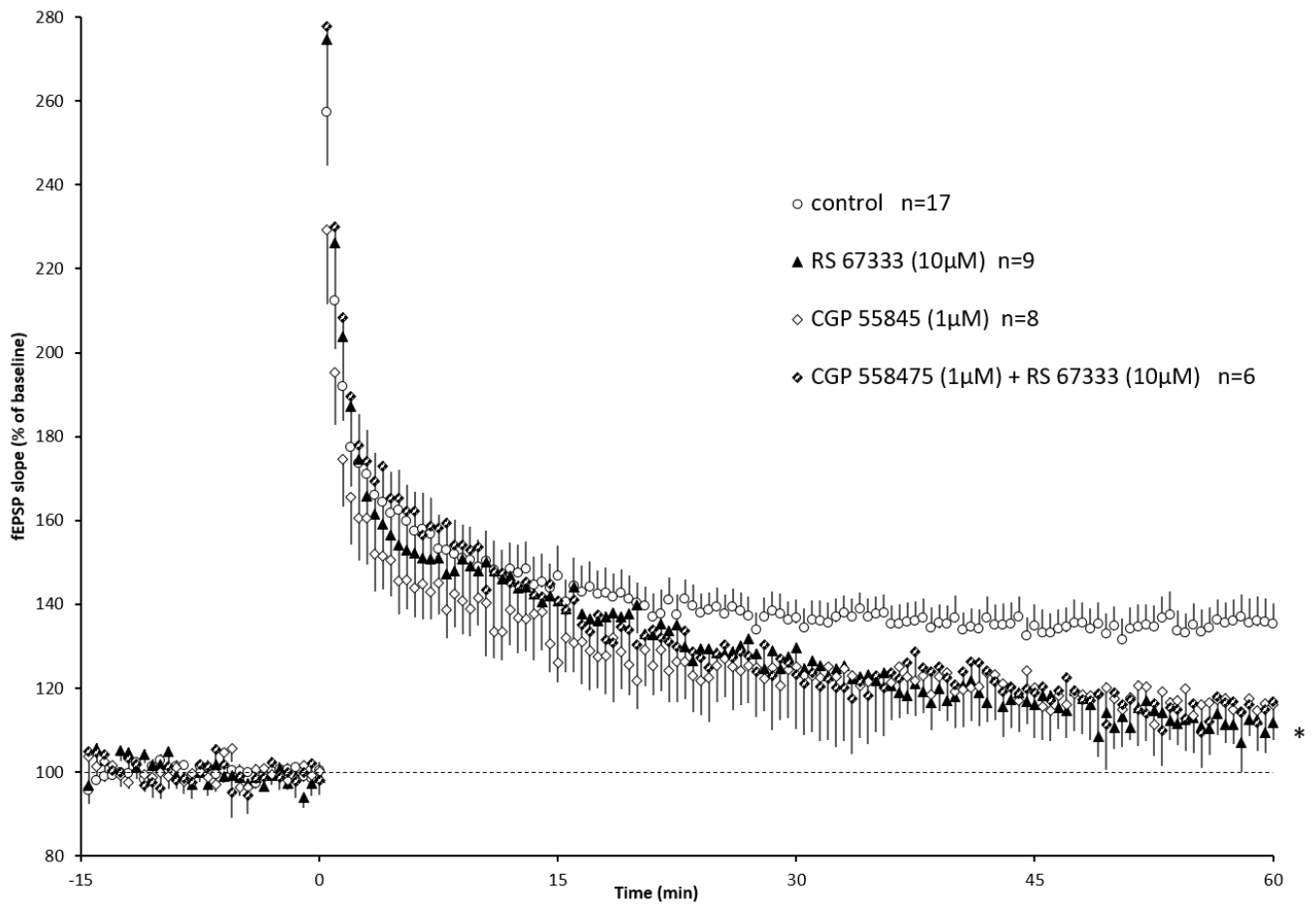


Figure 5: GABA_BR antagonist, CGP55845 at 1µM inhibits TBS-induced LTP and occludes 5-HT₄R agonist, RS67333, effect on CA1 pyramidal neurons from hippocampal slices

At 1µM, CGP55845 impairs TBS-induced LTP at the same level than RS67333 at 10µM. Concurrent application of both does not further impair TBS-induced LTP. (*p<0,05 : RS67333 vs control)

3. Données complémentaires à l'article

En complément des expérimentations décrites dans l'article 1, centrées sur la LTP, des mesures ont été effectuées sur d'autres paramètres de l'activité synaptique ainsi que sur une autre forme de plasticité synaptique, la LTD.

Effets de l'agoniste des 5-HT₄R, RS67333, sur la transmission de base AMPA et la facilitation appariée

L'analyse de variance révèle un effet groupe ($F_{(3;42)}=2.928$, $p=0.0446$), aucun effet de l'intensité de stimulation ($F_{(2;28)}=0.553$, $p=0.581$) et aucune interaction groupe x intensité ($F_{(6;84)}=0.245$, $p=0.96$) (figure 45). L'analyse *post-hoc* indique que cet effet est dû à une différence significative entre le groupe contrôle et le groupe RS67333 à 10 μ M ($p=0.0083$). L'ajout du RS67333 augmente donc la transmission de base AMPA, indépendamment de l'intensité de stimulation, dans la région CA1 chez la souris NMRI jeune.

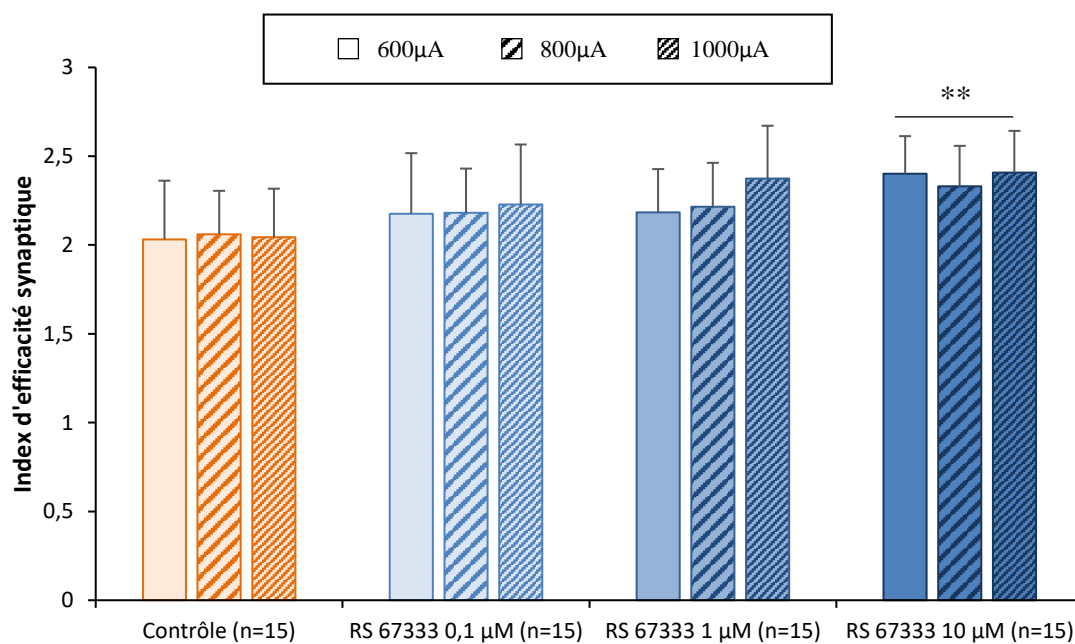


Figure 45: Courbe I/O : effet de l'agoniste des 5HT₄R, RS67333 sur la transmission de base à différentes concentrations et différentes intensités de stimulation

Les analyses statistiques menées sur les enregistrements de PPF indiquent un effet du traitement par le RS67333 (figure 46). En effet, l'ANOVA en mesures répétées indique un effet groupe ($F_{(3;13)}=3.667$, $p=0.0202$).

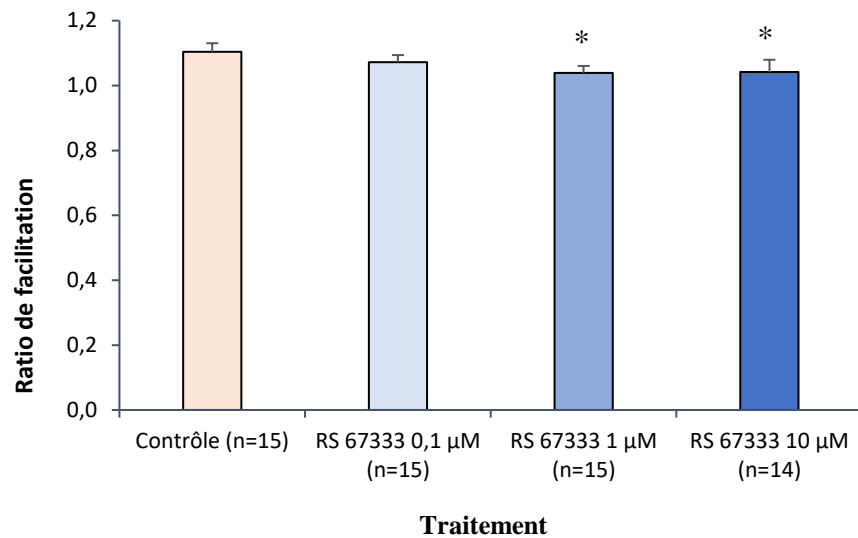


Figure 46: Effet de l'agoniste des 5HT₄R, RS67333 à différentes concentrations sur la PPF (*: $p < 0.01$ vs contrôle)

L'analyse *post-hoc* révèle des différences significatives entre les valeurs de PPF dans le groupe contrôle, c'est à-dire non traité, et le groupe ayant été en contact avec le RS6733 à 1µM ($p=0.0056$) et à 10µM ($p=0.0082$).

Effets de l'antagoniste des 5-HT₄R, RS39604 sur la transmission de base AMPA et la facilitation appariée

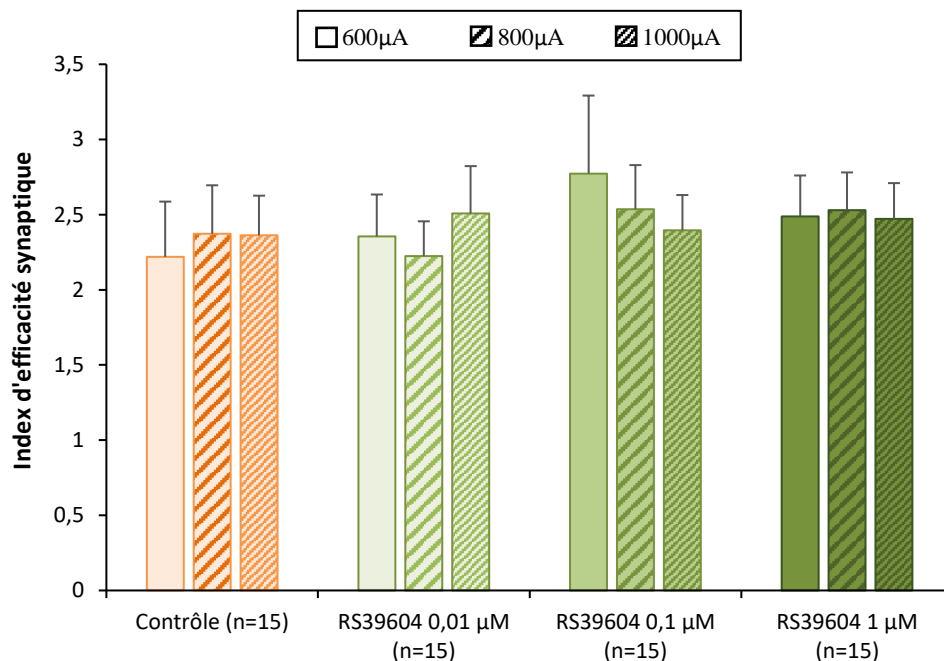


Figure 47: Courbe I/O, effet du blocage des récepteurs 5-HT₄ par l'antagoniste RS39604, sur la transmission de base AMPA à différentes intensités de stimulation

L'analyse de variance ne révèle aucun effet groupe ($F_{(3;56)}=0.919$, $p=0.412$), aucun effet de l'intensité de stimulation ($F_{(2;56)}=0.074$, $p=0.929$), ni aucune interaction groupe x intensité ($F_{(6;112)}=1.176$, $p=0.327$), indiquant que le blocage des 5-HT₄R n'affecte pas la transmission de base AMPA dans la région CA1.

Les analyses statistiques menées sur les enregistrements de PPF n'indiquent pas d'effet du traitement par le RS39604 (ANOVA en mesures répétées, $F_{(3;42)}=0.249$, $p=0.861$).

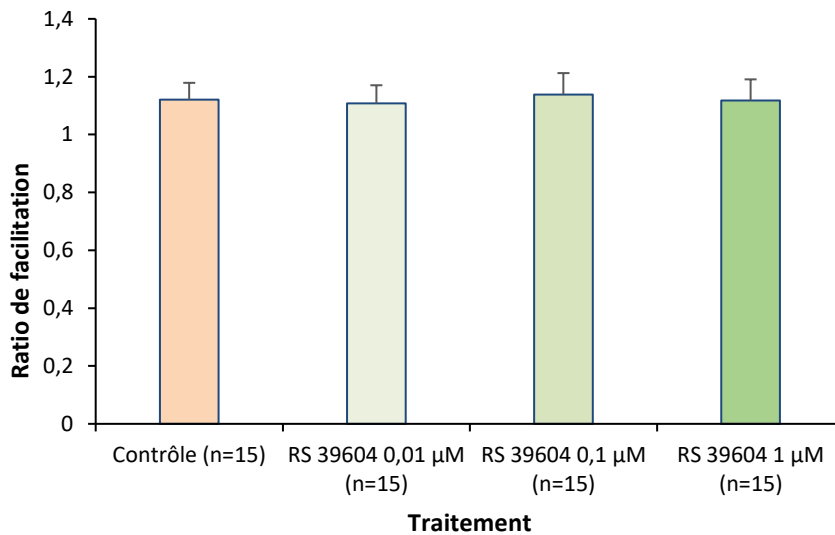


Figure 48 : Effet du blocage des récepteurs 5-HT₄ par l'antagoniste RS39604 sur la PPF

Effets de l'agoniste des 5-HT₄R, RS67333, sur la LTD

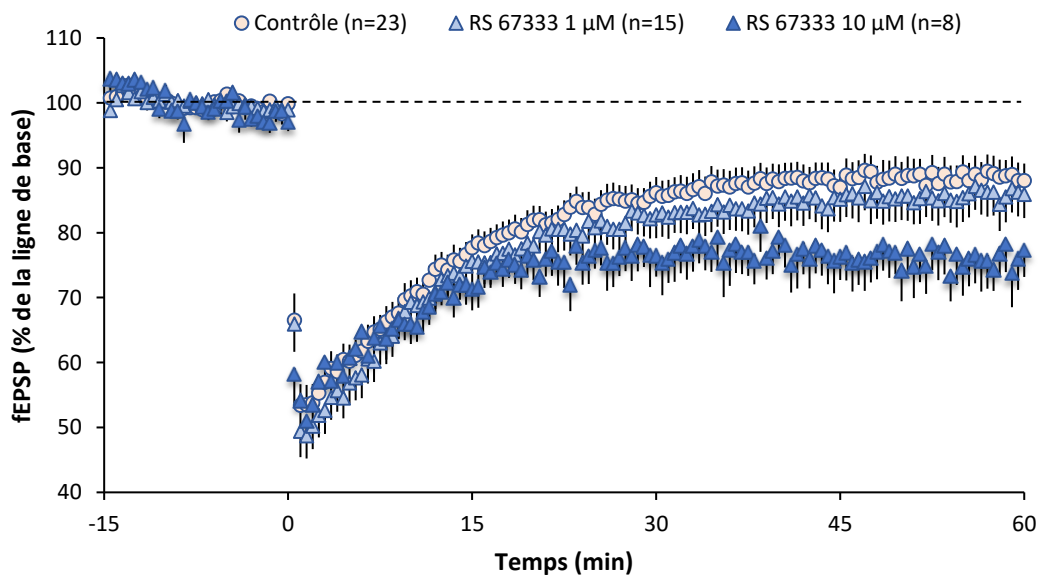


Figure 49: Effet de l'agoniste des 5-HT₄R, le RS67333, à différentes concentrations, sur la LTD

L'ANOVA effectuée sur ces données indique une tendance, non significative, à faciliter l'induction de la LTD par l'activation des 5-HT₄R (effet groupe : $F_{(2;44)}=2.923$, $p=0.0643$). Il n'y a pas d'effet temps ($F_{(29;1276)}=1.217$, $p=0.1988$), ni d'interaction groupe x temps ($F_{(58;1276)}=1.235$, $p=0.1142$).

Effets de l'antagoniste des 5-HT₄R, RS39604 sur la LTD

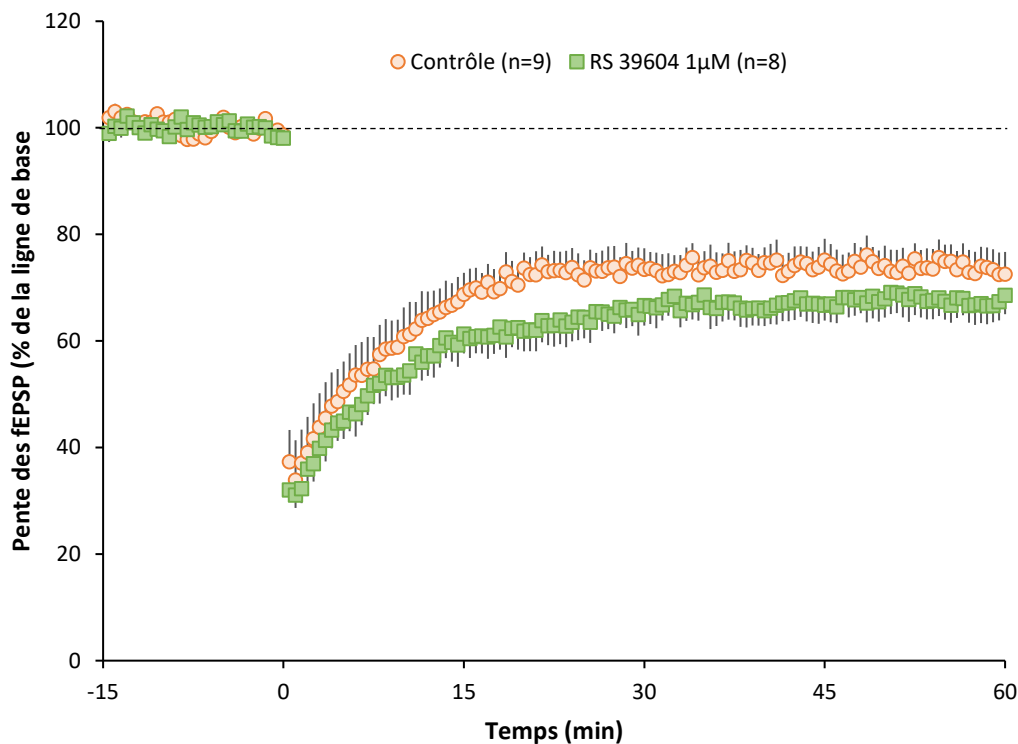


Figure 50: effet du blocage des récepteurs 5-HT₄ sur la LTD

L'ANOVA effectuée sur ces données indique que le blocage des 5-HT₄R n'a pas d'effet sur la LTD (effet groupe : $F_{(1;15)}=1.741$, $p=0.2068$). Il n'y a pas d'effet temps ($F_{(29;435)}=0.993$, $p=0.4794$) ni d'interaction groupe x temps ($F_{(29;435)}=1.012$, $p=0.4505$).

Etude de déplacement de l'antagoniste RS39604 par l'agoniste RS67333 : effets sur la transmission de base, la facilitation appariée et la LTD

L'ANOVA effectuée sur les mesures de transmission de base révèle un effet groupe ($F_{(2,30)}=5.49$, $p=0.00929$), un effet intensité ($F_{(2,30)}=6.01$, $p=0.00642$) mais pas d'interaction groupe x intensité ($F_{(2,30)}=6.01$, $p=0.00642$). L'analyse *post-hoc* indique une différence significative entre le groupe contrôle et le groupe traité par la combinaison du RS39604 et du RS67333 ($p=0.00051$).

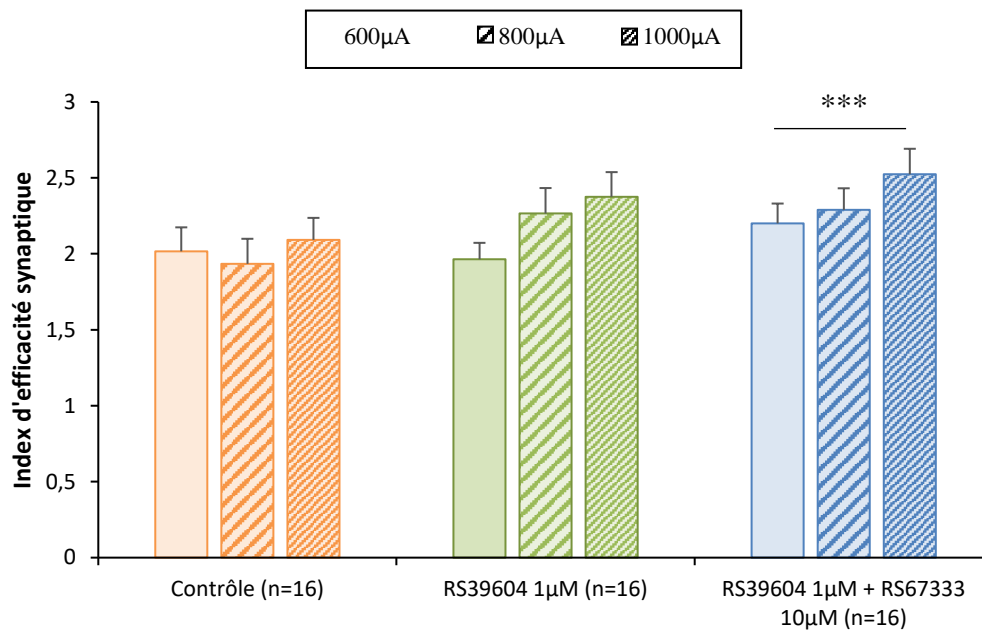


Figure 51: Blocage des effets de l'agoniste RS67333 par l'antagoniste RS39604 sur la transmission de base (***) $p < 0.0001$ vs contrôle)

L'ANOVA réalisée sur les données de PPF indique un effet groupe ($F_{(3;24)}=4.341$, $p=0.0140$). Cet effet est le reflet d'une différence significative entre le groupe contrôle et le groupe associant RS 39604 à 1µM et RS 67333 à 10µM ($p=0.0017$).

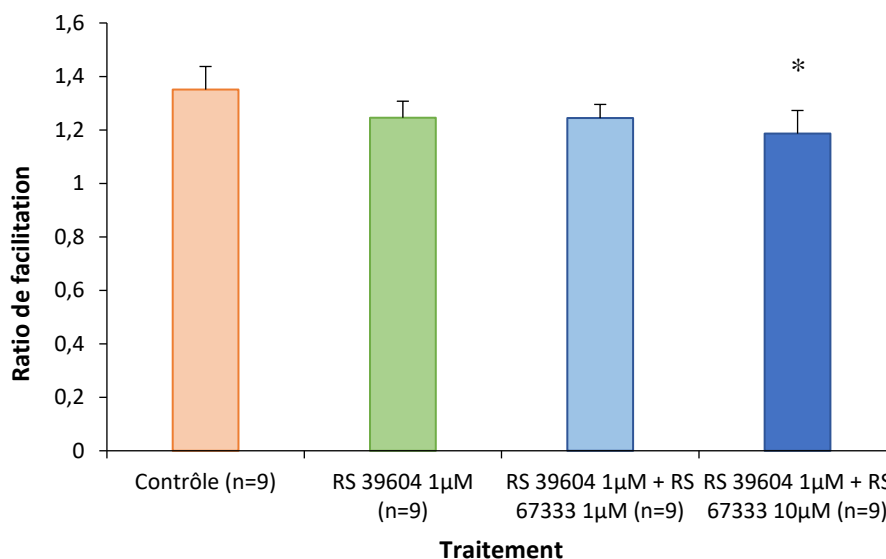


Figure 52: Blocage des effets de l'agoniste des 5-HT₄R, RS 67333, sur la PPF par l'antagoniste RS 39604. L'antagoniste des récepteurs 5-HT₄ bloque les effets de l'agoniste à concentration égale mais lorsqu'on augmente la concentration de ce dernier ils réapparaissent (*: $p < 0.01$ vs contrôle)

L'antagoniste des 5-HT₄R est donc capable de bloquer les effets de l'agoniste à concentration égale, mais ceux-ci réapparaissent quand on augmente la concentration de l'agoniste.

L'ANOVA effectuée sur les résultats de LTD indique une absence d'effet groupe ($F_{(2;37)}=0.512, p=0.6034$) ainsi qu'une absence d'effet temps ($F_{(29;1073)}=1.270, p=0.1551$) et pas d'interaction groupe x temps ($F_{(58;1073)}=0.525, p=0.9987$).

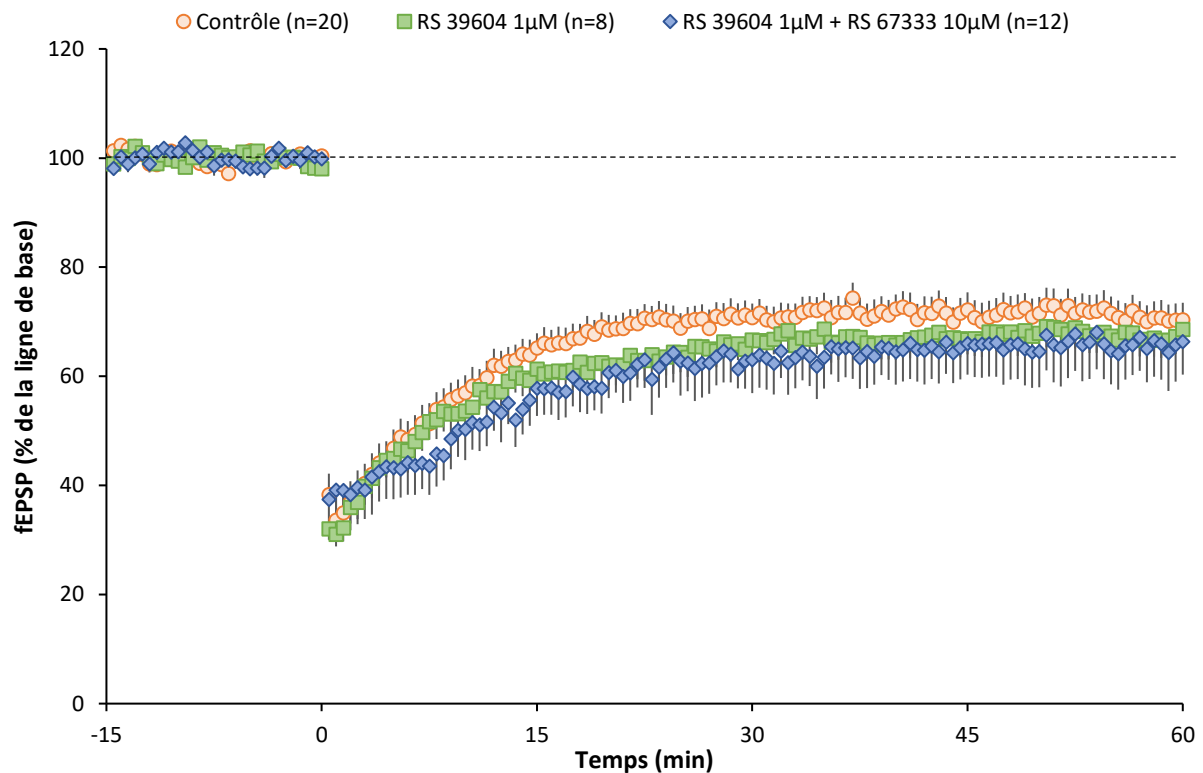


Figure 53: Blocage des effets de l'agoniste des 5-HT₄R RS67333 sur la LTD par l'antagoniste RS39604

4. Discussion des données complémentaires

L'objectif de ce travail était d'étudier les effets d'une modulation pharmacologique de l'activité des 5-HT₄R sur l'activité synaptique de souris saines (tableau 5).

	Transmission de base	PPF	LTD
RS67333	↗	↘	↗
RS39604	↔	↔	↔
RS39604 + RS67333	↗	↘	↔

Tableau 5: Effets de la modulation de l'activité des récepteurs 5-HT₄ sur la transmission de base et la plasticité synaptique hippocampique de la région CA1 (↗ : augmentation, ↘ : diminution, ↔ : absence d'effet). RS67333 = agoniste 5-HT₄R ; RS39604 = antagoniste 5-HT₄R

Nos expérimentations ont permis de mettre en évidence une augmentation de la transmission de base uniquement lors de l'application de la plus forte dose de RS67333. Cette augmentation de la transmission de base avait également été retrouvé dans des travaux précédents à l'aide d'un autre agoniste des récepteurs 5-HT₄, le prucalopride à 5µM (Spencer et al., 2004). Toutefois, une absence d'effet a également été démontré suite à l'application d'un autre agoniste des 5-HT₄R, le SDZ-216454, n'a aucun effet sur les fEPSP dans des conditions similaires (Mlinar et al., 2006). La disparité des résultats obtenus pourrait résulter du fait de simples considérations méthodologiques : en effet, toutes ces études ont utilisé un agoniste des 5-HT₄R différent. Il est donc possible que les profils pharmacologiques particuliers de chaque agonistes soient responsables de ces différences. Par exemple, Spencer et collaborateurs ont utilisé un agoniste partiel, le prucalopride, d'affinité similaire au RS67333 que nous avons utilisé mais à une dose deux fois moindre ce qui explique l'observation d'une augmentation de la pente des fEPSP plus modeste dans leur étude que dans la nôtre (116 % vs 128 % d'augmentation). De plus, nous avons travaillé sur des souris et les deux études citées ont travaillées chez des rats de souches différentes (lister-hooded pour Mlinar et Wistar pour Spencer) or de nombreuses études ont démontré des différences de réponses face à des interventions pharmacologiques entre ces deux souches (McDermott et Kelly, 2008 ; Renard et al, 2012 ; Ihalainen et al, 2016). Si l'on considère que, déjà au sein d'une même espèce, des variations de sensibilité inter-souches face à des interventions pharmacologiques visant des récepteurs de neurotransmetteurs ont déjà été décrites dans la littérature, il ne semble pas étonnant d'observer de telles différences entre espèces.

Enfin, nous avons observé qu'en présence d'un antagoniste des 5-HT₄R, le RS39604 à 1µM, qui n'a pas d'effet seul sur la transmission de base, les effets du RS67333 persistent. Il est donc possible que ces effets ne découlent pas entièrement d'une activation des 5-HT₄R. Ces résultats en présence de RS39604 sont cependant à examiner avec précaution, en effet il a été rapporté que cet antagoniste est en fait un agoniste partiel (Claeyssen et al., 2000) et on peut en effet observer une légère augmentation de la transmission de base. Par ailleurs, il est possible que nous ayons utilisé une concentration trop faible d'antagoniste pour bloquer les effets de l'agoniste, même si c'est peu probable étant donné que cette même concentration est à même de bloquer les effets de l'agoniste à la même concentration dans les mesures de plasticité que nous avons effectuées.

Au cours de cette étude, nous avons aussi étudié la PPF, une forme de plasticité synaptique à court terme, ce qui n'avait pas encore été fait à notre connaissance. Les résultats obtenus en présence de l'agoniste RS67333 montrent une diminution de la PPF à la plus haute dose testée, alors que l'antagoniste n'a pas d'effet par lui-même sur la PPF. Les variations de PPF peuvent être expliquées par une modification de la probabilité de libération de neurotransmetteurs. Plus la probabilité de libération de neurotransmetteurs est élevée, plus la PPF va être faible et *vice-versa* (Zucker and Regehr, 2002).

Ici cette diminution de la PPF pourrait donc s'expliquer par une augmentation de la probabilité de libération de glutamate au niveau de l'élément pré-synaptique. Ces résultats pourraient donc être cohérents avec notre observation d'une augmentation de la transmission de base par le RS67333. Cependant, l'existence de 5-HT₄R au niveau pré-synaptique n'a encore jamais été décrite dans la région CA1 de l'hippocampe, les études existantes les situant plutôt au niveau dendritique (Varnäs et al., 2003), voire même somatique (Bickmeyer et al., 2002). Une autre hypothèse, en lien avec celle décrite dans l'article 1, impliquerait une activation des 5-HT₄R sur les interneurons. En effet, il a été rapporté qu'une diminution des IPSC rapides (médiés par les récepteurs GABA_a) serait en partie à l'origine du phénomène de PPF dans la région CA1 chez le rat (Nathan and Lambert, 1991). On pourrait donc supposer que le RS67333 bloquerait la diminution du second IPSC lors du protocole de PPF. Des expériences supplémentaires sont cependant nécessaires pour valider cette théorie.

Enfin, nous avons étudié les effets de la stimulation ou du blocage des 5-HT₄R sur la LTD. Les seules données de la littérature sur le sujet nous viennent d'une étude *in vivo* (Kemp et Manahan-Vaughan, 2005) dans laquelle les auteurs rapportent une inhibition de la LTD par l'activation des 5-HT₄R et une facilitation de celle-ci par leur blocage. Ici, nous rapportons une absence d'effet du RS67333 sur la LTD bien qu'il y ait une tendance non significative à faciliter la LTD par rapport aux conditions contrôle. Par ailleurs, l'antagoniste RS39604 n'exerce aucun effet sur la LTD et lorsqu'il est présent en même temps que l'agoniste RS67333, il supprime la tendance à la facilitation de la LTD que ce dernier provoque seul. Nos résultats sont ici en désaccord avec la littérature. Il est possible que la simple différence de paradigme *in vivo* versus *ex vivo* soit, là encore, à l'origine de ces désaccords. Ainsi, en ce qui concerne l'absence d'effet de l'antagoniste sur la LTD que nous rapportons ici par rapport à l'effet facilitateur observé *in vivo*, cela peut assez facilement s'expliquer par le blocage d'un tonus sérotoninergique *in vivo* qu'on ne retrouve évidemment pas dans notre étude *ex vivo*.

De même, le blocage de la LTD par l'agoniste, décrit *in vivo* pourrait être dû à un effet indirect de l'activation des 5-HT₄R (Matsumoto et al., 2001), c'est-à-dire impliquant une augmentation de la libération de sérotonine ou d'acétylcholine.

Nos travaux menés sur la souris NMRI nous ont donc permis de confirmer l'existence d'un rôle majeur des 5-HT₄R sur la régulation de l'activité synaptique de la région CA1 de l'hippocampe. Nous avons retrouvé une augmentation de la transmission de base par la stimulation des 5-HT₄R déjà décrite dans la littérature et montrons pour la première fois une augmentation de l'activité des récepteurs NMDA ainsi qu'une diminution de la PPF suite à l'activation de ces récepteurs. De plus, nos études de plasticité synaptique révèlent un rôle inhibiteur de l'activation des 5-HT₄R sur la LTP induite par TBS ce qui n'avait jamais été décrit avant et qui semble passer par le blocage des autorécepteurs GABAB. Enfin, nous avons, en contradiction avec la littérature, révélé un effet facilitateur de l'activation des 5-HT₄R sur la LTD.

Ces travaux nous renseignent sur les effets de la stimulation des 5-HT₄R sur l'activité synaptique hippocampique de la souris saine. Pour confirmer la validité de ces récepteurs en tant que cible thérapeutique, il est cependant nécessaire de réaliser ce type de travaux dans des conditions pathologiques, ce qui a fait l'objet de notre troisième étude.

III. Etude des effets de la stimulation des récepteurs 5-HT₄ sur la plasticité synaptique mesurée sur tranches d'hippocampe dans un modèle murin d'hyperamyloïdogénèse, la souris 5xFAD

1. Objectifs

La MA est une maladie de la mémoire et l'induction de déficit mnésiques est l'un des critères essentiels de validité lors du développement des modèles animaux de cette pathologie. La diminution des facultés mnésiques touche particulièrement la mémoire épisodique dans laquelle l'hippocampe joue un rôle majeur. Or, dans cette structure il a été rapporté des altérations de la plasticité synaptique à long terme, un processus qui est à l'heure actuelle considéré comme le support biologique de la mémoire. Ces altérations ont été décrites dans de nombreux modèles de la MA et notamment chez la souris 5xFAD. Ces souris sont un modèle intéressant de la MA, notamment car elles présentent de nombreuses caractéristiques de la MA (neuroinflammation, plaques amyloïdes, troubles mnésiques). Par ailleurs, ces souris développent une pathologie amyloïde dont la cinétique est comparable à celle observée dans la MA chez l'homme, les plaques amyloïdes apparaissant en amont des troubles mnésiques.

De façon intéressante, il a été rapporté que la stimulation *in vivo* des 5-HT₄R chez ces souris permet de récupérer des fonctions mnésiques normales dans des tests comportementaux mettant en jeu des systèmes de mémoire hippocampo-dépendantes (Baranger et al., 2017; Giannoni et al., 2013). Il apparaît donc intéressant d'étudier les effets d'une telle stimulation sur la plasticité synaptique dans l'hippocampe chez les souris 5xFAD.

Comme nous l'avons déjà évoqué, les effets de la modulation de l'activité des 5-HT₄R sur la plasticité synaptique hippocampique sont encore assez peu connus dans des conditions physiologiques. La nature de ces effets dans des conditions pathologiques a donc, sans surprise, été beaucoup moins explorée et, en ce qui concerne les modèles animaux de la MA, il n'existe à notre connaissance aucune étude sur le sujet. Notre objectif est donc d'étudier les effets d'une stimulation des 5-HT₄R sur la transmission synaptique et sur la plasticité synaptique hippocampique dans la région CA1 chez la souris 5xFAD, en référence à la souris C57/BL6 dont elle dérive.

2. Résultats

Les données présentées ci-dessous feront l'objet de la préparation et soumission d'un article qui n'est, à ce jour, pas encore rédigé. Après avoir étudié les caractéristiques électrophysiologique de la souche de souris 5xFAD par rapport à sa souche de référence (souris C57BL/6), nous avons étudié les effets d'une stimulation des 5-HT₄R par le RS67333.

Effet du génotype sur la transmission de base et sur la PPF

L'ANOVA menée pour comparer la transmission de base entre les deux souches indique un effet du génotype ($F(1,37)=4.681$, $p=0.0370$) et un effet de l'intensité de stimulation ($F(2,74)=4.491$, $p=0.0144$) mais pas d'interaction génotype x intensité de stimulation ($F(2,74)=1.661$, $p=0.1969$). Les souris 5xFAD ont une transmission de base diminuée par rapport aux souris C57/BL6 dans la région CA1.

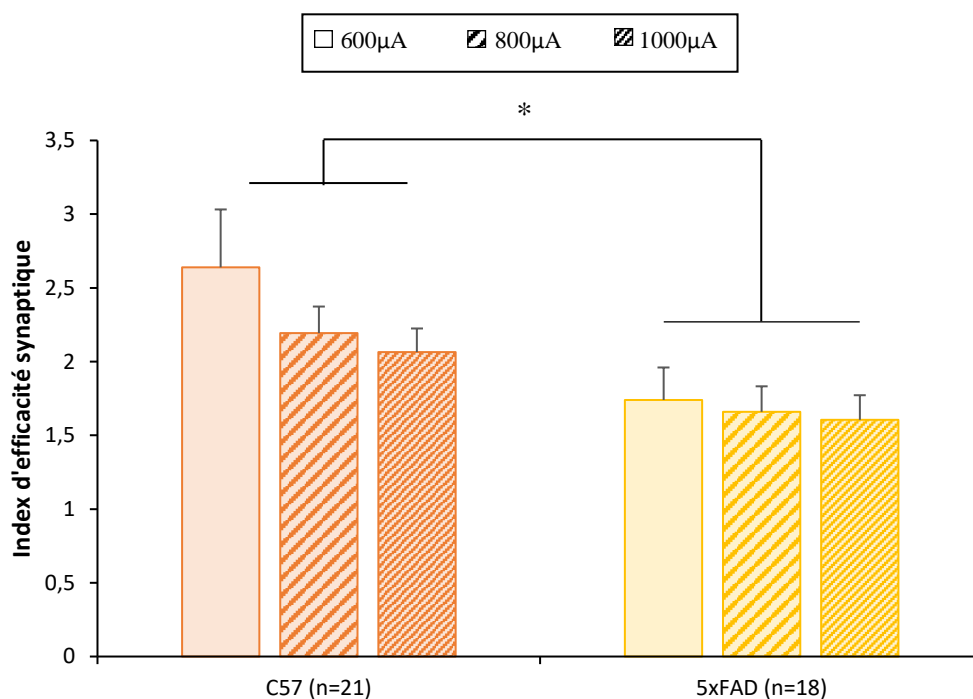


Figure 54: Comparaison de la transmission de base entre les souris C57/BL6 et les souris 5xFAD (* $p<0.05$)

L'ANOVA effectuée sur les données de PPF n'indique pas d'effet du génotype ($F(1,38)=1.169$, $p=0.2863$). Les souris C57/BL6 et 5xFAD expriment la même PPF au niveau de la région CA1.

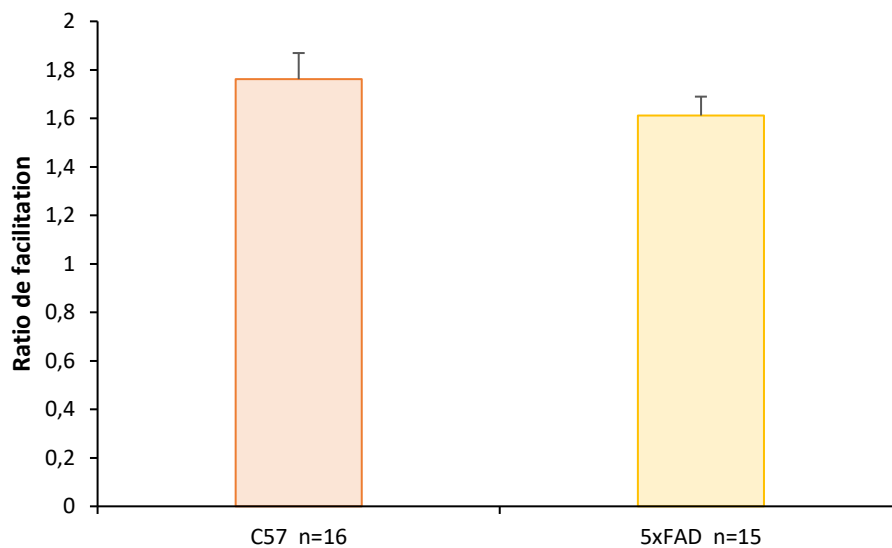


Figure 55: Comparaison de la PPF entre les souris C57 /BL6 et les souris 5xFAD

Effet du génotype sur la plasticité synaptique

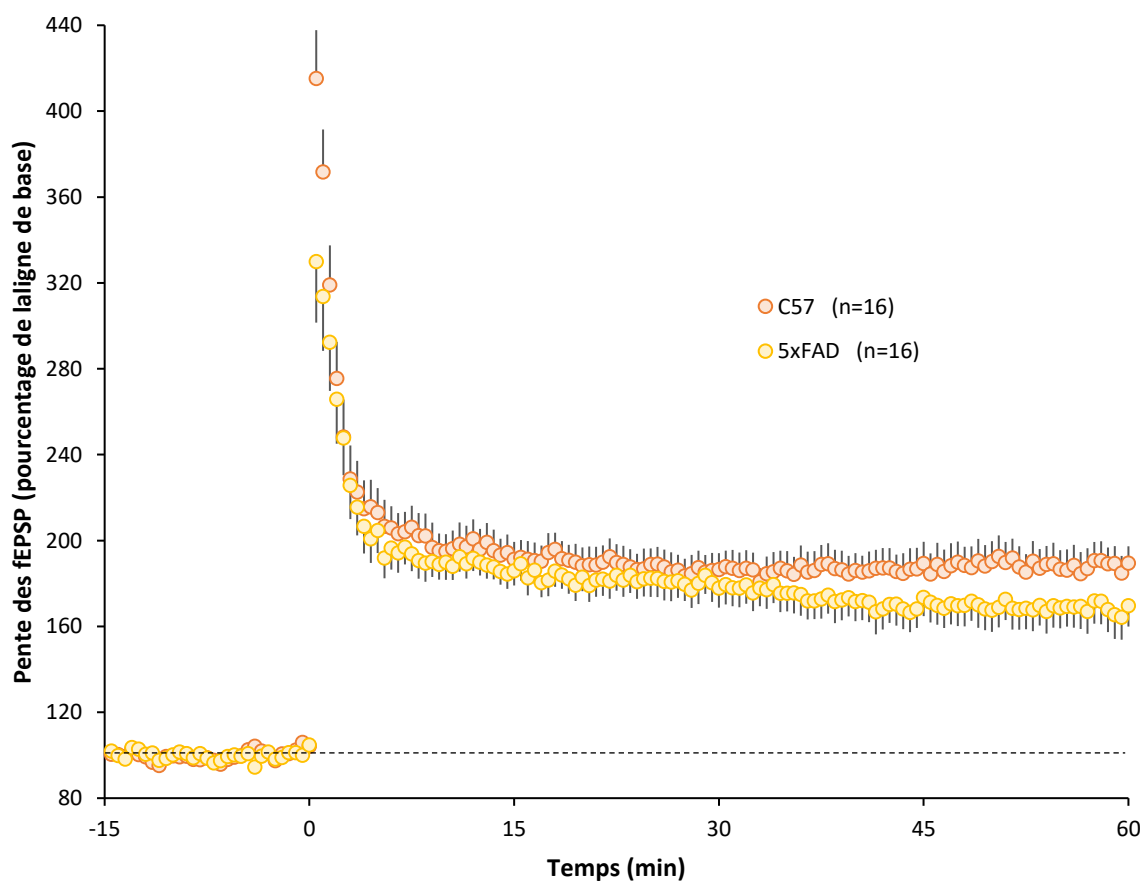


Figure 56: Comparaison de la LTP entre les souris 5xFAD et les souris C57

L'ANOVA effectuée sur les mesures de LTP comparant les souches de souris 5xFAD et C57/BL6 n'indique pas d'effet du génotype ($F_{(1,31)}=1.528$, $p=0.2257$), ni d'effet temps ($F_{(1,29)}=1.115$, $p=0.3089$) et pas d'interaction génotype x temps ($F_{(1,29)}=0.875$, $p=0.6575$). Il n'y a donc pas de différence entre la LTP générée chez les souris 5xFAD et le souris C57/BL6 bien qu'on observe une diminution apparente sur le graphique.

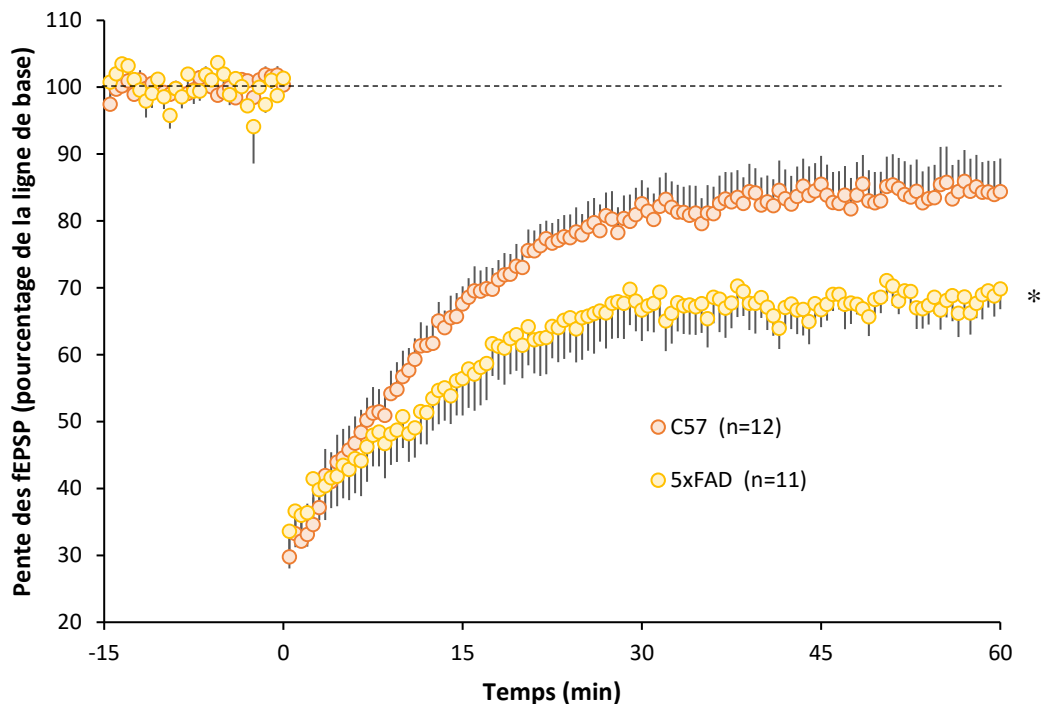


Figure 57: Comparaison de la LTD entre les souris 5xFAD et les souris C57 (* $p < 0.05$ vs C57)

Au contraire des mesures de LTP, l'ANOVA réalisée sur les mesures de LTD indique un effet du génotype ($F_{(1,22)}=6.923$, $p=0.0153$) mais pas d'effet temps ($F_{(1,29)}=0.994$, $p=4759$) ni d'interaction génotype x temps ($F_{(1,29)}=0.753$, $p=0.8236$). La LTD est donc plus importante chez les souris 5xFAD que chez les souris C57/BL6.

Effets de l'agoniste 5-HT₄R, le RS67333, sur la transmission de base et la facilitation appariée chez la souris C57/BL6

L'analyse de variance des mesures de transmission de base révèle un effet groupe ($F_{(2,30)}=9.167$, $p=0.000782$), aucun effet de l'intensité de stimulation ($F_{(2,30)}=3.285$, $p=0.0513$) et aucune interaction groupe x intensité de stimulation ($F_{(4,60)}=0.149$, $p=0.941$).

L'analyse *post-hoc* indique un effet dose-dépendant du RS67333 : on observe ainsi une différence significative entre le groupe contrôle et les deux groupes RS67333 (1 μ M : $p=0.0199$; 10 μ M : $p=0.000013$) ainsi qu'entre les deux groupes RS67333 ($p=0.0053$). Le RS67333 augmente donc la transmission de base de façon dose-dépendante dans la région CA1 chez les souris C57/BL6 et ce, indépendamment de l'intensité.

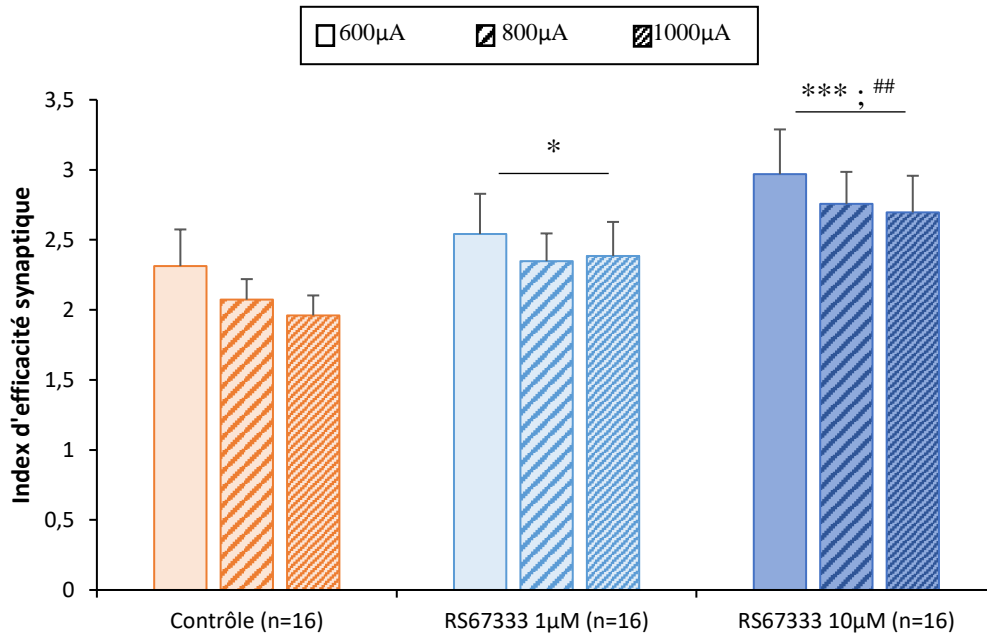


Figure 59: courbe I/O, Effet de la stimulation des récepteurs 5-HT₄ par le RS67333 sur la transmission de base à différentes intensités de stimulation (* $p<0.05$, *** $p<0.001$ vs contrôle ; ## $p<0.01$ vs RS67333 1 μ M) chez la souris C57/BL6

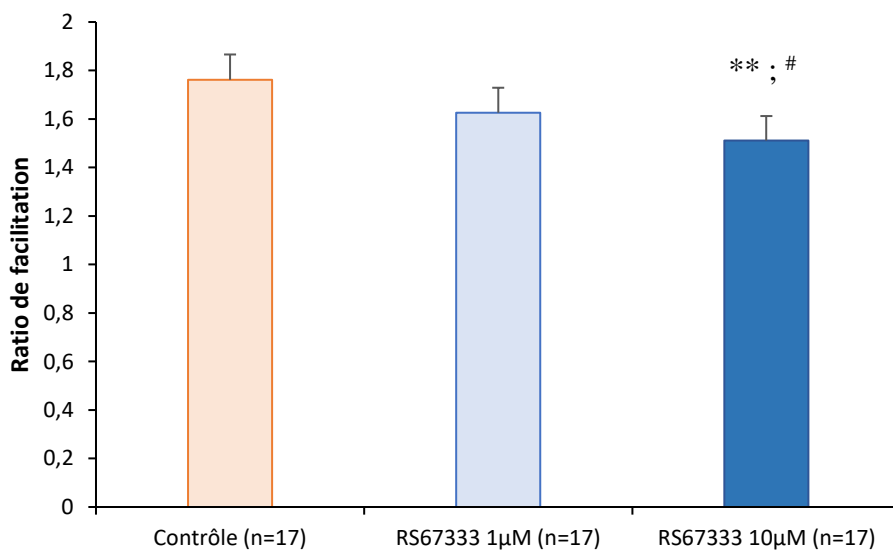


Figure 58: Effet de l'agoniste 5-HT₄R, le RS67333, sur la PPF (** $p<0.01$ vs contrôle ; # $p<0.015$ vs RS67333 1 μ M) chez la souris C57/BL6

L'ANOVA effectuée sur les résultats de PPF rapporte un effet groupe ($F_{(2,32)}=9.01$, $p=0.000787$) qui est dû à des différences significatives entre le groupe RS67333 10 μ M et le groupe contrôle ($p=0.0032$) ainsi qu'entre les deux groupes RS67333 ($p=0.0315$).

Effets de l'agoniste 5-HT₄R, le RS67333, sur la transmission de base et la facilitation appariée chez la souris 5xFAD

L'ANOVA réalisée sur la transmission de base indique un effet groupe ($F_{(2,30)}=11.71$, $p=0.000175$), pas d'effet de l'intensité ($F_{(2,30)}=1.765$, $p=0.188$) et pas d'interaction groupe x intensité de stimulation ($F_{(4,60)}=0.048$, $p=0.966$). L'analyse *post-hoc* rapporte des différences significatives entre le groupe contrôle et les groupes RS67333 1 μ M ($p=0.000003$) et RS67333 10 μ M ($p=0.0000012$) et entre les deux groupes RS67333 ($p=0.0022$). Le RS67333 augmente donc la transmission de base dans la région CA1 chez les souris 5xFAD.

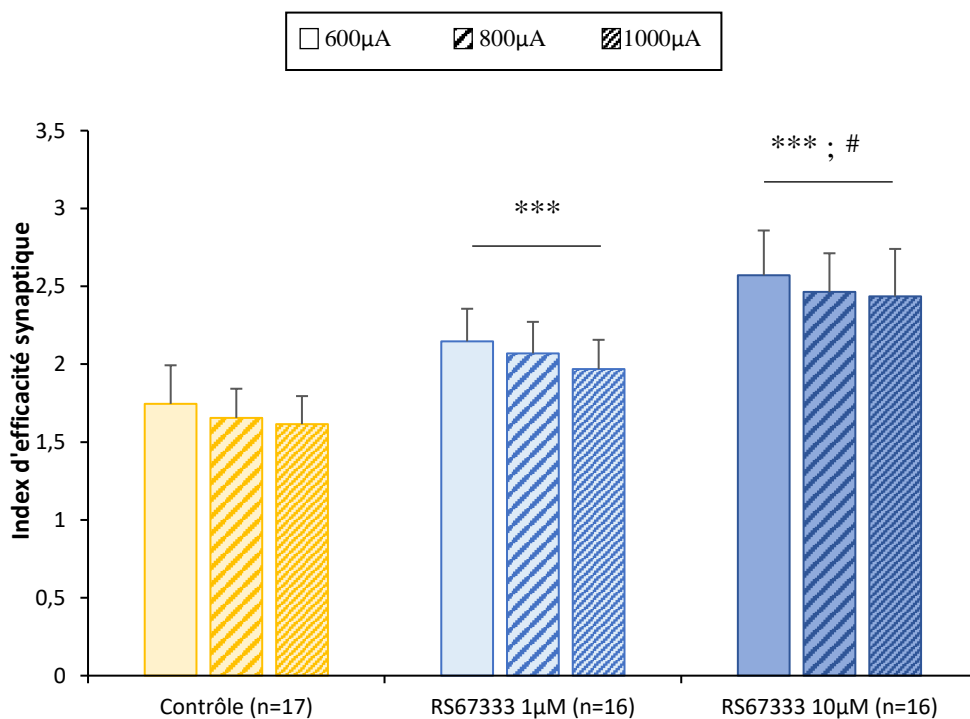


Figure 60: effet du RS67333 à différentes concentrations et différentes intensités sur la transmission de base (***) $p < 0.001$ vs contrôle ; ### $p < 0.01$ vs RS67333 1 μ M) chez la souris 5xFAD

L'ANOVA menée sur les données de PPF n'indique pas d'effet groupe ($F_{(2,28)}=1.998$; $p=0.155$). Le RS67333 n'influence donc pas la PPF dans la région CA1 chez les souris 5xFAD.

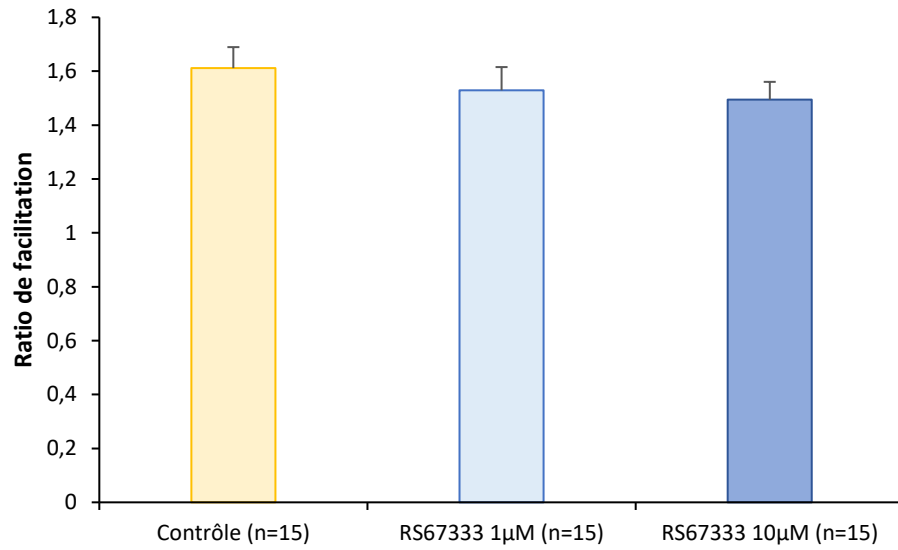


Figure 61: Effet de l'agoniste des 5-HT₄R, le RS67333, à différentes concentrations sur la PPF chez la souris 5xFAD

Effets de l'agoniste 5-HT₄R, le RS67333, sur la plasticité synaptique (LTP et LTD) chez les souris C57/BL6

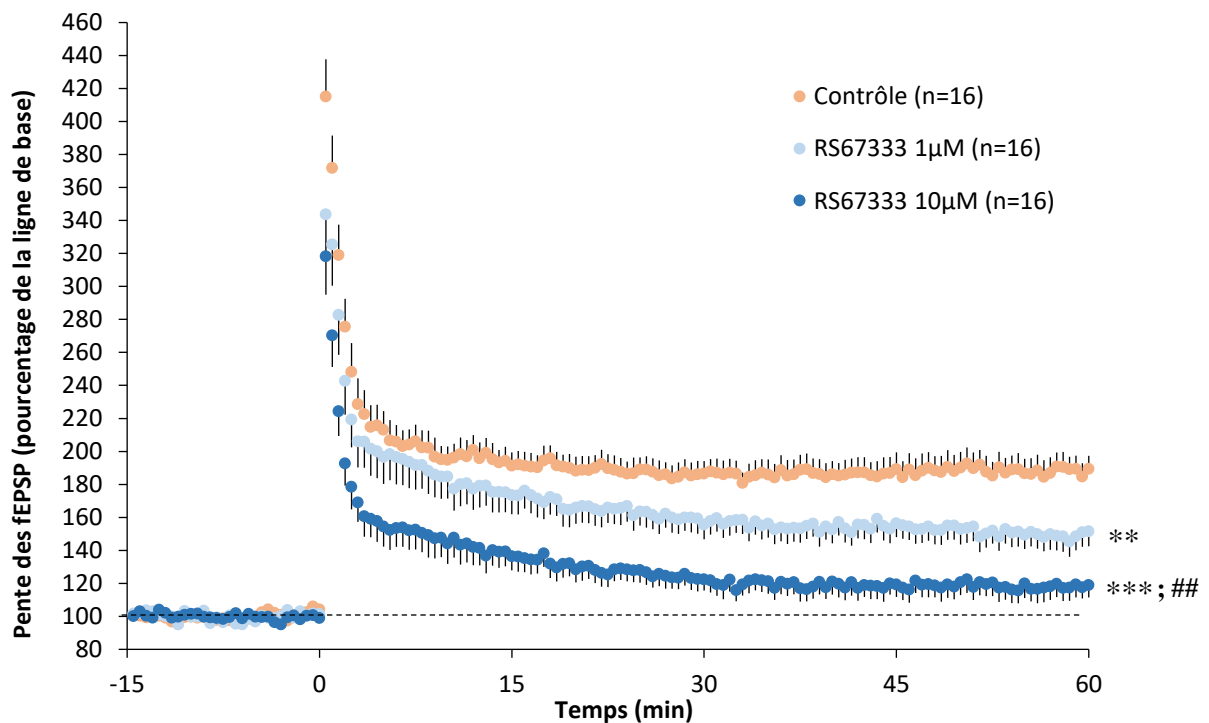


Figure 62: Effet de l'agoniste des 5-HT₄R, le RS67333, sur la LTP chez la souris C57 (**p<0.01, ***p<0.001 vs contrôle ; ##p<0.01 vs RS67333 1µM)

L'ANOVA effectuée sur les enregistrements de LTP (induite par TBS) indique un effet groupe ($F_{(2,45)}=16.989$, $p<0.0001$) mais pas d'effet temps ($F_{(2,29)}=1.277$, $p=0.1492$) ni d'interaction groupe x temps ($F_{(2,58)}=1.060$, $p=0.3564$). L'analyse *post-hoc* révèle des différences significatives entre le groupe contrôle et les groupes RS67333 ($p=0.0035$ pour le groupe $1\mu\text{M}$ et $p<0.0001$ pour le groupe $10\mu\text{M}$) ainsi qu'entre les deux groupes traités ($p=0.0088$). Le RS67333 diminue donc de façon dose-dépendante la LTP dans la région CA1 chez la souris C57/BL6.

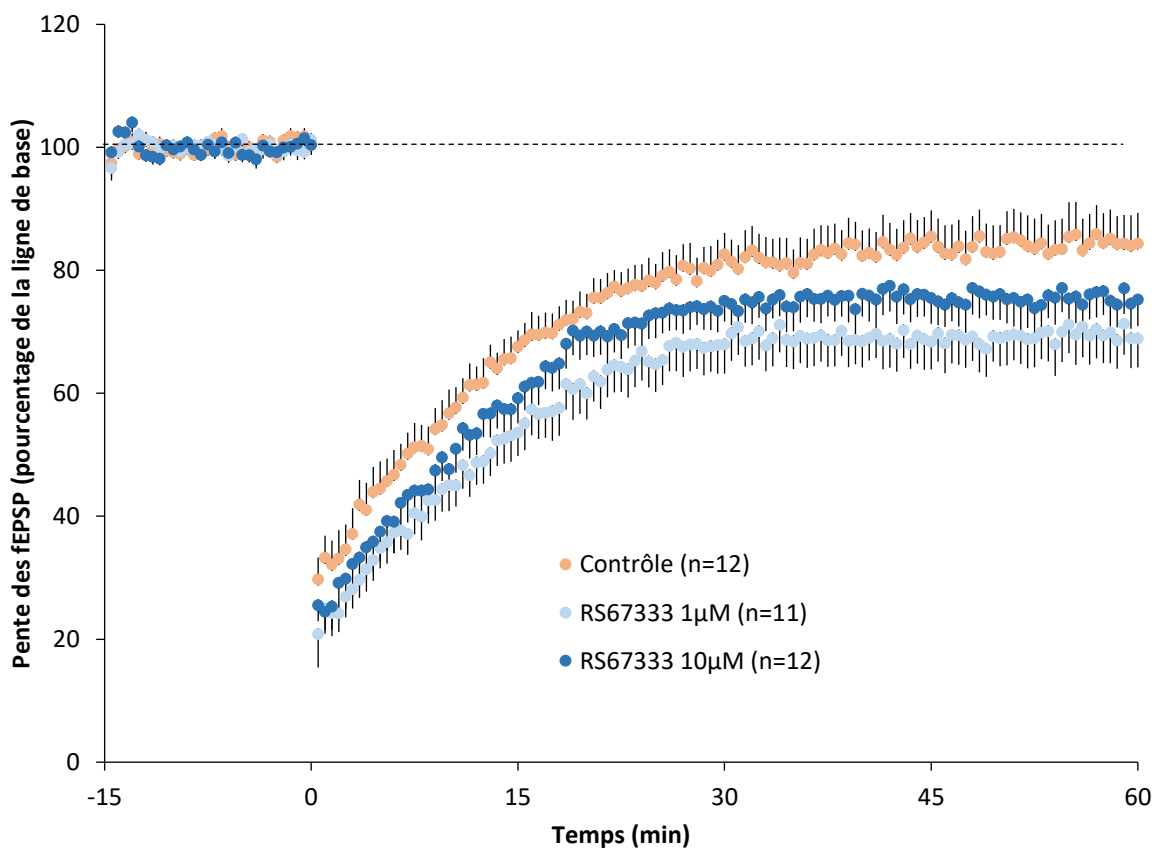


Figure 63: Effet de l'agoniste des 5-HT₄R, le RS67333, sur la LTP chez la souris C57/BL6

L'ANOVA effectuée sur les enregistrements de LTD ne révèle ni d'effet groupe ($F_{(2,32)}=2.769$, $p=0.0778$), ni d'interaction groupe x temps ($F_{(2,58)}=0.828$, $p=0.8161$); en revanche on observe un effet temps ($F_{(2,29)}=1.504$, $p=0.0432$). Le RS67333 aurait donc une tendance non significative à augmenter la LTD.

Effets de l'agoniste 5-HT₄R, le RS67333, sur la plasticité synaptique (LTP et LTD) chez les souris 5xFAD

L'ANOVA effectuée sur les enregistrements de LTP (induite par TBS) indique un effet groupe ($F_{(2,45)}=10.0145$, $p=0.0002$) mais pas d'effet temps ($F_{(2,29)}=0.855$, $p=0.6871$) ni d'interaction groupe x temps ($F_{(2,58)}=1.052$, $p=0.3716$). L'analyse *post-hoc* révèle des différences significatives entre le groupe contrôle et les groupes RS67333 ($p=0.0078$ pour le groupe 1 μ M et $p<0.0001$ pour le groupe 10 μ M). Le RS67333 diminue donc la LTP dans la région CA1 chez la souris 5xFAD tout comme chez la souris C57.

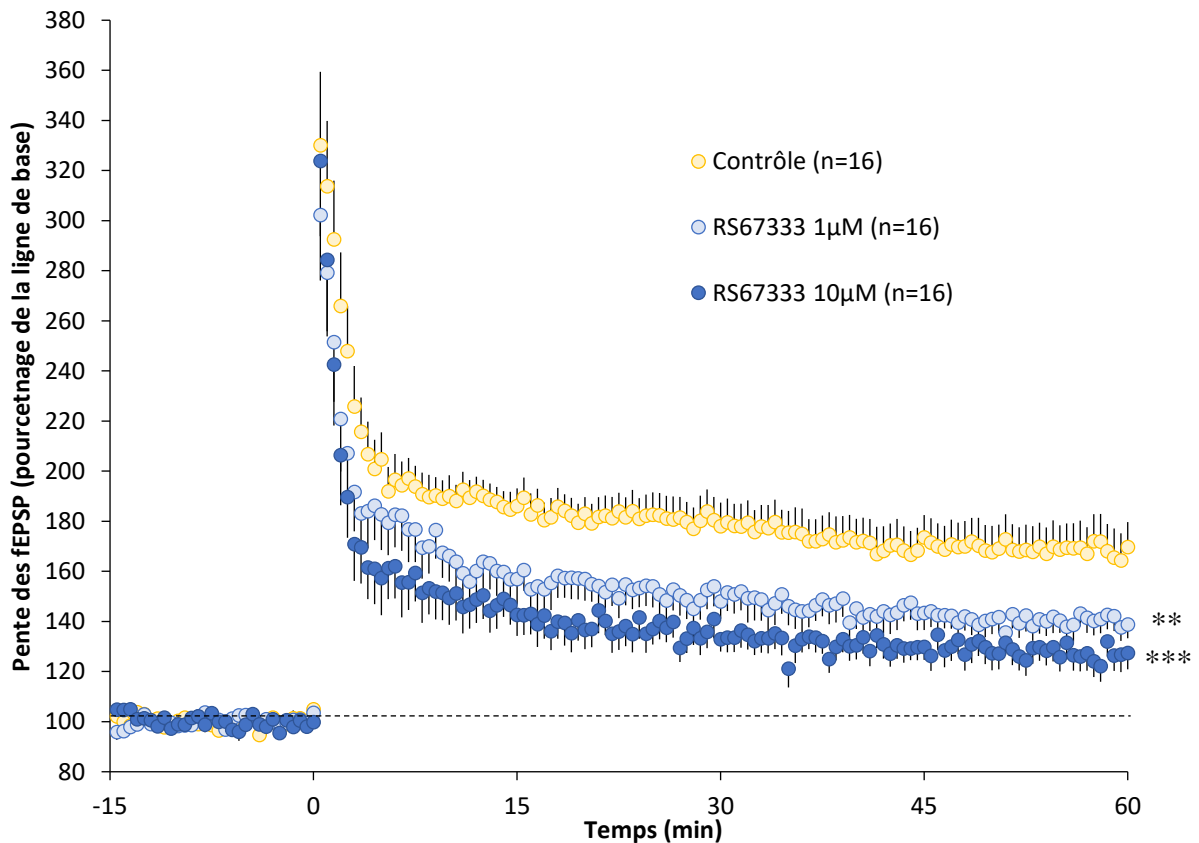


Figure 64: Effet de l'agoniste des 5-HT₄R, le RS67333, sur la LTP chez la souris 5xFAD (** $p<0.01$, *** $p<0.001$ vs contrôle)

L'ANOVA en mesures répétées effectuée sur les enregistrements de LTD ne révèle ni d'effet traitement ($F_{(2,35)}=1.108$, $p=0.3416$) ni d'interaction traitement*temps ($F_{(2,58)}=0.696$, $p=0.8853$), en revanche on observe un effet temps ($F_{(2,29)}=0.799$, $p=0.8594$). Le RS67333 ne semble donc pas avoir d'effet sur la LTD aux concentrations testées chez la souris 5xFAD comme chez la souris C57.

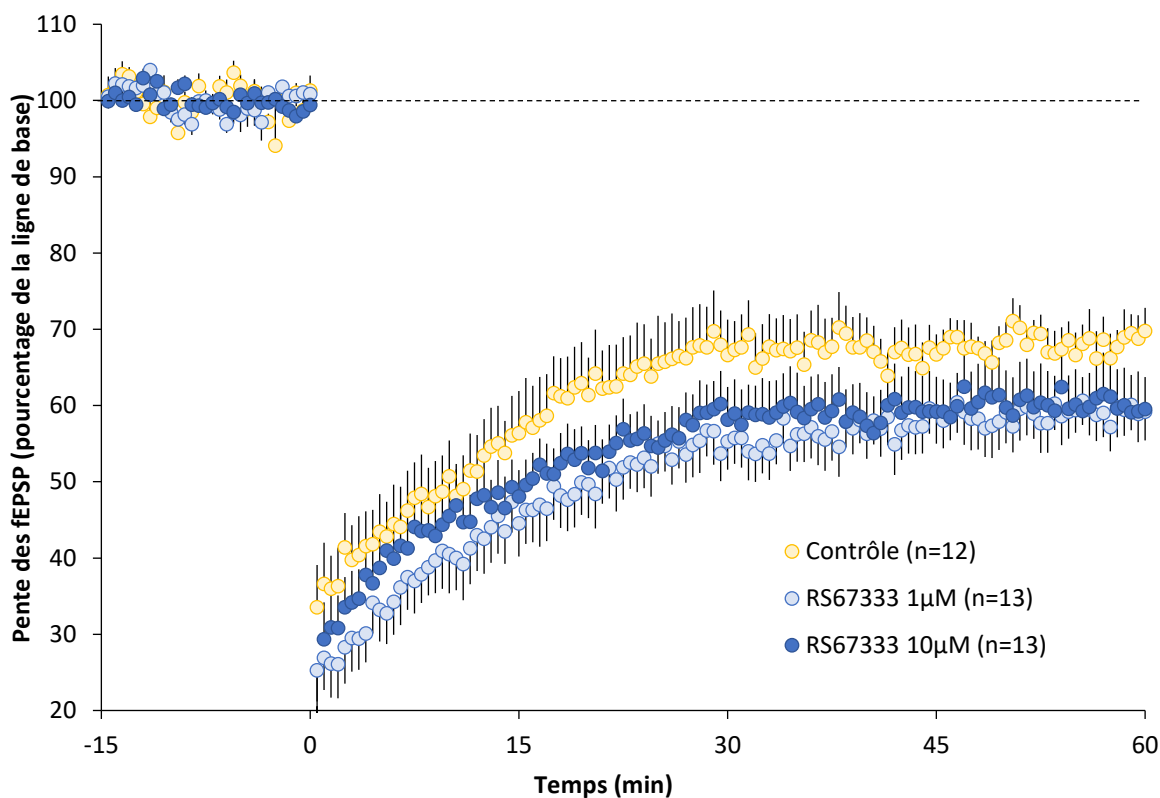


Figure 65: Effet de l'agoniste des 5-HT₄R, le RS67333, sur la LTD chez la souris 5xFAD

3. Discussion

L'objectif de ces travaux était d'étudier les effets d'une stimulation des 5-HT₄R sur la transmission et la plasticité synaptique dans la région CA1 de l'hippocampe dans des conditions pathologiques proches de celle de la MA. Pour cela nous avons donc utilisé un modèle animal de la MA, la souris transgénique 5xFAD et nous avons utilisé comme référence la souche de souris C57/BL6/ (tableau 6).

	Transmission de base	PPF	LTP	LTD
C57/BL6 +RS67333	↗	↘	↘	↔
5xFAD +RS67333	↗	↔	↘	↔
C57/BL6 vs 5xFAD	↘	↔	↔	↗

Tableau 6: Effets de la stimulation des récepteurs 5-HT₄ par l'agoniste RS67333 sur la transmission de base et sur la plasticité synaptique, comparaison entre les souris C57/BL6 et 5xFAD sans traitement. (↗ : augmentation; ↘ : diminution, ↔ : absence d'effet)

En premier lieu, nous avons donc étudié la transmission de base et nous avons observé une diminution significative de ce paramètre chez les souris 5xFAD de 8-10 mois. Les données existantes dans la littérature ne permettent pas de fixer un âge d'apparition précis de ce type de déficits. En effet, certaines études ne rapportent pas de diminution significative de la transmission de base à 4 mois (Baranger et al., 2016; Kimura and Ohno, 2009), alors qu'une autres en rapporte une diminution significative dès 4 mois (Crouzin et al., 2013). De même, de tels déficits ont été rapportés à 6 mois (Kimura and Ohno, 2009) et 7 mois (Lee et al., 2016). En revanche, une étude effectuée sur des souris de 9 mois n'a pas rapporté de déficit de transmission de base chez la souris 5xFAD (Stancu et al., 2014). A l'exception de cette dernière étude, nos résultats sont donc globalement en accord avec ce qui a déjà été observé chez les souris 5xFAD à un âge antérieur. Il est intéressant de noter que les résultats présentés dans l'étude de Stancu et collaborateurs montrent une diminution non significative de la transmission pour les plus hautes intensités testées. Il est cependant compliqué de comparer leurs valeurs aux nôtres car elles sont exprimées en voltage. Or, sans connaître les caractéristiques exactes de leur poste d'électrophysiologie, on ne peut pas savoir quelle intensité de courant a été effectivement utilisée. La différence de résultats entre nos deux études pourrait donc provenir d'une différence de gamme de stimulation.

L'ajout de RS67333 aux deux concentrations testées entraîne une augmentation considérable de la transmission de base à la fois chez les souris 5xFAD et les souris C57/BL6. De façon intéressante, nous avons observé que l'activation des 5-HT₄R permet de récupérer chez les souris 5xFAD un niveau de transmission de base similaire à celui des souris C57/BL6. Ce rétablissement d'une transmission synaptique hippocampique à des niveaux normaux pourrait participer aux effets bénéfiques de l'activation des 5-HT₄R observés dans les études comportementales chez l'animal.

Les résultats de PPF obtenus chez les souris 5xFAD et les souris sauvages correspondantes (C57) ne sont pas différents, indiquant que les mécanismes de libération du glutamate au niveau pré-synaptique ne seraient pas altérés chez les souris 5xFAD de 8-10 mois. Ces observations seraient en accord avec les données de la littérature. En effet, si la PPF n'avait pas encore été mesurée chez les souris 5xFAD à 8-10 mois à notre connaissance, les mesures effectuées à 4 et 6 mois n'ont pas rapporté d'altérations de la PPF chez les souris (Crouzin et al., 2013; Kimura and Ohno, 2009).

Concernant les effets du RS67333 sur la PPF, il est intéressant de noter que cet agoniste des 5-HT₄R diminue la PPF à la concentration de 10 μ M chez les souris C57/BL6 mais n'a pas d'effet sur cette forme de plasticité à court terme chez les souris 5xFAD, quelle que soit la concentration testée. Pour interpréter cette différence il faudrait réussir à identifier le mécanisme exact par lequel la stimulation des 5-HT₄R influe sur la PPF mais on pourrait imaginer que cette voie de transduction est affectée dans la MA.

Les études explorant la LTP chez les souris 5xFAD ont rapporté une diminution de ce type de plasticité à long terme dès l'âge de 6 mois (Crouzin et al., 2013; Kimura and Ohno, 2009) suite à une induction par TBS et dès l'âge de 4 mois suite à une HFS (Baranger et al., 2016). Dans notre étude nous avons bien observé une diminution de la LTP induite par TBS chez les souris 5xFAD de 8-10 mois, mais celle-ci n'est pas significativement diminuée vis-à-vis de la LTP obtenue chez les souris C57/BL6. Des mesures de LTP induite par HFS (données du laboratoire) chez les mêmes souris 5xFAD ont, en revanche, montré une diminution significative de la LTP. Il existe une grande variabilité au niveau des protocoles de TBS utilisés : tous sont basés sur une répétition à 5Hz de bursts constitués de 4 stimulations à 100Hz mais le nombre de bursts appliqués ainsi que le schéma d'application exact peut différer. Ainsi nous appliquons au total 20 bursts, mais ils sont délivrés en 4 séries de 5 bursts espacées de 15 s de repos, contrairement aux études évoquées précédemment dans lesquelles les bursts sont délivrés à la suite en une seule fois. Cette différence d'ordre méthodologique pourrait expliquer que nous ne montrions pas de diminution significative de la LTP chez les souris 5xFAD. Par ailleurs, la différence d'âge peut aussi jouer un rôle et on peut imaginer que des mécanismes compensatoires, pas encore présents à l'âge de 6 mois, entreraient en jeu dans nos expérimentations menées plus tardivement, à l'âge de 8-10 mois.

L'effet de la stimulation des 5-HT₄R sur l'expression de la LTP ne diffère pas entre les souris 5xFAD et les souris C57/BL6. En effet, le RS67333 inhibe la LTP induite par TBS chez ces deux souches de souris. Cette inhibition de la LTP est difficilement réconciliable avec la notion qu'une LTP diminuée est en général synonyme de déficits de mémoire. Or il a été démontré par de nombreux tests comportementaux que l'activation des 5-HT₄R par le RS67333 a des effets pro-mnésiques et anti-amnésiques. Nous aurions donc pu nous attendre à obtenir une augmentation de la LTP par le RS67333. Il faut cependant tenir compte du fait qu'une forte LTP ne signifie pas forcément de bonnes capacités mnésiques ; ainsi il a pu être rapporté *in vitro* dans un modèle de sclérose multiple (les souris EAE : encéphalite auto-immune expérimentale) une augmentation de la LTP hippocampique alors que cette pathologie est

associée chez l'homme à des troubles mnésiques de la mémoire déclarative (Nisticò et al., 2013). Par ailleurs il a été démontré que certains types de mémoires dépendantes de l'hippocampe ne sont pas supportées par la LTP mais par la LTD (pour revue, Hagena and Manahan-Vaughan, 2016).

Les mesures de LTD n'avaient, à notre connaissance, jamais été réalisées chez la souris 5xFAD. Dans notre étude nous avons observé une augmentation significative de la LTD chez la souris 5xFAD par rapport aux souris C57/BL6. Cette observation est intéressante car il a été rapporté que chez le rongeur adulte, la LTD est difficile à induire dans la région CA1 et qu'elle est en revanche grandement facilitée chez le rongeur âgé (pour revue, Pinar et al., 2017). Nos observations mettent peut-être en évidence un vieillissement prématuré des fonctions synaptiques hippocampiques chez la souris 5xFAD qui iraient de pair avec tous les troubles de la mémoire ayant été rapportés chez ces souris. L'effet de la stimulation des 5-HT₄R sur la LTD est proche chez les deux souches de souris que nous avons testées. En effet, on n'observe aucune différence de modification de la LTD par le RS67333 entre la souris C57/BL6 et la souris 5XFAD, même si dans cette première souche nous avons montré que le RS67333 tend à faciliter de façon non significative la LTD. Cette légère différence est sans doute le fait d'une LTD plus faible chez les souris C57 que chez les souris 5xFAD où on peut supposer qu'elle approche une valeur saturante. Il est par ailleurs intéressant de noter qu'en se basant sur la représentation graphique de ces résultats la concentration de 1µM semble provoquer un effet plus important sur la LTD que la concentration de 10µM, suggérant la nécessité d'une régulation fine de l'activation des 5-HT₄R pour obtenir une LTD maximale.

Cette étude, menée en condition pathologique, avait pour but de montrer l'existence de modifications de l'activité synaptique de base et de la plasticité synaptique dans la région CA1 de l'hippocampe suite à l'activation des 5-HT₄R. L'objectif étant de relier ces modifications aux effets bénéfiques exercés par les agonistes des 5-HT₄R sur les performances de mémoire tels qu'observés *in vivo*. Nos travaux ont montré un effet allant dans ce sens : une augmentation de la transmission de base. En revanche, nous n'avons pas observé d'effet sur la LTD des souris 5xFAD et avons observé une inhibition de la LTP chez ces souris.

DISCUSSION GENERALE

Discussion générale

Mes travaux de thèse se sont attachés à étudier l'intérêt thérapeutique d'une stimulation des récepteurs 5-HT₄ dans le cadre de la maladie d'Alzheimer. Trois études ont ainsi été réalisées au cours de ma thèse. Dans un premier temps, la pertinence d'association d'un agoniste des 5-HT₄R à l'un des médicaments inhibiteur d'acétylcholinestérase (IACHÉ) actuellement sur le marché a été évaluée *in vivo* chez la souris saine. Les résultats de cette première étude ont permis, non seulement, de démontrer l'intérêt thérapeutique de cette stratégie multi-cible, mais également de confirmer les effets comportementaux bénéfiques de la stimulation des récepteurs 5-HT₄. Dès lors, à l'aide d'un modèle *ex vivo* d'étude de la plasticité synaptique, je me suis attaché, dans un deuxième temps, à mieux comprendre les mécanismes mis en jeu lors d'une stimulation des récepteurs 5-HT₄. Cette deuxième partie a donné lieu à deux études portant, respectivement, sur un modèle murin sain puis sur un modèle murin transgénique, mimant la cascade amyloïdogénique observée dans la pathologie Alzheimer.

I. L'association d'un agoniste des récepteurs 5-HT₄ et d'un inhibiteur de l'acétylcholinestérase exerce de façon synergique des effets anti-amnésiants dans la mémoire de travail spatiale et la mémoire aversive à long terme chez la souris

A ce jour, seul 4 médicaments répartis dans deux classes thérapeutiques existent pour traiter la pathologie Alzheimer. L'hypothèse cholinergique de la MA ayant donné lieu à la classe thérapeutique la plus importante, les inhibiteurs d'acétylcholinestérase. Cependant, quelle que soit la classe thérapeutique considérée, l'efficacité thérapeutique de ces médicaments est uniquement symptomatologique et relativement limitée (Lleó et al., 2006). Afin d'améliorer l'efficacité de la prise en charge thérapeutique d'une maladie à fois complexe et multifactorielle (Cavalli et al., 2008), de nombreux auteurs plaident en faveur du recours aux stratégies thérapeutiques multi-cibles qui font appel soit à l'association médicamenteuse, soit au développement de molécules pléiotropiques – encore appelées les MTDL (Hughes et al., 2016). Dès lors et malgré les limitations des médicaments actuellement disponibles, ces molécules ont donc été les premières à être associées entre elles ou à d'autres composés pour l'étude de thérapies multi-cibles.

Notre première étude portait sur l'intérêt d'une co-administration d'un agoniste des 5-HT₄R (RS67333) et d'un inhibiteur d'acétylcholinestérase utilisé en clinique pour le traitement de la maladie d'Alzheimer (la galantamine). Parmi les 3 IACHÉ actuellement disponibles sur le marché, notre choix s'est porté sur la galantamine en raison de la propriété modulatrice allostérique positive des récepteurs nicotiniqes qu'elle démontre également.

Nous avons donc étudié les effets anti-amnésiants de l'administration seule du RS67333 ou de la galantamine, ainsi que de l'association de ces deux molécules, *in vivo* chez la souris jeune saine NMRI. Les performances des souris en mémoire de travail spatiale et de référence à long terme ont été évaluées au travers de deux tests comportementaux (test d'alternance spontanée et test d'évitement passif, respectivement). Par ailleurs, le déficit mnésique a été induit *via* l'administration de scopolamine (1mg/kg), un antagoniste muscarinique cholinergique. Ce modèle de déficit 'cholinergique' a été choisi à la fois pour sa simplicité de mise en œuvre, mais également sa transversalité – décrit et utilisé à la fois en recherche préclinique et clinique. Les résultats de cette première étude ont permis de démontrer les effets anti-amnésiants de l'administration seule, à la fois de la galantamine, mais également du RS67333. De plus, l'association de doses sub-efficaces de galantamine et de RS67333 se révèle également efficace dans les deux tests comportementaux pour contrebalancer le déficit mnésique induit par la scopolamine. Ce dernier résultat a ainsi permis de démontrer la synergie d'action d'un IAChE et d'un agoniste 5-HT₄R (*tableau 7*).

Condition	Alternance spontanée		Evitement passif (acquisition)		Evitement passif (rétention)	
	Normale	Déficit	Normale	Déficit	Normale	Déficit
RS67333	Augmentation non significative des performances	Récupération des performances normales à 1mg/kg	Pas d'effet aux doses testées	Récupération des performances normales à 2mg/kg	Pas d'effet aux doses testées	Récupération des performances normales à 1mg/kg
Galantamine	Pas d'effet aux doses testées	Récupération à 3mg/kg	Augmentation des performances à 0.3mg/kg	Pas d'effet aux doses testées	Pas d'effet aux doses testées	Récupération des performances normale dès la plus faible dose testée (0.3mg/kg)
RS67333 + Galantamine En condition de déficit	Récupération à 0.5mg/kg + 1mg/kg		Récupération à 1mg/kg + 3mg/kg		ND	

Tableau 7: récapitulatif des résultats obtenus suite à l'administration de RS67333 et de galantamine seuls ou associés, dans un test d'alternance spontanée et un test d'évitement passif en conditions normales ou de déficit induit par la scopolamine (1mg/kg)

A ce jour, seules 5 études ont étudié l'intérêt d'une telle association. Trois d'entre elles ont étudié la validité de cette association dans la mémoire de reconnaissance (Freret et al., 2012; Lamirault et al., 2003; Moser, 2002), l'une a testé la mémoire de travail (Cachard-Chastel et al., 2008) et la dernière a testé la mémoire spatiale de référence (Mohler et al., 2007). Il est par ailleurs important de noter que seule l'équipe de Cachard-Chastel a effectué des tests en condition de déficits pharmacologiquement induits comme dans notre étude.

En ce qui concerne la mémoire de travail explorée par le test d'alternance spontanée dans notre étude, ni la galantamine ni le RS67333 administrés seuls aux doses testées n'ont modifié le comportement des souris en condition normale. Il est cependant intéressant de noter que le RS67333, bien que ne modifiant pas significativement les performances comparativement aux animaux contrôles, augmente de façon dose-dépendante le comportement d'alternance spontanée dans notre étude. Des résultats similaires ont été obtenus avec le prucalopride dans un essai clinique chez le volontaire sain (numéro d'essai clinique : NCT03572790) ; en effet bien qu'une certaine amélioration des performances de mémoire ait été décrite, en ce qui concerne la mémoire de travail les résultats n'étaient pas significatifs. De même, au niveau préclinique, nos résultats sont en accord avec la littérature existante en ce qui concerne l'activation des 5-HT₄R (Lelong et al., 2003; Mohler et al., 2007) et l'action de la galantamine (Mohler et al., 2007). En effet, malgré certaines variations dans les études, notamment au niveau du matériel de test (labyrinthe en Y ou labyrinthe en croix) ou du ligand des 5-HT₄R utilisé (BIMU1, VRX-03011 ou RS67333), le protocole général était le même (notamment le moment d'injection, 30min avant les tests), et les résultats ont montré une absence d'effet dans les conditions basales. Par ailleurs, l'équipe de Mohler a rapporté que le VRX-03011, bien que n'ayant pas d'effet dans les conditions de base, produit un effet pro-mnésiant dans des conditions nécessitant un effort cognitif plus important (test d'alternance spontanée avec un délai de 30s). De même, dans cette tâche d'alternance spontanée avec délai, la galantamine a elle aussi montré un effet pro-mnésiant (Mohler et al., 2007). Ces résultats suggèrent que le test d'alternance spontanée sans délai n'est peut-être pas assez sensible en condition normales pour révéler un effet de ces composés. Au contraire, dans les conditions de déficit induit par l'injection préalable de scopolamine, le RS67333 et la galantamine, administrés seuls, chacun à la plus haute dose testée, ont permis la récupération de performances normales. Cet effet du RS67333 est en accord avec les résultats décrits dans la seule étude réalisée sur l'activation des 5-HT₄R en condition de déficit induit par la scopolamine chez le rat (Lelong et al., 2003). Dans cette étude du laboratoire, les auteurs rapportent que le RS67333, à la même dose que celle utilisée dans notre étude, et le BIMU1, à 10mg/kg, permettent la récupération complète du déficit induit par la scopolamine (1mg/kg) dans le test d'alternance spontanée. De même, la galantamine contrebalance le déficit induit par la scopolamine à une dose comparable (3mg/kg) à celle décrite dans la littérature (Fishkin et al., 1993; Sweeney et al., 1988). Enfin, notre étude montre que l'association des deux composés à des doses sub-actives entraîne un effet anti-amnésiant dans la mémoire de travail spatiale en condition de déficit induit pharmacologiquement, ce qui n'avait pas été montré jusqu'alors. En effet, la seule étude associant le RS67333 et la galantamine à des doses sub-actives (Lamirault et al., 2003) avait démontré un effet pro-mnésiant (donc hors déficit) dans la mémoire de reconnaissance.

De même, Mohler et son équipe, bien qu'ayant travaillé sur la mémoire de travail spatiale, n'étaient pas non plus en conditions de déficit et ont, de plus, utilisé un autre agoniste des 5-HT₄R en association avec la galantamine (Mohler et al., 2007).

En ce qui concerne la mémoire de référence à long terme, nos travaux ont donné des résultats similaires à ceux obtenus dans la mémoire de travail spatiale avec le RS67333. En effet nous n'observons pas d'effet du RS67333 sur les performances de mémoire en conditions normales, quel que soit le moment d'injection (paradigme d'acquisition : injection 30 minutes avant la phase d'apprentissage ou paradigme de rétention : injection 30 minutes avant la phase de rappel) ou la dose testée. Ces résultats sont en accord avec la seule étude réalisée dans des conditions similaires (Matsumoto et al., 2001) qui rapporte une absence d'effet en conditions normales et ce, y compris suite à une administration centrale de l'agoniste. En revanche, nous avons observé en conditions de déficit un effet anti-amnésiant du RS67333 dans les deux paradigmes d'injection. Là encore, ces résultats coïncident avec la littérature. En effet, après injection d'un agoniste des 5-HT₄R, il a été démontré une réduction significative du déficit (Galeotti et al., 1998; Lo et al., 2014; Matsumoto et al., 2001). Il est cependant intéressant de noter qu'une étude réalisant des travaux proches des nôtres a démontré un effet amnésiant du RS67333 dans un modèle de déficit induit par un antagoniste des récepteurs NMDA, le MK801, sur le test d'évitement inhibiteur (Nasehi et al., 2015). Toutefois, dans cette dernière étude, le RS67333 a été injecté après l'apprentissage, qui n'est pas la condition la plus favorable pour observer un effet de l'agoniste. En effet, plusieurs études montrent que le moment optimal d'administration de l'agoniste des 5-HT₄R précède l'apprentissage et qu'une injection juste après celui-ci est, au contraire, amnésiante (Hotte et al., 2012; Meneses and Hong, 1997). Ces résultats ne sont donc pas en contradiction avec les nôtres au vu des différences importantes de protocole entre nos deux études. En ce qui concerne la galantamine, ses effets en conditions normales sont différents de ceux du RS67333 puisque ce composé montre un effet pro-mnésiant à la plus faible dose testée (0.3mg/kg), mais pas aux doses plus élevées lorsqu'il est injecté avant la phase d'acquisition et ne montre pas d'effet lorsqu'il est injecté avant la phase de rétention. A l'aide d'un autre IChE, la physostigmine, un effet pro-mnésiant avait également été retrouvé, et ce, là encore, à la plus faible dose testée (0.3mg/kg) (Madjid et al., 2006). A l'inverse, dans les conditions de déficit, la galantamine n'améliore pas les performances lorsqu'elle est injectée avant la phase d'acquisition mais toutes les doses testées améliorent les performances lorsqu'elle est injectée avant la phase de rétention. A notre connaissance aucune étude n'a étudié les effets de la galantamine sur les deux phases de l'évitement passif. En ce qui concerne les résultats obtenus suite à une injection précédant la phase d'acquisition, il a été rapporté que le donepezil ne contrebalance pas les déficits causés par la scopolamine à 0.3mg/kg (Misane and Ögren, 2003) alors que la physostigmine contrebalance les déficits induits par la scopolamine à 0.5mg/kg (Yoshida and Suzuki, 1993) et à 3mg/kg (Rush and Streit, 1992) et que la

galantamine en est, elle aussi, capable avec une dose de scopolamine à 3mg/kg (Bores et al., 1996). Ces études apportent des résultats en partie en opposition avec les nôtres pouvant être attribuables à des différences importantes entre les protocoles, notamment dans le cas de l'étude de Bores et collaborateurs. En effet, les délais d'injections, de même que les doses injectées des IACHÉ, sont très différents entre nos deux études ; on peut donc penser que le niveau d'activation cholinergique en résultant au moment des tests soit sensiblement différent. En conclusion, il semble donc que l'effet de la galantamine en condition de déficit induit par la scopolamine soit très finement dépendant du niveau de l'activité cholinergique. Or, comme nous l'avons déjà observé en conditions normales la galantamine (et la physostigmine) n'ont un effet pro-mnésiant qu'à la dose de 0.3mg/kg et pas au-delà. Ces observations renforcent donc l'idée qu'un niveau optimal d'activation cholinergique est nécessaire pour obtenir les meilleures performances au cours des processus de mémoire et d'apprentissage.

Enfin, l'association des deux composés à des doses sub-actives a entraîné une réduction du déficit induit pharmacologiquement lorsque l'injection a eu lieu avant la phase d'acquisition (nous n'avons pas testé l'effet d'une injection conjointe de ces deux molécules avant la phase de rétention car nous n'avons pas mis en évidence de dose sub-active pour la galantamine dans ces conditions) de l'évitement passif, démontrant un effet anti-amnésiant dans la mémoire de référence à long terme qui n'avait pas été montré jusqu'alors.

Cependant, les mécanismes d'action exacts mis en jeu dans cette synergie d'action demeurent mal compris à ce jour. Un effet complémentaire positif de ces deux agents pharmacologiques sur la transmission cholinergique générale peut être avancé : l'agoniste des 5-HT₄R favorisant la libération de sérotonine (Consolo et al., 1994; Matsumoto et al., 2001) et la galantamine inhibant sa dégradation et potentialisant son effet sur les récepteurs nicotiniques. En revanche, les agonistes des 5-HT₄R exercent d'autres effets pro-mnésiants, comme l'augmentation de la production de sAPP α . Il faudrait donc étudier la part des autres effets des agonistes des 5-HT₄R associés à une potentialisation de la transmission cholinergique dans les résultats obtenus dans notre étude.

Par ailleurs, nos résultats ont été obtenus chez des souris saines. Le système cholinergique étant fortement altéré dans la MA, il serait intéressant de se rapprocher de ces conditions pour tester l'efficacité de cette association de traitements. Des travaux ont été menés en ce sens dans notre laboratoire par Katia Hamidouche (Doctorat de l'Université de Caen Normandie, soutenu en 2018). Au cours de ses travaux de thèse, le Docteur Hamidouche a mené des expérimentations sur les souris 5xFAD, un modèle transgénique d'hyperamiloïdogénèse (Oakley et al., 2006) présentant, entre autres, d'importants dysfonctionnements cholinergiques (Devi and Ohno, 2010).

Elle a notamment testé l'efficacité d'un traitement par le donécopride, le premier ligand multi-cible associant une activité IChE et agoniste des 5-HT₄R (Rochais et al., 2015). Les résultats obtenus sont prometteurs mais leur confidentialité nous empêche de les discuter ici.

Cette étude renforce l'intérêt des stratégies multi-cibles associant un IChE et un agoniste des 5-HT₄R dans le traitement de la MA mais de nombreux travaux sont encore nécessaires avant la transposition d'une telle stratégie chez l'homme, notamment en ce qui concerne les effets indésirables liés à l'activation des 5-HT₄R. En effet ces récepteurs sont aussi très présents au niveau périphérique, *a fortiori* dans le système gastro-intestinal. Il serait donc intéressant de voir si la synergie d'action que nos travaux rapportent permettrait l'emploi d'une dose d'agoniste des 5-HT₄R n'ayant pas d'effets périphériques. Au vu du récent déremboursement des IChE en France, ce dernier point présente une pertinence certaine. En effet, le déremboursement de ces spécialités parmi lesquelles on compte la galantamine a été décidé sur la base de leur faible efficacité mais aussi et surtout à cause des effets indésirables de ces molécules (Haute Autorité de Santé, 2016). Une thérapie usant de doses plus faibles et associant plusieurs molécules aux effets synergiques paraît donc tout à fait appropriée dans ce contexte.

II. L'activation des récepteurs 5-HT₄ entraîne, par une action sur la transmission GABAergique, une diminution de la LTP induite par stimulation thêta sur tranche d'hippocampe de souris

Au cours de la deuxième étude réalisée dans le cadre de mes travaux de thèse, nous avons cherché à mieux comprendre les effets de la modulation de ces récepteurs sur les processus de plasticité synaptique hippocampique. Pour ce faire, j'ai développé au sein du laboratoire le modèle *ex vivo* d'étude électrophysiologique sur tranche d'hippocampe, grâce à la tutelle et à l'assistance du Dr. Jean-Marie Billard alors chercheur à Centre de Psychiatrie et Neurosciences de l'hôpital Saint-Anne à Paris.

J'ai ainsi pu mettre en évidence, dans un premier temps, que le RS67333 (10 μ M) augmente la transmission de base (dépendante des récepteurs AMPA), ainsi que l'activité des récepteurs NMDA (et ce, aux deux concentrations de RS67333 testées, 1 et 10 μ M) au niveau de la région CA1 de l'hippocampe. Par ailleurs, j'ai également pu mettre en évidence une diminution de la PPF, une forme de plasticité synaptique à court terme, suite à l'application de RS67333. L'utilisation d'un antagoniste des 5-HT₄R, le RS39604, n'ayant aucun effet sur ces phénomènes par lui-même, a, par la suite, permis de déterminer la spécificité d'action de ces effets (*tableau 8*).

	Agoniste RS67333	Antagoniste RS39604	RS67333 + RS39604
Réponse AMPA	Augmentation à 10 μ M	Pas d'effet	Persistance des effets du RS6733 à 10 μ M
Réponse NMDA	Augmentation à 1 et 10 μ M	Pas d'effet	Blocage des effets du RS67333 à 1 et 10 μ M
PPF	Diminution à 1 et 10 μ M	Pas d'effet	Blocage des effets du RS67333 à 1 μ M mais pas à 10 μ M

Tableau 8: tableau récapitulatif des effets de la stimulation ou du blocage des récepteurs 5-HT₄ sur l'activité des récepteurs NMDA et AMPA et sur la PPF

Dans un deuxième temps, je me suis intéressé aux effets de l'application du RS67333 sur deux formes de plasticité à long terme, la LTD et la LTP, cette dernière ayant été induite à l'aide de deux protocoles de stimulation différents. Comme nous le discuterons par la suite, ces deux protocoles de

LTP ont été choisis afin de faire intervenir de façon différentielle le système de neurotransmission GABAergique.

Nos résultats mettent en évidence, outre l'augmentation (non statistiquement significative) de la LTD, un effet différentiel du RS67333 sur la LTP, en fonction du protocole d'induction utilisé. La LTP induite par une stimulation haute fréquence n'est pas modifiée lors de l'application du RS67333, alors qu'elle est diminuée (en termes d'amplitude) avec un protocole de LTP induite par une stimulation thêta-burst. De nouvelles études électrophysiologiques en champ CA1 explorant la LTP induite par une stimulation thêta-burst ont alors été réalisées en présence d'un antagoniste des récepteurs GABA_A, la bicuculline. Si le blocage de ces récepteurs n'affecte pas la LTP en condition contrôle dans le protocole TBS, il prévient cependant la diminution de la LTP induite par le RS67333, suggérant que les effets du RS67333 sur la LTP impliquent la transmission GABAergique. Une étude en patch clamp a alors été réalisée afin de mesurer l'effet de la stimulation des 5-HT₄R sur l'excitabilité des neurones GABAergique. Contrairement à ce qui était attendu, ces expérimentations en patch-clamp n'ont pas pu mettre en évidence d'effet direct de l'activation des 5-HT₄R sur la transmission GABAergique en conditions évoquées ou spontanées. Enfin, nous avons testé les effets d'un blocage des récepteurs GABA_B, par le CGP55845. Le blocage de ces récepteurs diminue la LTP, et ce de façon similaire au effet du RS67333. L'association du RS67333 et de l'antagoniste des récepteurs GABA_B ne montre pas d'effet additif (*tableau 9*).

	LTP (TBS)	LTP (HFS)	LTD
RS67333	Inhibition à 1 et 10µM	Pas d'effet	Facilitation non significative
RS39604 (1µM)	Pas d'effet	ND	Pas d'effet
RS67333 (10µM) + RS39604 (1µM)	Suppression des effets du RS67333	ND	Suppression des faible effets du RS67333
Bicuculline (10µM)	Pas d'effet	ND	ND
Bicuculline (10µM) + RS67333 (10µM)	Suppression des effets du RS67333	ND	ND
CGP55845 (1µM)	Inhibition	ND	ND
CGP8845 (1µM) + RS67333 (10µM)	Inhibition	ND	ND

Tableau 9: tableau récapitulatif des résultats obtenus sur la plasticité synaptique

Les deux seules études existantes sur les effets de la modulation de l'activité des 5-HT₄R sur la plasticité synaptique hippocampique de la région CA1 ont été réalisés *in vivo* et rapportent des

résultats différents : pour l'une la LTP est augmentée par l'activation des 5-HT₄R (Matsumoto et al., 2001) et pour l'autre elle n'est pas affectée (Kemp and Manahan-Vaughan, 2005).

Devant cette contradiction d'effet observé *in vivo*, il nous avait donc paru intéressant de mieux comprendre les mécanismes sous-jacents à l'aide du modèle simplifié *ex vivo*, plus simpliste. Nos résultats indiquent que la LTP n'est pas affectée par l'activation des 5-HT₄R lorsqu'elle est induite par une HFS, ce qui concorde avec les résultats de Kemp et Manahan-Vaughan. La stimulation par HFS est un protocole d'induction de la LTP communément utilisé et prend le plus souvent la forme d'une stimulation tétanique à une fréquence de 100Hz appliquée durant 1s et répétée un nombre variable de fois. La répétition n'influe pas sur l'amplitude la LTP induite, mais va prolonger sa durée. Les études *in vivo* vont donc en général utiliser de tels protocoles pour obtenir des enregistrements plus longs. Ainsi Kemp et Manahan-Vaughan ont utilisé ce protocole répété 4 fois toutes les 5 minutes ; en revanche Matsumoto et ses collaborateurs ont utilisé un protocole différent consistant en 5 trains à 1Hz composés de 8 stimulations à 400Hz. Ce type de protocole est plus généralement utilisé dans le gyrus denté pour provoquer une LTP durable par stimulation de la voie perforante (Abraham et al., 1993). De plus, il est possible que ce protocole à très haute fréquence met en jeu des mécanismes d'induction de la LTP qui ne sont pas activés à des fréquences plus modestes et qui seraient sensibles à une modulation par l'activité des 5-HT₄R. Ainsi il a, par exemple, été démontré que des stimulations tétaniques à 200Hz sont capables de provoquer l'ouverture de canaux calcique voltage-dépendants, dont l'influx calcique s'ajoute à celui entrant par les récepteurs NMDA (Grover and Teyler, 1990). Il est donc possible que la différence de résultat observée résulte de cette différence méthodologique. En ce qui nous concerne nous avons utilisé le protocole classique (100Hz durant 1s) sans répétition ; nos conditions sont donc proches de celles de Kemp et Manahan-Vaughan, ce qui peut expliquer la concordance de nos observations.

Ce protocole de HFS n'est cependant pas le seul utilisé couramment pour induire une LTP et il est parfois critiqué pour son aspect « non physiologique », comparé au protocole d'induction TBS. Ce second protocole est en effet considéré comme plus pertinent du point de vue fonctionnel car il reproduit le rythme thêta typique de l'activité électrique des réseaux neuronaux hippocampiques (Ranck, 1973; Rudell et al., 1980). Par ailleurs, la LTP induite par cette stimulation a été démontrée comme étant plus sensible à un large éventail de conditions. Ainsi, elle est plus sensible au vieillissement (Moore et al., 1993), au stress (Diamond et al., 1994) et aux manipulations affectant les voies de signalisation du BDNF (Chen et al., 2010; Kang et al., 1997; Skucas et al., 2011), des endocannabinoïdes (Pan et al., 2011), des récepteurs à l'adénosine (Costenla et al., 1999) ou de la sérotonine (Corradetti et al., 1992). Parmi ces conditions, un bon nombre d'entre elles affecte aussi les facultés d'apprentissage et de mémoire et il a donc été suggéré que la LTP induite par TBS serait

un meilleur modèle pour l'étude des effets affectant la mémoire que la LTP induite par HFS. Sur la base de ces notions, nous avons voulu tester ce protocole de stimulation lors d'une activation des 5-HT₄R, espérant que sa plus grande sensibilité révélerait un effet autrement passé inaperçu dans la LTP induite par HFS. Nous avons montré qu'avec ce protocole, la stimulation des 5-HT₄R diminue l'amplitude de la LTP, chose qui n'avait jamais été montrée auparavant. Toutefois, une étude datant de 1992 (avant la découverte des 5-HT₄R) avait démontré que l'ajout de sérotonine sur des tranches d'hippocampe de rat n'avait pas d'effet sur une LTP induite par HFS mais entraînait une inhibition de la LTP induite par « primed-burst » (Corradetti et al., 1992). Ce dernier protocole étant très proche de celui de TBS, on peut donc penser que les effets observés dans cette étude étaient dus à l'activation des 5-HT₄R. A l'époque, les auteurs ont attribué ces effets à l'activation des 5-HT_{1a}R et 5-HT₃R, les premiers hyperpolarisant les neurones pyramidaux et les seconds augmentant la libération de GABA (Bijak and Misgeld, 1997). Dans notre étude nous avons confirmé que l'inhibition de la LTP provient bien de l'activation des 5-HT₄R par deux moyens. En premier lieu, nous avons testé deux doses de RS67333, 1 et 10µM, et nous avons obtenus des résultats identiques. Au vu du profil pharmacologique du RS67333 (Eglen et al., 1995), si les 5-HT_{1a}R ou les 5-HT₃R (pK_i=6.4 pour ces deux récepteurs) avaient été impliqués dans les effets observés, nous aurions obtenus des résultats différents entre la concentration à 1µM et à 10µM. En effet, dans le premier cas, seulement 50% des récepteurs seraient occupés alors que 90% de ces récepteurs seraient occupés dans le second cas. Ensuite, nous avons utilisé un antagoniste des 5-HT₄R, le RS39604, dont l'affinité pour les 5-HT₄R est 1000 fois plus élevée que pour les 5-HT_{1a}R et les 5-HT₃R (Hegde et al., 1995). Cet antagoniste n'a eu aucun effet seul sur la LTP, mais a en revanche bloqué les effets du RS67333 à 1 et 10µM.

Notre étude du mécanisme impliqué dans ces effets inhibiteurs sur la LTP provoqués par l'activation des 5-HT₄R a débuté par l'étude de l'activité des récepteurs NMDA. En effet ceux-ci sont nécessaires dans l'induction de la LTP ; il est donc possible que l'activation des 5-HT₄R diminue leur activité, ce qui pourrait expliquer l'inhibition de la LTP. Cet effet serait cependant peu probable dans la mesure où la LTP induite par HFS dépend aussi de ces récepteurs alors qu'elle n'a pas été affectée par l'activation des 5-HT₄R. Nos mesures de l'activité des récepteurs NMDA confirment cette dernière remarque : en effet la réponse NMDA mesurée suite à la stimulation des 5-HT₄R n'est pas diminuée bien au contraire. Nous observons une augmentation significative de cette réponse excitatrice aux deux doses testées et la disparition de cet effet lors de l'ajout concomitant de RS39604 signifie qu'il découle bien de la stimulation des 5-HT₄R.

Par la suite, nous nous sommes donc intéressés à l'effet du blocage des récepteurs GABA_A. En effet, il est connu que la stimulation des 5-HT₄R peut influencer, par la phosphorylation de sous-unités du récepteur GABA_A, sur les courants médiés par ces récepteurs dans le cortex (Cai et al.,

2002). Cette régulation dépendante de l'activité neuronale préalable peut entraîner une augmentation, comme une diminution de la transmission GABAergique ; ainsi lorsque les neurones sont très actifs l'activation des 5-HT₄R diminue l'activité des récepteurs GABA_A et *vice-versa*.

De même, il a été démontré que l'activation des 5-HT₄R peut augmenter la fréquence de libération spontanée du GABA dans le gyrus denté (Bijak and Misgeld, 1997). Dans notre cas, il était donc logique de penser qu'une augmentation de la transmission GABAergique suite à l'activation des 5-HT₄R pourrait être à l'origine d'une dépolarisation moindre de l'élément post-synaptique et donc d'une moindre activation des récepteurs NMDA, résultant *in fine* en une LTP diminuée. L'utilisation de bicuculline, un antagoniste des récepteurs GABA_A, nous a permis de montrer que les effets de la stimulation des 5-HT₄R sur la LTP passent bien par une régulation du système GABAergique. En revanche, une étude en patch-clamp des IPSC évoqués a révélé que la transmission synaptique médiée par les récepteurs GABA_A n'est pas affectée par la présence d'un agoniste des 5-HT₄R. Cette dernière observation est en accord avec nos mesures de la transmission de base, qui aurait été diminuée si la transmission de base GABAergique avait été augmentée.

Nous avons donc par la suite testé un antagoniste des récepteurs GABA_B, le CGP55845. Les récepteurs GABA_B sont présents à la fois au niveau pré et post-synaptique et leur effet va dépendre de leur localisation. Au niveau post-synaptique ils participent à l'établissement du potentiel post-synaptique inhibiteur et au niveau pré-synaptique ils diminuent la libération du neurotransmetteur. Ces récepteurs sont un élément clé de l'efficacité d'une TBS à induire une LTP. En effet, lors d'une stimulation au rythme thêta, le premier burst va entraîner une auto-inhibition de la transmission GABAergique par le biais des autorécepteurs GABA_B (Davies et al., 1990) présents sur la terminaison GABAergique. Ainsi les bursts suivants vont entraîner des réponses excitatrices plus fortes et une dépolarisation de l'élément post-synaptique plus importante, ce qui va activer les récepteurs NMDA et induire une LTP (*figure 66*).

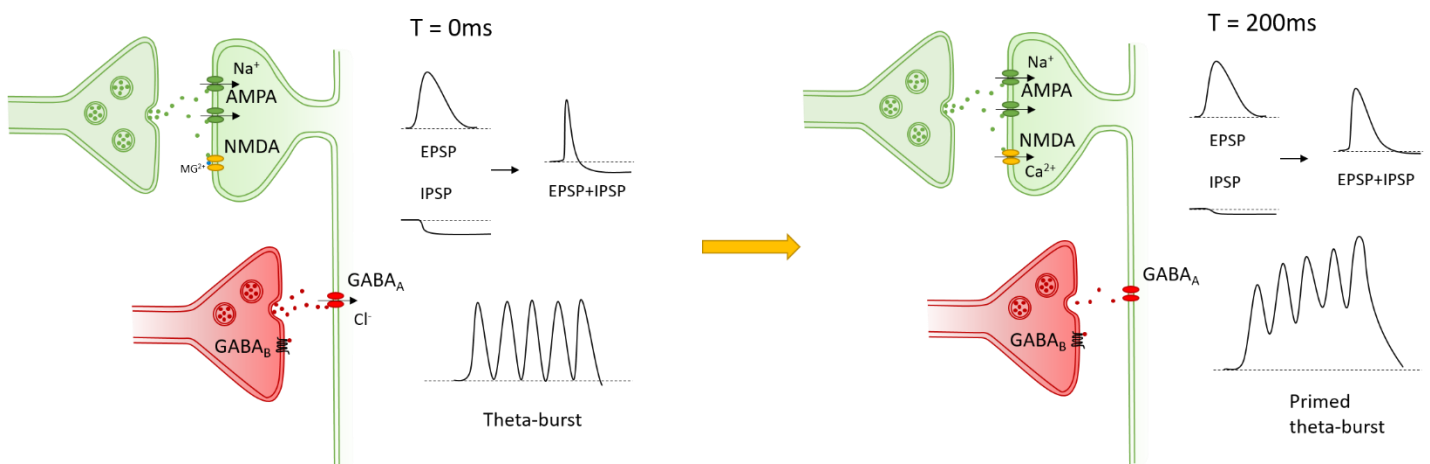


Figure 66: schéma expliquant l'implication du récepteur GABAB dans l'induction de la LTP par TBS

Cet effet d'auto-inhibition est maximal autour de la fréquence thêta (5Hz) et est compensé par un effet de facilitation de la libération de GABA à des fréquences plus élevées (Davies and Collingridge, 1993) expliquant que ces récepteurs GABA_B jouent un rôle crucial dans la LTP induite par TBS mais pas par HFS. En accord avec ces observations et avec la littérature existante (Mott and Lewis, 1992; Stäubli et al., 1999), l'ajout d'un antagoniste des récepteurs GABA_B a donc entraîné une diminution de la LTP induite par TBS, d'amplitude et de décaours similaires à celles observées suite à la stimulation des 5-HT₄R. De plus, la diminution de la LTP induite par TBS en présence de l'agoniste des 5-HT₄R et de l'antagoniste des récepteurs GABA_B n'est pas différente de celle induite par chacun de ces composés isolés. Ce dernier point suggère un mécanisme d'action commun sur la LTP entre l'activation des 5-HT₄R et le blocage des récepteurs GABA_B.

Notre hypothèse pour expliquer les effets de la stimulation des 5-HT₄R sur la LTP induite par TBS est donc que les 5-HT₄R sont capables d'agir sur l'activité des récepteurs GABA_B. Plus spécifiquement, nous supposons que l'activation des 5-HT₄R va réguler négativement l'activité des autorécepteurs GABA_B présents sur les terminaisons GABAergiques. En effet, nos travaux regroupent un certain nombre de résultats expérimentaux pointant dans cette direction.

Le premier argument en faveur de cette théorie regroupe évidemment les mesures de LTP effectuées en présence d'un antagoniste des récepteurs GABA_A ou d'un antagoniste des récepteurs GABA_B que nous venons d'évoquer. En effet, la disparition des effets de la stimulation des 5-HT₄R sur la LTP en présence de bicuculline associée à l'absence d'effets de cette stimulation sur les IPSC évoqués indique que l'activation des 5-HT₄R n'a pas d'effets sur la transmission GABAergique basale (c'est à dire, par homologie avec la transmission de base AMPA, à une fréquence de stimulation n'entraînant pas de phénomène de plasticité). Il en découle donc que l'activation des 5-HT₄R va influencer sur la plasticité à court terme de la transmission GABAergique lors de stimulations à fréquence élevée, ce qui peut dans le contexte qui nous intéresse, signifier soit une augmentation de la facilitation synaptique de la transmission GABAergique soit une diminution de sa dépression. La première hypothèse impliquerait une diminution de la LTP induite par HFS car au cours de ce stimulus on observe ce phénomène de facilitation de la transmission GABAergique (Davies and Collingridge, 1993). Or la LTP induite par HFS n'est pas affectée par l'activation des 5-HT₄R ; c'est donc probablement la seconde hypothèse qui serait plus plausible. Celle-ci repose sur l'action des autorécepteurs GABA_B dont le blocage peut, comme nous l'avons vu, reproduire et donc masquer l'effet de la stimulation des 5-HT₄R. Il existe un modèle de souris KO n'exprimant pas de récepteurs GABA_B prés-synaptiques (Waldmeier et al., 2008). Il serait très intéressant de réaliser des mesures de LTP en présence d'un agoniste des 5-HT₄R sur ces souris pour confirmer cette hypothèse.

Le second argument en faveur de notre hypothèse est la diminution de la PPF que nous avons observée en présence de l'agoniste des 5-HT₄R. La PPF est une forme très fugace de plasticité synaptique qui renseigne sur l'élément pré-synaptique. En effet lors d'une PPF, le niveau de facilitation du second pic par rapport au premier reflète directement le niveau initial de la probabilité de libération de neurotransmetteur : plus celle-ci est élevée et plus la PPF est faible et *vice-versa* (Fioravante and Regehr, 2011). Un second élément entre en jeu dans le phénomène de PPF tel que nous l'avons enregistré : le système GABAergique. En effet, la réponse post-synaptique que nous enregistrons au niveau dendritique est la somme des EPSP et IPSP ; or il a été démontré qu'au cours de la PPF, les IPSP subissent un phénomène de PPI. Cette inhibition à court terme contribue donc à l'augmentation de la réponse post-synaptique enregistrée lors du protocole de PPF et est causée par l'activation des récepteurs GABA_B (Nathan and Lambert, 1991). En prenant ces éléments en considération il semble possible que la diminution de la PPF que nous avons observée en présence de l'agoniste des 5-HT₄R puisse être due au blocage des récepteurs GABA_B et à la disparition de la PPI de la transmission GABAergique. La réalisation de mesures des courants GABAergiques en patch-clamp lors d'un protocole de PPF tel que celui que nous avons utilisé pourrait nous permettre de confirmer ou non cette hypothèse.

Ces éléments forment donc un faisceau d'arguments intrigants, pointant l'implication des autorécepteurs GABA_B dans les effets de l'activation des 5-HT₄R sur la LTP induite par TBS. Cependant, il manque encore un certain nombre de pièces à ce puzzle. L'une de ces pièces manquantes est l'identification de la cible exacte que l'activation des 5-HT₄R va affecter. En effet, cette cible peut être directement le récepteur GABA_B mais peut aussi être un des éléments de la voie de signalisation de ces récepteurs. Ensuite, il reste aussi à identifier la nature de l'effet exercé sur la cible des 5-HT₄R, une phosphorylation par la PKA semblant le mode d'action le plus probable et l'existence d'un tel mécanisme d'action serait facilement confirmé par l'utilisation d'un inhibiteur de la PKA. Enfin, pour exercer leurs effets sur les récepteurs GABA_B ou sur leur voie de signalisation, les 5-HT₄R doivent, soit être présents sur les interneurons GABAergiques, soit agir par le biais de seconds messager rétrogrades. En ce qui concerne cette dernière hypothèse, il semble que le système des endocannabinoïdes soit une piste intéressante. En effet, plusieurs études ont établi un lien entre les 5-HT₄R et les endocannabinoïdes dans les fonctions mnésiques au niveau de l'amygdale (Nasehi et al., 2016) et de l'hippocampe (Nasehi et al., 2016, 2017). En ce qui concerne la première hypothèse, l'existence de 5-HT₄R sur les interneurons GABAergiques de la région CA1 n'a pas été rapportée dans la littérature à ce jour. Au contraire, une étude récente utilisant la technique d'hybridation *in situ* a rapporté une absence de co-localisation entre l'ARNm des 5-HT₄R et l'ARNm de la GAD65 (glutamic acid decarboxylase), l'enzyme de synthèse du GABA dans l'hippocampe (Peñas-Cazorla and Vilaró, 2015). Ces données ne donnent cependant pas une preuve définitive de l'absence de 5-

HT₄R, puisque l'absence d'ARNm à un moment donné ne signifie pas qu'il n'y ait pas de récepteur présent. De plus, cette étude ne montre, certes, pas de co-localisation entre les ARNm des 5-HT₄R et de la GAD65 dans la région CA1, mais elle n'en montre pas non plus dans le gyrus denté. Or l'existence de 5-HT₄R sur des neurones GABAergiques du gyrus denté a déjà été démontrée par des mesures électrophysiologiques (Bijak and Misgeld, 1997).

Cette seconde étude a donc permis de participer à la vue d'ensemble des effets de l'activation des 5-HT₄R dans la région CA1 de l'hippocampe dans des conditions physiologiques. L'activation de ces récepteurs contribuerait à augmenter la transmission de base (bien que la sélectivité de cet effet nécessite de plus amples vérifications avec un autre antagoniste comme évoqué dans la partie résultats) et l'activité des récepteurs NMDA tout en inhibant la LTP induite par TBS par le biais des récepteurs GABA_B. Par la suite nous nous sommes intéressés à ces effets dans des conditions pathologiques.

III. L'activation aiguë des récepteurs 5-HT₄ ne suffit pas à rétablir des paramètres d'activité synaptique normaux chez les souris 5xFAD

Dans une dernière partie de mes travaux de thèse, je me suis intéressé à l'étude de ces processus électrophysiologiques hippocampiques dans le cadre de la pathologie Alzheimer. J'ai alors pu étudier les effets de la modulation des 5-HT₄R sur la plasticité synaptique hippocampique dans un modèle murin d'amyloïdogenèse (souris 5xFAD).

Je me suis dans un premier temps attaché à comparer, en dehors de toute modulation pharmacologique du système sérotoninergique, les propriétés électrophysiologiques de ce modèle de MA, par rapport à la souche sauvage de référence C57/BL6. L'âge des souris a été choisi afin de s'assurer d'une forte amyloïdogenèse (8-10 mois). Dès lors, j'ai pu observer chez des souris 5xFAD âgées de 8-10 mois, une diminution de la transmission de base, une tendance à la diminution (bien que non significative) de la LTP, alors que la LTD était, au contraire, considérablement augmentée, ce qui n'avait à notre connaissance, jamais été exploré. Nous n'avons en revanche pas observé d'altération de la PPF chez les souris 5xFAD.

Lors de l'activation des 5-HT₄R, les mêmes effets ont été, pour la plupart, retrouvés sur la transmission de base, la LTP et la LTD chez ces souris 5xFAD que chez les souris sauvages correspondantes (souris C57/BL6), ou encore que chez la souris NMRI (étude précédente). Ainsi, nous rapportons une augmentation dose-dépendante de la transmission de base, une diminution (non significative) de la LTD et inversement une diminution dose-dépendante de la LTP par le RS67333. En revanche, au niveau de la PPF, alors que la diminution décrite chez les souris NMRI est retrouvée chez les souris C57/BL6, l'activation des 5-HT₄R n'entraîne pas d'effet chez les souris 5xFAD (tableau 10).

	Transmission AMPA	PPF	LTP	LTD
C57 vs 5xFAD	Diminution	Pas de différence	Diminution non significative	Augmentation
C57 + RS67333	Augmentation	Diminution	Diminution dose- dépendante	Augmentation non significative
5xFAD + RS67333	Augmentation	Pas d'effet	Diminution dose- dépendante	Augmentation non significative

Tableau 10: tableau récapitulatif de la caractérisation électrophysiologique de la souris 5xFAD par rapport à sa souche de référence la souris C57 et des effets du RS67333 sur ces deux souches de souris

A ce jour, il existe assez peu d'études chez les souris 5xFAD explorant l'activité synaptique, en conditions basales ou au cours de phénomènes de plasticité. Ces études ayant porté sur des animaux

jeunes (4 à 7 mois (Baranger et al., 2016; Crouzin et al., 2013; Kimura and Ohno, 2009; Lee et al., 2016)) sauf une étude qui a utilisé des souris de 9 mois mais n'a mesuré que la transmission de base (Stancu et al., 2014), nous avons souhaité effectuer des mesures chez des animaux plus âgés (8-10 mois). En effet, la plupart des études s'accordent à dire qu'à 9 mois ces souris présentent d'importants déficits de mémoires alors qu'avant cet âge, la présence de déficits diffère suivant les études et les types de tests utilisés pour explorer les performances mnésiques. Cet âge nous a donc paru idéal pour effectuer des mesures en conditions de déficit.

Nos résultats sont dans l'ensemble en accord avec les données existantes chez des animaux plus jeunes. En effet, nous avons observé une diminution de la transmission de base, une diminution de la LTP et une PPF préservée chez les souris 5xFAD. De plus, nous avons effectué des mesures de LTD ce qui n'avait pas encore été rapporté dans la littérature.

Il nous a paru important de réaliser ces mesures car la LTD, qui était à l'origine l'objet d'une attention très modeste en comparaison de la LTP, est aujourd'hui considérée comme l'un des supports cellulaires de la mémoire à l'instar de la LTP (Pinar et al., 2017). En effet, la survenue d'une LTD a pu être observée *in vivo* lors de la réalisation de tâches comportementales impliquant la mémoire hippocampo-dépendante (Goh and Manahan-Vaughan, 2013; Manahan-Vaughan and Braunewell, 1999). De même, il a été observé que certaines formes d'apprentissage spatial facilitent l'induction de la LTD (Hagena and Manahan-Vaughan, 2011; Kemp and Manahan-Vaughan, 2004, 2008; Manahan-Vaughan and Braunewell, 1999). Nos expérimentations sur la LTD ont montré une augmentation considérable de ce type de plasticité chez la souris 5xFAD de 8-10 mois. L'augmentation de la LTD a pu être décrite dans de nombreuses conditions parmi lesquelles on peut citer le stress (Kim et al., 1996; Yang et al., 2005) ou le vieillissement (Foster, 1999; Foster and Kumar, 2007; Norris et al., 1998). De façon intéressante, il a été démontré que le stress peut augmenter la LTD en réduisant la recapture du glutamate et que cette LTD est principalement induite par l'activation de récepteurs NMDA extra-synaptiques (Yang et al., 2005). Or, dans la MA il a été décrit que le peptide A β peut bloquer la recapture du glutamate (Talantova et al., 2013), provoquant l'activation des récepteurs extra-synaptiques (Domingues et al., 2007; Rammes et al., 2011). Une telle modification des fonctions glutamatergiques a été associée à une perturbation de la LTP (Kervern et al., 2012) et pourrait bien expliquer cette augmentation de la LTD. De plus, il a été rapporté une perte de la CAMKII phosphorylée au niveau dendritique dans le cerveau de patients atteints de la MA et cette observation a pu être répliquée chez le rongeur après injection de peptide A β (Reese et al., 2011). Cette protéine est activée lors d'importantes montées de calcium intracellulaire et entraîne une LTP mais si son activation est diminuée ce sont les effets de la calcineurine qui domineront et il se produira une LTD. La souris 5xFAD produisant beaucoup de

peptide A β , une telle situation semble probable et pourrait aussi contribuer à expliquer une augmentation de la LTD.

Une fois la transmission de base et les différentes formes de plasticité synaptique mesurées dans les conditions normales chez ces souris transgéniques et leurs contrôles (souris C57) nous avons procédé à leur mesure en présence d'un agoniste des 5-HT₄R. En effet, il existe une quantité considérable d'études rapportant un effet bénéfique de la stimulation des 5-HT₄R sur la mémoire, à la fois dans des conditions normales et en conditions d'amnésie induite. Compte tenu des liens entre plasticité synaptique hippocampique et performances de mémoire il nous semblait raisonnable que l'activation des 5-HT₄R exerce un rôle régulateur sur l'activité synaptique hippocampique, or cela n'a pourtant jamais été testé.

De façon générale, les effets sur l'activité synaptique dans la région CA1 de l'activation des 5-HT₄R correspondent à ceux observés chez les souris NMRI, à savoir une diminution de la LTP induite par TBS, une augmentation de la transmission de base et de la LTD (non significative) et pour les souris C57 une diminution de la PPF. La seule différence concerne la PPF qui n'est pas diminuée chez les souris 5xFAD suite à l'action de l'agoniste des 5-HT₄R. Cette différence peut s'expliquer par la propriété déjà évoquée qu'a le peptide A β de bloquer la recapture du glutamate. Ce phénomène permet probablement de maintenir le niveau de glutamate synaptique à un niveau important durant le très court laps de temps entre les deux stimulations de la PPF de telle sorte que ce glutamate résiduel compense la baisse de libération au niveau pré-synaptique qui, chez les souris C57, entraîne la diminution de la PPF.

La diminution de la LTP que nous avons observée suite à l'activation des 5-HT₄R cadre mal avec les effets pro-mnésiants résultants normalement de la stimulation de ces derniers. Au vu de la littérature il semble important de considérer un facteur temporel à deux niveaux distincts. En premier lieu, la plupart des études démontrant un effet anti-amnésiant de la stimulation des 5-HT₄R ont été réalisées sur des modèles d'amnésie induite de façon aiguë (Galeotti et al., 1998; Lo et al., 2014; Marchetti-Gauthier et al., 1997; Matsumoto et al., 2001) et l'agoniste 5-HT₄R utilisé a, lui aussi, été administré de façon aiguë. En revanche, il semble logique de penser que dans des conditions durables d'amnésie, ayant évolué avec le développement de l'animal et de la pathologie dont il est le modèle, une administration aiguë ne soit pas suffisante pour produire des effets significatifs. De fait, dans une étude récente menée sur les souris 5xFAD il a été démontré qu'un traitement chronique par un agoniste des 5-HT₄R durant 2 mois n'a pas été suffisant pour rétablir des performances normales dans un test mettant en jeu la mémoire hippocampo-dépendante (Baranger et al., 2017). Au contraire, les auteurs de cette étude rapportent une récupération des performances mnésiques suite à un traitement de 4 mois avec la même molécule à la même dose, démontrant la nécessité d'un traitement prolongé

pour obtenir des effets amnésiants dans ce modèle de la MA. De plus, ils rapportent des effets de l'activation chronique des 5-HT₄R sur l'accumulation de peptide A β (diminution de plaques amyloïdes) et sur la neuro-inflammation (diminution de l'astroglie et de la microglie). Or ces éléments de la physiopathologie de la MA sont connus pour perturber la LTP (Griffin et al., 2006; Li et al., 2011a) et il paraît raisonnable de penser qu'une administration aiguë de quelque produit que ce soit ne peut pas provoquer de changements notables sur ces éléments, encore moins en quelques dizaines de minutes. Si l'on transpose ces observations à la mesure de l'activité synaptique, il semble raisonnable de penser que pour avoir une chance d'obtenir une augmentation de la LTP vers un niveau normal, il faudrait procéder à un traitement chronique.

En second lieu, il peut être intéressant de se pencher sur le moment auquel un agoniste des 5-HT₄R doit faire effet par rapport au moment où un animal va entreprendre la réalisation d'une tâche d'apprentissage avant de tenter de transposer ces observations dans le contexte des mesures d'électrophysiologie *ex vivo*. En effet, ce calendrier semble jouer un rôle important dans les effets comportementaux exercés par la stimulation des 5-HT₄R : si l'activation de ces récepteurs précède l'apprentissage on observe en général un effet pro-mnésiant et/ou anti-amnésiant (Lamirault and Simon, 2001; Lelong et al., 2001; Letty et al., 1997; Levallet et al., 2009; Marchetti et al., 2000). Au contraire, si cette activation suit l'apprentissage, on observe des effets amnésiants (Meneses and Hong, 1997; Nasehi et al., 2015). Une étude antérieure, provenant de notre laboratoire, apporte un élément d'explication quand à ces observations (Hotte et al., 2012): dans cette étude il a été démontré qu'une augmentation de la concentration d'AMPC dans les zones impliquées dans la mémoire de reconnaissance avant l'apprentissage, suivie d'une diminution dans ces mêmes zones est associée à de bonnes performances dans le test de reconnaissance d'objet. De plus, ces variations de concentration de l'AMPC sont observées seulement chez les rats traités (l'un groupe des groupes ayant notamment reçu un agoniste des 5-HT₄R) et seuls ceux-ci explorent significativement plus l'objet nouveau que l'objet familier, révélant qu'ils se souviennent de ce dernier. Ainsi, en extrapolant un peu sur la base de ces observations, on peut imaginer qu'il ne faudrait activer les 5-HT₄R que brièvement avant le protocole d'induction de la LTP (qui correspondrait à la phase d'apprentissage) pour augmenter la concentration d'AMPC à ce moment et surtout pas après pour permettre une diminution de la concentration d'AMPC au niveau nécessaire. Cette hypothèse pourrait expliquer notre observation d'une diminution de la LTP puisque dans notre protocole l'agoniste des 5-HT₄R est présent tout le long de l'enregistrement et pourrait donc interférer avec l'évolution normale des taux d'AMPC.

Néanmoins il est intéressant de noter que nous avons obtenu un résultat encourageant quant aux effets bénéfiques de la stimulation des 5-HT₄R. En effet, nous avons démontré que même dans

ces conditions d'administration aiguë, l'activation des 5-HT₄R augmente de façon dose-dépendante la transmission synaptique de base chez les souris 5xFAD et la rétablit à un niveau similaire à celui observé chez les souris C57. Ce résultat est encourageant car la perturbation des propriétés de transmission de l'information entre neurones doit forcément impacter de façon négative l'acquisition et l'analyse des informations parvenant à l'hippocampe. Ainsi, rétablir une transmission de base normale semble nécessaire à un fonctionnement hippocampique optimal et contribuerait à l'amélioration des performances dans des tâches cognitives.

En résumé, cette seconde étude, réalisée dans un modèle de la MA, n'a pas démontré les effets bénéfiques escomptés par l'activation des 5-HT₄R sur la plasticité synaptique. Nos résultats, associés à la littérature existante, suggèrent la nécessité d'un traitement chronique pour espérer obtenir des effets en ce sens. Cette observation est par ailleurs cohérente avec l'idée d'un traitement de la MA chez l'homme où il apparaît peu probable qu'une thérapie puisse avoir une efficacité autrement que sur la durée.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Conclusion et perspectives

Les récepteurs 5-HT₄ représentent une cible thérapeutique d'intérêt dans le traitement des troubles mnésiques et tout particulièrement dans le traitement de la maladie d'Alzheimer. La stimulation de ces récepteurs entraîne un effet pro-mnésiant et anti-amnésiant maintes fois démontré dans des études comportementales précliniques. Par ailleurs, la stimulation des récepteurs 5-HT₄ a un effet direct sur la physiopathologie de la maladie d'Alzheimer puisqu'elle favorise la production du sAPP α (neuro-protecteur) au détriment du peptide amyloïde β (neurotoxique à haute concentration). Il reste cependant de nombreuses questions sans réponses au sujet des effets de la modulation de ces récepteurs, notamment au niveau de la plasticité synaptique, une propriété des synapses considérée comme un substrat biologique majeur de la mémoire. Par ailleurs, la maladie d'Alzheimer étant multifactorielle, la notion qu'une thérapie doit cibler différents facteurs de cette pathologie pour être efficace fait aujourd'hui consensus au sein de la communauté scientifique mais les travaux menés dans ce sens sont peu nombreux.

Dans ce travail de thèse, nous avons fait la démonstration pour la première fois de l'intérêt de l'association d'un agoniste des 5-HT₄R et d'un inhibiteur de l'acétylcholinestérase dans la réalisation de tâches mettant en jeu la mémoire de travail spatiale et la mémoire de référence en conditions de déficit induit pharmacologiquement. Ces résultats renforcent le statut des récepteurs 5-HT₄ en tant que cible thérapeutique d'intérêt majeur dans le traitement de la maladie d'Alzheimer.

De plus, nous avons démontré pour la première fois dans la région CA1 de l'hippocampe que l'activation des récepteurs 5-HT₄ augmente l'excitabilité des neurones glutamatergiques pyramidaux en conditions de base. En condition de plasticité, l'activation des récepteurs 5-HT₄ diminue l'amplitude de la LTP induite par un protocole de stimulation en θ -bursts *ex vivo*. De plus, nos travaux indiquent que cette inhibition de la LTP (que nous avons retrouvée dans trois souches de souris différentes) passe par une levée de l'inhibition de la transmission GABAergique propre à ce paradigme de LTP en θ -bursts. Il semble donc que les récepteurs 5-HT₄ de la région CA1 de l'hippocampe exercent à la fois un rôle sur la transmission excitatrice, notamment par l'augmentation de l'excitabilité des neurones pyramidaux glutamatergiques, et un rôle sur la transmission inhibitrice en jouant de manière activité-dépendante sur les processus de désinhibition GABAergique. Ainsi, les récepteurs 5-HT₄ participent à une régulation fine de l'ensemble des acteurs du réseau hippocampique au cours de schémas d'activation neuronaux (rythme θ) tels qu'on peut en observer *in vivo* lors de tâches d'apprentissage et de mémoire.

Enfin, nous avons fait la démonstration que la stimulation des récepteurs 5-HT₄ dans des conditions pathologiques (modèle murin de la maladie d'Alzheimer) exerce des effets sur la LTP induite par thêta-bursts similaires à ceux observés chez l'animal dans des conditions physiologiques. Des travaux en comportement menés sur ce même modèle murin de la maladie d'Alzheimer démontrent la nécessité d'un traitement chronique pour obtenir des effets anti-amnésiants. Ils soulèvent donc la question de la pertinence d'une activation aiguë des récepteurs 5-HT₄ dans une telle pathologie. Par ailleurs, nous avons aussi observé dans ce modèle de souris transgénique, que la LTD est fortement augmentée par rapport aux souris de type sauvage, ce qui n'avait jamais été rapporté jusqu'alors. Ce dernier résultat renforce la notion d'une dérégulation de la plasticité synaptique au cours de pathologies amyloïdes comme la maladie d'Alzheimer.

Nos travaux contribuent donc à apporter des éléments de réponse quant aux effets de la stimulation des récepteurs 5-HT₄ sur la plasticité synaptique dans la région CA1 de l'hippocampe, dans des conditions physiologiques et pathologiques.

Afin de renforcer la 'validité de prédiction' du modèle *ex vivo* de tranche d'hippocampe, il nous semblerait intéressant de réaliser ces mesures suite à un traitement réalisé *in vivo* d'un agoniste des récepteurs 5-HT₄. Ce paradigme d'expérimentation permettrait de se rapprocher des conditions expérimentales utilisées dans les études comportementales. Par ailleurs, dans un contexte pathologique comme celui de la maladie d'Alzheimer où une intervention sur la durée semble nécessaire pour exercer des effets anti-amnésiants, un traitement chronique permettrait de mieux rendre compte des mécanismes potentiellement compensatoires mis en jeu.

D'un point de vue mécanistique, l'action directe ou indirecte (par un autre système de neurotransmission) de la stimulation des récepteurs 5-HT₄ sur la neurotransmission GABAergique reste à étudier. En premier lieu, des mesures de patch-clamp sur les interneurons pourrait permettre de confirmer ou d'infirmer rapidement la présence de récepteurs 5-HT₄ et donc de déterminer si les effets que nous avons observés sont direct ou indirects. Par ailleurs, l'utilisation de modèles animaux KO n'exprimant pas les récepteurs GABA_B pourrait permettre de vérifier la nécessité de la présence de ces récepteurs dans l'expression des effets de la stimulation des récepteurs 5-HT₄. Enfin, le modèle électrophysiologique *ex vivo* développé au sein de l'unité au cours de ma thèse devrait être également un outil pertinent pour la mesure des effets d'une stimulation conjointe des transmissions sérotoninergique (*via* agoniste des 5-HT₄R) et cholinergique (*via* un IACHÉ) sur la plasticité synaptique.

REFERENCES

Références bibliographiques

- Aarse, J., Herlitze, S., and Manahan-Vaughan, D. (2016). The requirement of BDNF for hippocampal synaptic plasticity is experience-dependent. *Hippocampus* 26, 739–751.
- Abbott, L.F., and Regehr, W.G. (2004). Synaptic computation. *Nature* 431, 796–803.
- Abraham, W.C., and Bear, M.F. (1996). Metaplasticity: the plasticity of synaptic plasticity. *Trends in Neurosciences* 19, 126–130.
- Abraham, A.D., Neve, K.A., and Lattal, M.K. (2014). Dopamine and extinction: A convergence of theory with fear and reward circuitry. *Neurobiology of Learning and Memory* 0, 65–67.
- Abraham, W.C., Mason, S.E., Demmer, J., Williams, J.M., Richardson, C.L., Tate, W.P., Lawlor, P.A., and Dragunow, M. (1993). Correlations between immediate early gene induction and the persistence of long-term potentiation. *Neuroscience* 56, 717–727.
- Abraham, W.C., Logan, B., Greenwood, J.M., and Dragunow, M. (2002). Induction and Experience-Dependent Consolidation of Stable Long-Term Potentiation Lasting Months in the Hippocampus. *The Journal of Neuroscience* 22, 9626–9634.
- Ade, K.K., and Lovinger, D.M. (2007). Anandamide Regulates Postnatal Development of Long-Term Synaptic Plasticity in the Rat Dorsolateral Striatum. *J. Neurosci.* 27, 2403–2409.
- Allain, P., Etcharry-Bouyx, F., and verny, C. (2013). Executive functions in clinical and preclinical Alzheimer’s disease. *Revue Neurologique* 169, 695–708.
- Altieri, S.C., Garcia-Garcia, A.L., Leonardo, E.D., and Andrews, A.M. (2013). Rethinking 5-HT1A Receptors: Emerging Modes of Inhibitory Feedback of Relevance to Emotion-Related Behavior. *ACS Chemical Neuroscience* 4, 72–83.
- Alzheimer, A., Stelzmann, R., Schnitzlein, H., and Murtagh, F. (1995). An English translation of Alzheimer’s 1907 paper, “Über eine eigenartige Erkrankung der Hirnrinde”. *Clinical Anatomy* 8, 429–431.
- Alzheimer’s Association (2016). 2016 Alzheimer’s disease facts and figures. *Alzheimer’s & Dementia* 12, 459–509.
- Ambrée, O., Richter, H., Sachser, N., Lewejohann, L., Dere, E., de Souza Silva, M.A., Herring, A., Keyvani, K., Paulus, W., and Schäbitz, W.-R. (2009). Levodopa ameliorates learning and memory deficits in a murine model of Alzheimer’s disease. *Neurobiol. Aging* 30, 1192–1204.
- Amigó, J., Díaz, A., Pilar-Cuéllar, F., Vidal, R., Martín, A., Compan, V., Pazos, A., and Castro, E. (2016). The absence of 5-HT4 receptors modulates depression- and anxiety-like responses and influences the response of fluoxetine in olfactory bulbectomised mice: Adaptive changes in hippocampal neuroplasticity markers and 5-HT1A autoreceptor. *Neuropharmacology* 111, 47–58.
- Amin, H., and Malik, A.S. (2013). Human memory retention and recall processes : a review of EEG and fMRI studies. *Neurosciences* 18, 330–344.
- Anderson, W.W., and Collingridge, G.L. (2001). The LTP Program: a data acquisition program for on-line analysis of long-term potentiation and other synaptic events. *Journal of Neuroscience Methods* 108, 71–83.
- Anisman, H. (1975a). Effects of scopolamine and d-amphetamine on one-way, shuttle and inhibitory avoidance: A diallel analysis in mice. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 3, 1037–1042.
- Anisman, H. (1975b). Dissociation of disinhibitory effects of scopolamine: Strain and task factors. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 3, 613–618.

- Ansanay, H., Sebben, M., Bockaert, J., and Dumuis, A. (1992). Characterization of homologous 5-Hydroxytryptamine 4 receptor desensitization in Colliculi neurons. *Molecular Pharmacology* *42*, 808–816.
- Anstey, K.J., Cherbuin, N., Budge, M., and Young, J. (2011). Body mass index in midlife and late-life as a risk factor for dementia: a meta-analysis of prospective studies. *Obesity Reviews* *12*, e426–e437.
- Arendt, T., Stieler, J.T., and Holzer, M. (2016). Tau and tauopathies. *Brain Res. Bull.* *126*, 238–292.
- Arrêté du 29 Mai (2018). Arrêté du 29 mai 2018 portant radiation de spécialités pharmaceutiques de la liste mentionnée au premier alinéa de l'article L. 162-17 du code de la sécurité sociale.
- Arriza, J.L., Simerly, R.B., Swanson, L.W., and Evans, R.M. (1988). The neuronal mineralocorticoid receptor as a mediator of glucocorticoid response. *Neuron* *1*, 887–900.
- Artola, A. (2013). Diabetes mellitus- and ageing-induced changes in the capacity for long-term depression and long-term potentiation inductions: Toward a unified mechanism. *European Journal of Pharmacology* *719*, 161–169.
- Atkinson, R.C., and Shiffrin, R.M. (1968). Human memory: A proposed system and its control processes¹. In *Psychology of Learning and Motivation*, (Elsevier), pp. 89–195.
- Atri, A., Frölich, L., Ballard, C., Tariot, P.N., Molinuevo, J.L., Boneva, N., Windfeld, K., Raket, L.L., and Cummings, J.L. (2018). Effect of Idalopirdine as Adjunct to Cholinesterase Inhibitors on Change in Cognition in Patients With Alzheimer Disease: Three Randomized Clinical Trials. *JAMA* *319*, 130–142.
- Auld, D.S., Kornecook, T.J., Bastianetto, S., and Quirion, R. (2002). Alzheimer's disease and the basal forebrain cholinergic system: relations to β -amyloid peptides, cognition, and treatment strategies. *Progress in Neurobiology* *68*, 209–245.
- Avet, S. (2008). La prise en soins d'un patient atteint de la maladie d'Alzheimer, au travers de situations spécifiques. *NPG Neurologie - Psychiatrie - Gériatrie* *8*, 17–26.
- Bach, T., Syversveen, T., Kvingedal, A.M., Krobert, K.A., Brattelid, T., Kaumann, A.J., and Levy, F.O. (2001). 5HT₄(a) and 5-HT₄(b) receptors have nearly identical pharmacology and are both expressed in human atrium and ventricle. *Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol.* *363*, 146–160.
- Baddeley, A. (2000). The episodic buffer: a new component of working memory? *Trends in Cognitive Sciences* *4*, 417–423.
- Baddeley, A., and Hitch, G. (1974). Working memory. *Psychology of Learning and Motivation* *47–89*.
- Bai, M., Zhu, X.-Z., Zhang, Y., Zhang, S., Zhang, L., Xue, L., Zhong, M., and Zhang, X. (2014). Anhedonia was associated with the dysregulation of hippocampal HTR4 and microRNA Let-7a in rats. *Physiology & Behavior* *129*, 135–141.
- Banke, T.G., Bowie, D., Lee, H.-K., Haganir, R.L., Schousboe, A., and Traynelis, S.F. (2000). Control of GluR1 AMPA Receptor Function by cAMP-Dependent Protein Kinase. *J. Neurosci.* *20*, 89–102.
- Baranger, K., Marchalant, Y., Bonnet, A.E., Crouzin, N., Carrete, A., Paumier, J.-M., Py, N.A., Bernard, A., Bauer, C., Charrat, E., et al. (2016). MT5-MMP is a new pro-amyloidogenic proteinase that promotes amyloid pathology and cognitive decline in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *Cellular and Molecular Life Sciences* *73*, 217–236.
- Baranger, K., Giannoni, P., Girard, S.D., Girot, S., Gaven, F., Stephan, D., Migliorati, M., Khrestchatisky, M., Bockaert, J., Marchetti-Gauthier, E., et al. (2017). Chronic treatments with a 5-

- HT 4 receptor agonist decrease amyloid pathology in the entorhinal cortex and learning and memory deficits in the 5xFAD mouse model of Alzheimer's disease. *Neuropharmacology* 126, 128–141.
- Barnes, N.M., and Sharp, T. (1999). A review of central 5-HT receptors and their function. *Neuropharmacology* 38, 1083–1152.
- Barnes, N.M., Hales, T.G., Lummis, S.C.R., and Peters, J.A. (2009). The 5-HT₃ receptor – the relationship between structure and function. *Neuropharmacology* 56, 273–284.
- Barthet, G., Gaven, F., Framery, B., Shinjo, K., Nakamura, T., Claeysen, S., Bockaert, J., and Dumuis, A. (2005). Uncoupling and Endocytosis of 5-Hydroxytryptamine 4 Receptors :distinct molecular event with different GRK2 requirements. *Journal of Biological Chemistry* 280, 27924–27934.
- Barthet, G., Framery, B., Gaven, F., Pellissier, L., Reiter, E., Claeysen, S., Bockaert, J., and Dumuis, A. (2007). 5-Hydroxytryptamine₄ Receptor Activation of the Extracellular Signal-regulated Kinase Pathway Depends on Src Activation but Not on G Protein or β -Arrestin Signaling. *Molecular Biology of the Cell* 18, 13.
- Barthet, G., Carrat, G., Cassier, E., Barker, B., Gaven, F., Pillot, M., Framery, B., Pellissier, L.P., Augier, J., Kang, D.S., et al. (2009). β -arrestin1 phosphorylation by GRK5 regulates G protein-independent 5-HT₄ receptor signalling. *The EMBO Journal* 28, 2706–2718.
- Bartus, R.T. (2000). On Neurodegenerative Diseases, Models, and Treatment Strategies: Lessons Learned and Lessons Forgotten a Generation Following the Cholinergic Hypothesis. *Experimental Neurology* 163, 495–529.
- Bartus, R., Dean, R., Beer, B., and Lippa, A. (1982). The cholinergic hypothesis of geriatric memory dysfunction. *Science* 217, 408–414.
- Bashir, Z.I., and Collingridge, G.L. (1994). An investigation of depotentiation of long-term potentiation in the CA1 region of the hippocampus. *Exp Brain Res* 99, 437–443.
- Battaglia, F., Wang, H.-Y., Ghilardi, M.F., Gashi, E., Quartarone, A., Friedman, E., and Nixon, R.A. (2007). Cortical Plasticity in Alzheimer's Disease in Humans and Rodents. *Biological Psychiatry* 62, 1405–1412.
- Beck, H., Goussakov, I.V., Lie, A., Helmstaedter, C., and Elger, C.E. (2000). Synaptic Plasticity in the Human Dentate Gyrus. *J. Neurosci.* 20, 7080–7086.
- Bekris, L.M., Yu, C.-E., Bird, T.D., and Tsuang, D.W. (2010). Genetics of Alzheimer Disease. *J Geriatr Psychiatry Neurol* 23, 213–227.
- Belleville, S., Fouquet, C., Duchesne, S., Collins, D.L., Hudon, C., and the CIMA-Q group: Consortium for the Early Identification of Alzheimer's disease-Quebec (2014). Detecting Early Preclinical Alzheimer's Disease via Cognition, Neuropsychiatry, and Neuroimaging: Qualitative Review and Recommendations for Testing. *Journal of Alzheimer's Disease* 42, S375–S382.
- Bender, E., Pindon, A., Oers, I.V., Zhang, Y.-B., Gommeren, W., Verhasselt, P., Jurzak, M., Leysen, J., and Luyten, W. (2000). Structure of the Human Serotonin 5-HT₄ Receptor Gene and Cloning of a Novel 5-HT₄ Splice Variant. *Journal of Neurochemistry* 74, 478–489.
- Bertrand, P.P. (2006). Real-time measurement of serotonin release and motility in guinea pig ileum. *The Journal of Physiology* 577, 689–704.
- Bi, H., and Sze, C.-I. (2002). N-methyl-d-aspartate receptor subunit NR2A and NR2B messenger RNA levels are altered in the hippocampus and entorhinal cortex in Alzheimer's disease. *Journal of the Neurological Sciences* 200, 11–18.
- Bickmeyer, U., Heine, M., Manzke, T., and Richter, D.W. (2002). Differential modulation of I_h by 5-HT receptors in mouse CA1 hippocampal neurons. *European Journal of Neuroscience* 16, 209–218.

- Bienenstock, L., Cooper, N., and Munro, W. (1982). Theory for the development of neuron selectivity: orientation specificity and binocular interaction in visual cortex. *The Journal of Neuroscience* 2, 32–48.
- Bierer, L.M., Haroutunian, V., Gabriel, S., Knott, P.J., Carlin, L.S., Purohit, D.P., Perl, D.P., Schmeidler, J., Kanof, P., and Davis, K.L. (1995). Neurochemical correlates of dementia severity in Alzheimer's disease: relative importance of the cholinergic deficits. *J. Neurochem.* 64, 749–760.
- Biessels, G.J., Kappelle, A.C., Bravenboer, B., Erkelens, D.W., and Gispen, W.H. (1994). Cerebral function in diabetes mellitus. *Diabetologia* 37, 643–650.
- Bijak, M., and Misgeld, U. (1997). Effects of serotonin through serotonin1A and serotonin4 receptors on inhibition in the guinea-pig dentate gyrus in vitro. *Neuroscience* 78, 1017–1026.
- Billard, J. (2010). Long-Term Depression in the Hippocampal CA1 Area of Aged Rats, Revisited: Contribution of Temporal Constraints Related to Slice Preparation. *PLoS One* 5.
- Billard, J.-M., and Rouaud, E. (2007). Deficit of NMDA receptor activation in CA1 hippocampal area of aged rats is rescued by d-cycloserine. *European Journal of Neuroscience* 25, 2260–2268.
- Billio, A., Morello, E., and Clarke, M. (2010). Serotonin receptor antagonists for highly emetogenic chemotherapy in adults. *The Cochrane Collaboration*.
- Billioti de Gage, S., Moride, Y., Ducruet, T., Kurth, T., Verdoux, H., Tournier, M., Pariente, A., and Bégaud, B. (2014). Benzodiazepine use and risk of Alzheimer's disease: case-control study. *BMJ* 349.
- Blatow, M., Caputi, A., Burnashev, N., Monyer, H., and Rozov, A. (2003). Ca²⁺ Buffer Saturation Underlies Paired Pulse Facilitation in Calbindin-D28k-Containing Terminals. *Neuron* 38, 79–88.
- Bliss, T.V.P., and Collingridge, G.L. (1993). A synaptic model of memory: LTP in the hippocampus. *Nature*.
- Bliss, T.V.P., and Lømo, T. (1973). Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *J Physiol* 232, 331–356.
- Blondel, O., Vandecasteele, G., Gastineau, M., Leclerc, S., Dahmoune, Y., Langlois, M., and Fischmeister, R. (1997). Molecular and functional characterization of a 5-HT₄ receptor cloned from human atrium. *FEBS Letters* 412, 465–474.
- Bockaert, J., and Dumuis, A. (1997). 5-HT₄ Receptor in the Brain and Periphery. (TX USA), p.
- Bockaert, J., Dumuis, A., Bouhelal, R., Sebben, M., and cory, R.N. (1987). Piperazine derivatives including the putative anxiolytic drugs, buspirone and ipsapirone, are agonists at 5-HT_{1A} receptors negatively coupled with adenylate cyclase in hippocampal neurons. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology* 335, 588–592.
- Bockaert, J., Claeysen, S., Compan, V., and Dumuis, A. (2004). 5-HT₄ receptors. *Current Drug Targets-CNS & Neurological Disorders* 3, 39–51.
- Bonhaus, D.W., Lounsbury, D.N., Jakeman, L.B., To, Z., DeSouza, A., Eglen, R.M., and Wong, E.H.F. (1993). [3H]BIMU-1, a 5-Hydroxytryptamine₃ Receptor Ligand in NG-108 Cells, Selectively Labels Sigma-2 Binding Sites in Guinea Pig Hippocampus. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 267, 961–970.
- Bonhaus, D.W., Bach, C., DeSouza, A., Salazar, F.H.R., Matsuoka, B.D., Zuppan, P., Chan, H.W., and Eglen, R.M. (1995). The pharmacology and distribution of human 5-hydroxytryptamine_{2B} (5-HT_{2b}) receptor gene products: comparison with 5-HT_{2a} and 5-HT_{2c} receptors. *British Journal of Pharmacology* 115, 622–628.
- Bores, G.M., Huger, F.P., Petko, W., Mutlib, A.E., Camacho, F., Rush, D.K., Selk, D.E., Wolf, V., Kosley, R.W., Davis, L., et al. (1996). Pharmacological evaluation of novel Alzheimer's disease

- therapeutics: acetylcholinesterase inhibitors related to galanthamine. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* *277*, 728–738.
- Braak, H., and Braak, E. (1991). Neuropathological staging of Alzheimer-related changes. *Acta Neuropathologica* *82*, 239–259.
- Braak, H., Alafuzoff, I., Arzberger, T., Kretschmar, H., and Del Tredici, K. (2006). Staging of Alzheimer disease-associated neurofibrillary pathology using paraffin sections and immunocytochemistry. *Acta Neuropathologica* *112*, 389–404.
- Brattelid, T., Kvingedal, A.M., Krobert, K.A., Andressen, K.W., Bach, T., Hystad, M.E., Kaumann, A.J., and Levy, F.O. (2004). Cloning, pharmacological characterisation and tissue distribution of a novel 5-HT₄ receptor splice variant, 5-HT₄(i). *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology* *369*, 616–628.
- Braunewell, K.-H., and Manahan-Vaughan, D. (2001). Long-Term Depression: A Cellular Basis for Learning? *Reviews in the Neurosciences* *12*.
- Bredt, D.S., and Nicoll, R.A. (2003). AMPA Receptor Trafficking at Excitatory Synapses. *Neuron* *40*, 361–379.
- Breining, A., Bonnet-Zamponi, D., Zerah, L., Micheneau, C., Riolacci-Dhoyen, N., Chan-Chee, C., Deligne, J., Harlin, J.-M., Boddaert, J., Verny, M., et al. (2016). Exposure to psychotropics in the French older population living with dementia: a nationwide population-based study. *International Journal of Geriatric Psychiatry* *32*, 750–760.
- Briejer, M.R., Bosmans, J.-P., Van Daele, P., Jurzak, M., Heylen, L., Leysen, J.E., Prins, N.H., and Schuurkes, J.A. (2001). The in vitro pharmacological profile of prucalopride, a novel enterokinetic compound. *European Journal of Pharmacology* *423*, 71–83.
- Bright, J., Hussain, S., Dang, V., Wright, S., Cooper, B., Byun, T., Ramos, C., Singh, A., Parry, G., Stagliano, N., et al. (2015). Human secreted tau increases amyloid-beta production. *Neurobiol. Aging* *36*, 693–709.
- Brioni, J.D., Decker, M.W., Gamboa, L.P., Izquierdo, I., and McGaugh, J.L. (1990). Muscimol injections in the medial septum impair spatial learning. *Brain Research* *522*, 227–234.
- Broussard, J.I., Yang, K., Levine, A.T., Tsetsenis, T., Jenson, D., Cao, F., Garcia, I., Arenkiel, B.R., Zhou, F.-M., Biasi, M.D., et al. (2016). Dopamine Regulates Aversive Contextual Learning and Associated In Vivo Synaptic Plasticity in the Hippocampus. *Cell Rep* *14*, 1930–1939.
- Buchheit, K.-H., Gamse, R., Giger, R., Hoyer, D., Klein, F., Kloppner, E., Pfannkuche, H.-J., and Mattes, H. (1995). The Serotonin 5-HT₄ Receptor. 2. Structure-Activity Studies of the Indole Carbazimidamide Class of Agonists. *Journal of Medicinal Chemistry* *38*, 2331–2338.
- Buhot, M.-C. (1997). Serotonin receptors in cognitive behaviors. *Current Opinion in Neurobiology* *7*, 243–254.
- Burgard, E.C., and Sarvey, J.M. (1990). Muscarinic receptor activation facilitates the induction of long-term potentiation (LTP) in the rat dentate gyrus. *Neuroscience Letters* *116*, 34–39.
- Buskila, Y., Crowe, S.E., and Ellis-Davies, G.C.R. (2013). Synaptic deficits in layer 5 neurons precede overt structural decay in 5xFAD mice. *Neuroscience* *254*, 152–159.
- Butler, D., Bendiske, J., Michaelis, M.L., Karanian, D.A., and Bahr, B.A. (2007). Microtubule-stabilizing agent prevents protein accumulation-induced loss of synaptic markers. *Eur. J. Pharmacol.* *562*, 20–27.
- Cacabelos, R., Takeda, M., and Winblad, B. (1999). The glutamatergic system and neurodegeneration in dementia: preventive strategies in Alzheimer's disease. *International Journal of Geriatric Psychiatry* *3*–47.

- Cachard-Chastel, M., Devers, S., Sicsic, S., Langlois, M., Lezoualc'h, F., Gardier, A.M., and Belzung, C. (2008). Prucalopride and donepezil act synergistically to reverse scopolamine-induced memory deficit in C57Bl/6j mice. *Behavioural Brain Research* 187, 455–461.
- Cahill, L., and Alkire, M.T. (2003). Epinephrine enhancement of human memory consolidation: Interaction with arousal at encoding. *Neurobiology of Learning and Memory* 79, 194–198.
- Cahill, L., Prins, B., Weber, M., and McGaugh, J.L. (1994). β -adrenergic activation and memory for emotional events. *Nature* 371, 702–704.
- Cai, X., Flores-Hernandez, J., Feng, J., and Yan, Z. (2002). Activity-dependent bidirectional regulation of GABA A receptor channels by the 5-HT₄ receptor-mediated signalling in rat prefrontal cortical pyramidal neurons. *The Journal of Physiology* 540, 743–759.
- Carroll, R.C., Beattie, E.C., von Zastrow, M., and Malenka, R.C. (2001). Role of ampa receptor endocytosis in synaptic plasticity. *Nature Reviews Neuroscience* 2, 315–324.
- Castellani, R.J., Rolston, R.K., and Smith, M.A. (2010). Alzheimer Disease. *Disease-a-Month* 56, 484–546.
- Castello, J., LeFrancois, B., Flajolet, M., Greengard, P., Friedman, E., and Rebolz, H. (2018). CK2 regulates 5-HT₄ receptor signaling and modulates depressive-like behavior. *Molecular Psychiatry* 23, 872–882.
- Cavaccini, A., Gritti, M., Giorgi, A., Locarno, A., Heck, N., Migliarini, S., Bertero, A., Mereu, M., Margiani, G., Trusel, M., et al. (2018). Serotonergic Signaling Controls Input-Specific Synaptic Plasticity at Striatal Circuits. *Neuron* 98, 801-816.e7.
- Cavalli, A., Bolognesi, M.L., Minarini, A., Rosini, M., Tumiatti, V., Recanatini, M., and Melchiorre, C. (2008). Multi-target-Directed Ligands To Combat Neurodegenerative Diseases. *J. Med. Chem.* 51, 347–372.
- Cellek, S., John, A.K., Thangiah, R., Dass, N.B., Bassil, A.K., Jarvie, E.M., Lalude, O., Vivekanandan, S., and Sanger, G.J. (2006). 5-HT₄ receptor agonists enhance both cholinergic and nitregeric activities in human isolated colon circular muscle. *Neurogastroenterology & Motility* 18, 853–861.
- Charnay, Y., and Leger, L. (2010). Brain serotonergic circuitries. *Dialogues in Clinical Neuroscience* 12, 471–487.
- Chen, L.Y., Rex, C.S., Sanaiha, Y., Lynch, G., and Gall, C.M. (2010). Learning induces neurotrophin signaling at hippocampal synapses. *PNAS* 107, 7030–7035.
- Chen, W.R., Lee, S., Kato, K., Spencer, D.D., Shepherd, G.M., and Williamson, A. (1996). Long-term modifications of synaptic efficacy in the human inferior and middle temporal cortex. *Proc Natl Acad Sci U S A* 93, 8011–8015.
- Chevalyere, V., and Castillo, P.E. (2004). Endocannabinoid-Mediated Metaplasticity in the Hippocampus. *Neuron* 43, 871–881.
- Cho, S., and Hu, Y. (2007). Activation of 5-HT₄ receptors inhibits secretion of β -amyloid peptides and increases neuronal survival. *Experimental Neurology* 203, 274–278.
- Cirrito, J.R., Disabato, B.M., Restivo, J.L., Verges, D.K., Goebel, W.D., Sathyan, A., Hayreh, D., D'Angelo, G., Benzinger, T., Yoon, H., et al. (2011). Serotonin signaling is associated with lower amyloid- β levels and plaques in transgenic mice and humans. *PNAS* 108, 14968–14973.
- Citri, A., and Malenka, R.C. (2008). Synaptic plasticity : multiple forms, functions, and mechanisms. *Neuropsychopharmacology* 33, 18–41.
- Claeyens, S., Sebben, M., Journot, L., Bockaert, J., and Dumuis, A. (1996). Cloning, expression and pharmacology of the mouse 5-HT_{4L} receptor. *FEBS Letters* 398, 19–25.

- Claeysen, S., Sebben, M., Becamel, C., Bockaert, J., and Dumuis, A. (1999). Novel brain-specific 5-HT₄ receptor splice variants show marked constitutive activity: role of the C-terminal intracellular domain. *Molecular Pharmacology* 55, 910–920.
- Claeysen, S., Sebben, M., Bécamel, C., Eglén, R.M., Clark, R.D., Bockaert, J., and Dumuis, A. (2000). Pharmacological Properties of 5-Hydroxytryptamine₄ Receptor Antagonists on Constitutively Active Wild-Type and Mutated Receptors. *Molecular Pharmacology* 58, 136–144.
- Claeysen, S., Cochet, M., Donneger, R., Dumuis, A., Bockaert, J., and Giannoni, P. (2012). Alzheimer culprits: Cellular crossroads and interplay. *Cellular Signalling* 24, 1831–1840.
- Clark, T.A., Lee, H.P., Rolston, R.K., Zhu, X., Marlatt, M.W., Castellani, R.J., Nunomura, A., Casadesus, G., Smith, M.A., Lee, H.-G., et al. (2010). Oxidative Stress and its Implications for Future Treatments and Management of Alzheimer Disease. *Int J Biomed Sci* 6, 225–227.
- Cochet, M., Donneger, R., Cassier, E., Gaven, F., Lichtenthaler, S.F., Marin, P., Bockaert, J., Dumuis, A., and Claeysen, S. (2013). 5-HT₄ receptors constitutively promote the non-amyloidogenic pathway of APP cleavage and interact with ADAM10. *ACS Chem Neurosci* 4, 130–140.
- Cohen, L.G., Ziemann, U., Chen, R., Classen, J., Hallett, M., Gerloff, C., and Butefisch, C. (1998). Studies of neuroplasticity with transcranial magnetic stimulation. *J Clin Neurophysiol* 15, 305–324.
- Collingridge, G.L., Isaac, J.T.R., and Wang, Y.T. (2004). Receptor trafficking and synaptic plasticity. *Nature Reviews Neuroscience* 5, 952–962.
- Compan, V., Daszuta, A., Salin, P., Sebben, M., Bockaert, J., and Dumuis, A. (1996). Lesion Study of the Distribution of Serotonin 5-HT₄ Receptors in Rat Basal Ganglia and Hippocampus. *European Journal of Neuroscience* 8, 2591–2598.
- Compan, V., Zhou, M., Grailhe, R., Gazzara, R.A., Martin, R., Gingrich, J., Dumuis, A., Brunner, D., Bockaert, J., and Hen, René (2004). Attenuated Response to Stress and Novelty and Hypersensitivity to Seizures in 5-HT₄ Receptor Knock-Out Mice. *Journal of Neuroscience* 24, 412–419.
- Conductier, G., Dusticier, N., Lucas, G., Côté, F., Debonnel, G., Daszuta, A., Dumuis, A., Nieoullon, A., Hen, R., Bockaert, J., et al. (2006). Adaptive changes in serotonin neurons of the raphe nuclei in 5-HT₄ receptor knock-out mouse. *European Journal of Neuroscience* 24, 1053–1062.
- Connor, S.A., and Wang, Y.T. (2016). A Place at the Table : LTD as a Mediator of Memory Genesis. *Neuroscientist* 22, 359–371.
- Consolo, S., Arnaboldi, S., Giorgi, S., Russi, G., and Ladinsky, H. (1994). 5-HT₄ receptor stimulation facilitates acetylcholine release in rat frontal cortex. *NeuroReport* 5, 1230–1232.
- Córdoba Montoya, D.A., and Carrer, H.F. (1997). Estrogen facilitates induction of long term potentiation in the hippocampus of awake rats. First published on the World Wide Web on 4 November 1997.1. *Brain Research* 778, 430–438.
- Corradetti, R., Ballerini, L., Pugliese, A.M., and Pepeu, G. (1992). Serotonin blocks the long-term potentiation induced by primed burst stimulation in the CA1 region of rat hippocampal slices. *Neuroscience* 46, 511–518.
- Corrigan, F., Vink, R., Blumbergs, P.C., Masters, C.L., Cappai, R., and van den Heuvel, C. (2012). Evaluation of the effects of treatment with sAPP α on functional and histological outcome following controlled cortical impact injury in mice. *Neurosci. Lett.* 515, 50–54.
- Costenla, A.R., de Mendonça, A., and Ribeiro, J.A. (1999). Adenosine modulates synaptic plasticity in hippocampal slices from aged rats. *Brain Research* 851, 228–234.
- Coyle, J.T. (2006). Glutamate and Schizophrenia: Beyond the Dopamine Hypothesis. *Cell Mol Neurobiol* 26, 363–382.

- Crabtree, G.W., and Gogos, J.A. (2014). Synaptic plasticity, neural circuits, and the emerging role of altered short-term information processing in schizophrenia. *Front Synaptic Neurosci* 6.
- Crouzin, N., Baranger, K., Cavalier, M., Marchalant, Y., Cohen-Solal, C., Roman, F.S., Khrestchatsky, M., Rivera, S., Féron, F., and Vignes, M. (2013). Area-specific alterations of synaptic plasticity in the 5XFAD mouse model of Alzheimer's disease: dissociation between somatosensory cortex and hippocampus. *PLoS One* 8, e74667.
- Dahlström, A., and Fuxe, K. (1964). Localization of monoamines in the lower brain stem. *Experientia* 20, 398–399.
- Daoudal, G., and Debanne, D. (2003). Long-Term Plasticity of Intrinsic Excitability: Learning Rules and Mechanisms. *Learn. Mem.* 10, 456–465.
- Darcet, F., Gardier, A.M., David, D.J., and Guilloux, J.-P. (2016). Chronic 5-HT4 receptor agonist treatment restores learning and memory deficits in a neuroendocrine mouse model of anxiety/depression. *Neuroscience Letters* 616, 197–203.
- Daskalakis, Z.J., Christensen, B.K., Fitzgerald, P.B., and Chen, R. (2008). Dysfunctional Neural Plasticity in Patients With Schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry* 65, 378–385.
- Davies, C.H., and Collingridge, G.L. (1993). The physiological regulation of synaptic inhibition by GABAB autoreceptors in rat hippocampus. *The Journal of Physiology* 472, 245–265.
- Davies, P., and Maloney, A.J.F. (1976). Selective loss of central cholinergic neurons in Alzheimer's disease. *The Lancet* 308, 1403.
- Davies, C.H., Davies, S.N., and Collingridge, G.L. (1990). Paired-pulse depression of monosynaptic GABA-mediated inhibitory post-synaptic responses in rat hippocampus. *The Journal of Physiology* 424, 513–531.
- Davies, C.H., Starkey, S.J., Pozza, M.F., and Collingridge, G.L. (1991). GABAB autoreceptors regulate the induction of LTP. *Nature* 349, 609–611.
- Day, M., and Good, M. (2005). Ovariectomy-induced disruption of long-term synaptic depression in the hippocampal CA1 region in vivo is attenuated with chronic estrogen replacement. *Neurobiology of Learning and Memory* 83, 13–21.
- De Jonghe, C., Esselens, C., Kumar-Singh, S., Craessaerts, K., Serneels, S., Checler, F., Annaert, W., Van Broeckhoven, C., and De Strooper, B. (2001). Pathogenic APP mutations near the gamma-secretase cleavage site differentially affect Abeta secretion and APP C-terminal fragment stability. *Hum. Mol. Genet.* 10, 1665–1671.
- De Strooper, B. (2003). Aph-1, Pen-2, and Nicastrin with Presenilin generate an active gamma-Secretase complex. *Neuron* 38, 9–12.
- Debanne, D., and Thompson, S. (1994). Calcium: A Trigger for Long-Term Depression and Potentiation in the Hippocampus. *Physiology* 9, 256–260.
- Debette, S., Seshadri, S., Beiser, A., Au, R., Himali, J.J., Palumbo, C., Wolf, P.A., and DeCarli, C. (2011). Midlife vascular risk factor exposure accelerates structural brain aging and cognitive decline. *Neurology* 77, 461–468.
- deIpolyi, A.R., Rankin, K.P., Mucke, L., Miller, B.L., and Gorno-Tempini, M.L. (2007). Spatial cognition and the human navigation network in AD and MCI. *Neurology* 69, 986–997.
- Demb, J.B., Desmond, J.E., Wagner, A.D., Vaidya, C.J., Glover, G.H., and Gabrieli, J.D.E. (1995). Semantic encoding and retrieval in the left inferior prefrontal cortex : a functional MRI study of task difficulty and process specificity. *The Journal of Neuroscience* 15, 5870–9878.

- Deng, J., Habib, A., Obregon, D.F., Barger, S.W., Giunta, B., Wang, Y.-J., Hou, H., Sawmiller, D., and Tan, J. (2015). Soluble amyloid precursor protein alpha inhibits tau phosphorylation through modulation of GSK3 β signaling pathway. *J. Neurochem.* *135*, 630–637.
- Desmond, N.L., Zhang, D.X., and Levy, W.B. (2000). Estradiol Enhances the Induction of Homosynaptic Long-Term Depression in the CA1 Region of the Adult, Ovariectomized Rat. *Neurobiology of Learning and Memory* *73*, 180–187.
- Devi, L., and Ohno, M. (2010). Phospho-eIF2 α level is important for determining abilities of BACE1 reduction to rescue cholinergic neurodegeneration and memory defects in 5XFAD mice. *PLoS ONE* *5*, e12974.
- Di Mauro, M., Tozzi, A., Calabresi, P., Pettorossi, V.E., and Grassi, S. (2015). Neo-synthesis of estrogenic or androgenic neurosteroids determine whether long-term potentiation or depression is induced in hippocampus of male rat. *Front Cell Neurosci* *9*.
- Di Mauro, M., Tozzi, A., Calabresi, P., Pettorossi, V.E., and Grassi, S. (2017). Different synaptic stimulation patterns influence the local androgenic and estrogenic neurosteroid availability triggering hippocampal synaptic plasticity in the male rat. *European Journal of Neuroscience* *45*, 499–509.
- Diamond, D.M., Fleshner, M., and Rose, G.M. (1994). Psychological stress repeatedly blocks hippocampal primed burst potentiation in behaving rats. *Behavioural Brain Research* *62*, 1–9.
- Dickerson, B.C., Salat, D.H., Greve, D.N., Chua, E.F., Rand-Giovannetti, E., Rentz, D.M., Bertram, L., Mullin, K., Tanzi, R.E., Blacker, D., et al. (2005). Increased hippocampal activation in mild cognitive impairment compared to normal aging and AD. *Neurology* *65*, 404–411.
- Diedrich, J.F., Minnigan, H., Carp, R.I., Whitaker, J.N., Race, R., Frey, W., and Haase, A.T. (1991). Neuropathological changes in scrapie and Alzheimer's disease are associated with increased expression of apolipoprotein E and cathepsin D in astrocytes. *J Virol* *65*, 4759–4768.
- Dobrunz, L.E., and Stevens, C.F. (1997). Heterogeneity of Release Probability, Facilitation, and Depletion at Central Synapses. *Neuron* *18*, 995–1008.
- Domingues, A., Almeida, S., da Cruz e Silva, E.F., Oliveira, C.R., and Rego, A.C. (2007). Toxicity of beta-amyloid in HEK293 cells expressing NR1/NR2A or NR1/NR2B N-methyl-D-aspartate receptor subunits. *Neurochem. Int.* *50*, 872–880.
- Dong, Z., Bai, Y., Wu, X., Li, H., Gong, B., Howland, J.G., Huang, Y., He, W., Li, T., and Wang, Y.T. (2013). Hippocampal long-term depression mediates spatial reversal learning in the Morris water maze. *Neuropharmacology* *64*, 65–73.
- Doyère, V., Dèbiec, J., Monfils, M.-H., Schafe, G.E., and LeDoux, J.E. (2007). Synapse-specific reconsolidation of distinct fear memories in the lateral amygdala. *Nature Neuroscience* *10*, 414–416.
- Dudai, Y. (2004). The Neurobiology of Consolidations, Or, How Stable is the Engram? *Annual Review of Psychology* *55*, 51–86.
- Dudek, S.M., and Bear, M.F. (1992). Homosynaptic long-term depression in area CA1 of hippocampus and effects of N-methyl-D-aspartate receptor blockade. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* *5*.
- Dudek, S.M., and Bear, M.F. (1993). Bidirectional long-term modification of synaptic effectiveness in the adult and immature hippocampus. *J. Neurosci.* *13*, 2910–2918.
- Dumuis, A., Bouhelal, R., Sebben, M., and Bockaert, J. (1988). A 5-HT receptor in the central nervous system, positively coupled with adenylate cyclase, is antagonized by ICS 205 930. *European Journal of Pharmacology* *146*, 187–188.
- Duyckaerts, C., Panchal, M., Delatour, B., and Potier, M.-C. (2009). Morphologic and molecular neuropathology of Alzheimer's disease. *Ann Pharm Fr* *67*, 127–135.

- Edmonds, E.C., Delano-Wood, L., Galasko, D.R., Salmon, D.P., and Bondi, M.W. (2015). Subtle Cognitive Decline and Biomarker Staging in Preclinical Alzheimer's Disease. *J Alzheimers Dis* 47, 231–242.
- Eglen, R.M., Bonhaus, D.W., Johnson, L.G., Leung, E., and Clark, R.D. (1995). Pharmacological characterization of two novel and potent 5-HT₄ receptor agonists, RS 67333 and RS 67506, in vitro and in vivo. *British Journal of Pharmacology*.
- Ellis, J.R., Ellis, K.A., Bartholomeusz, C.F., Harrison, B.J., Wesnes, K.A., Erskine, F.F., Vitetta, L., and Nathan, P.J. (2005). Muscarinic and nicotinic receptors synergistically modulate working memory and attention in humans. *The International Journal of Neuropsychopharmacology* 9, 175.
- Eriksson, J., Vogel, E.K., Lansner, A., Bergström, F., and Nyberg, L. (2015). Neurocognitive architecture of working memory. *Neuron* 88, 33–46.
- Esposito, Z., Belli, L., Toniolo, S., Sancesario, G., Bianconi, C., and Martorana, A. (2013). Amyloid β , Glutamate, Excitotoxicity in Alzheimer's Disease: Are We on the Right Track? *CNS Neuroscience & Therapeutics* 19, 549–555.
- Esteban, J.A., Shi, S.-H., Wilson, C., Nuriya, M., Hugarir, R.L., and Malinow, R. (2003). PKA phosphorylation of AMPA receptor subunits controls synaptic trafficking underlying plasticity. *Nature Neuroscience* 6, 136–143.
- Evans, M.S., and Viola-McCabe, K.E. (1996). Midazolam inhibits long-term potentiation through modulation of GABAA receptors. *Neuropharmacology* 35, 347–357.
- Fá, M., Puzzo, D., Piacentini, R., Staniszewski, A., Zhang, H., Baltrons, M.A., Li Puma, D.D., Chatterjee, I., Li, J., Saeed, F., et al. (2016). Extracellular Tau Oligomers Produce An Immediate Impairment of LTP and Memory. *Sci Rep* 6.
- Farlow, M.R. (2003). Clinical Pharmacokinetics of Galantamine. *Clin Pharmacokinet* 42, 1383–1392.
- Feld, G.B., Lange, T., Gais, S., and Born, J. (2013). Sleep-Dependent Declarative Memory Consolidation—Unaffected after Blocking NMDA or AMPA Receptors but Enhanced by NMDA Coagonist D-Cycloserine. *Neuropsychopharmacology* 38, 2688–2697.
- Ferreira, D.G., Batalha, V.L., Vicente Miranda, H., Coelho, J.E., Gomes, R., Gonçalves, F.Q., Real, J.I., Rino, J., Albino-Teixeira, A., Cunha, R.A., et al. (2017). Adenosine A_{2A} Receptors Modulate α -Synuclein Aggregation and Toxicity. *Cereb Cortex* 27, 718–730.
- Ferreira, I., Resende, R., Ferreira, E., Rego, A., and Pereira, C. (2010). Multiple Defects in Energy Metabolism in Alzheimers Disease. *Current Drug Targets* 11, 1193–1206.
- Ferris, S.H., and Farlow, M. (2013). Language impairment in Alzheimer's disease and benefits of acetylcholinesterase inhibitors. *Clin Interv Aging* 8, 1007–1014.
- Fioravante, D., and Regehr, W.G. (2011). Short-term forms of presynaptic plasticity. *Current Opinion in Neurobiology* 21, 269–274.
- Fishkin, R.J., Ince, E.S., Carlezon, W.A., and Dunn, R.W. (1993). D-cycloserine attenuates scopolamine-induced learning and memory deficits in rats. *Behav. Neural Biol.* 59, 150–157.
- Fitzgerald, P.B., Brown, T.L., Marston, N.A.U., Oxley, T., de Castella, A., Daskalakis, Z.J., and Kulkarni, J. (2004). Reduced plastic brain responses in schizophrenia: a transcranial magnetic stimulation study. *Schizophrenia Research* 71, 17–26.
- Fitzjohn, S.M., Kuenzi, F., Morton, R.A., Rosahl, T.W., Lewis, H., Smith, D., Seabrook, G.R., and Collingridge, G.L. (2010). A study of long-term potentiation in transgenic mice over-expressing mutant forms of both amyloid precursor protein and presenilin-1. *Molecular Brain* 3, 21.
- Ford, A.P.D.W., and Clarke, D.E. (1993). The 5-HT₄ Receptor.

- Foster, T.C. (1999). Involvement of hippocampal synaptic plasticity in age-related memory decline. *Brain Research Reviews* 30, 236–249.
- Foster, T.C., and Kumar, A. (2007). Susceptibility to induction of long-term depression is associated with impaired memory in aged Fischer 344 rats. *Neurobiology of Learning and Memory* 87, 522–535.
- Foster, T.C., Sharrow, K.M., Kumar, A., and Masse, J. (2003). Interaction of age and chronic estradiol replacement on memory and markers of brain aging. *Neurobiology of Aging* 24, 839–852.
- Foy, M.R., Stanton, M.E., Levine, S., and Thompson, R.F. (1987). Behavioral stress impairs long-term potentiation in rodent hippocampus. *Behavioral and Neural Biology* 48, 138–149.
- Foy, M.R., Baudry, M., Diaz Brinton, R., and Thompson, R.F. (2008a). Estrogen and Hippocampal Plasticity in Rodent Models. *Journal of Alzheimer's Disease* 15, 589–603.
- Foy, M.R., Akopian, G., and Thompson, R.F. (2008b). Progesterone regulation of synaptic transmission and plasticity in rodent hippocampus. *Learn. Mem.* 15, 820–822.
- Frankland, P.W., and Bontempi, B. (2005). The organization of recent and remote memories. *Nature Reviews Neuroscience* 6, 119–130.
- Frantseva, M.V., Fitzgerald, P.B., Chen, R., Möller, B., Daigle, M., and Daskalakis, Z.J. (2008). Evidence for Impaired Long-Term Potentiation in Schizophrenia and Its Relationship to Motor Skill Learning. *Cereb Cortex* 18, 990–996.
- Freitas, C., Mondragón-Llorca, H., and Pascual-Leone, A. (2011). Noninvasive brain stimulation in Alzheimer's disease: Systematic review and perspectives for the future. *Experimental Gerontology* 46, 611–627.
- Freret, T., Bouet, V., Quiedeville, A., Nee, G., Dallemagne, P., Rochais, C., and Boulouard, M. (2012). Synergistic effect of acetylcholinesterase inhibition (donepezil) and 5-HT₄ receptor activation (RS67333) on object recognition in mice. *Behavioural Brain Research* 230, 304–308.
- Fugger, H.N., Kumar, A., Lubahn, D.B., Korach, K.S., and Foster, T.C. (2001). Examination of estradiol effects on the rapid estradiol mediated increase in hippocampal synaptic transmission in estrogen receptor α knockout mice. *Neuroscience Letters* 309, 207–209.
- Fujii, S., Tanaka, H., and Hirano, T. (2018). Suppression of AMPA Receptor Exocytosis Contributes to Hippocampal LTD. *J. Neurosci.* 38, 5523–5537.
- Fumagalli, E., Funicello, M., Rauen, T., Gobbi, M., and Mennini, T. (2008). Riluzole enhances the activity of glutamate transporters GLAST, GLT1 and EAAC1. *Eur. J. Pharmacol.* 578, 171–176.
- Fuster, J.M., and Alexander, G.E. (1971). Neuron Activity Related to Short-Term Memory. *Science* 173, 652–654.
- Gale, J.D., Grossman, C.J., Whitehead, J.W., Oxford, A.W., Bunce, K.T., and Humphrey, P.P. (1994). GR113808: a novel, selective antagonist with high affinity at the 5-HT₄ receptor. *Br J Pharmacol* 111, 332–338.
- Galeotti, N., Ghelardini, C., and Bartolini, A. (1998). Role of 5-HT₄ receptors in the mouse passive avoidance test. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 286, 1115–1121.
- Gallagher, S.M., Daly, C.A., Bear, M.F., and Huber, K.M. (2004). Extracellular Signal-Regulated Protein Kinase Activation Is Required for Metabotropic Glutamate Receptor-Dependent Long-Term Depression in Hippocampal Area CA1. *J. Neurosci.* 24, 4859–4864.
- Gao, S., Hendrie, H.C., Hall, K.S., and Hui, S. (1998). The Relationships Between Age, Sex, and the Incidence of Dementia and Alzheimer Disease: A Meta-analysis. *Arch Gen Psychiatry* 55, 809–815.

- Garcez, M.L., Falchetti, A.C.B., Mina, F., and Budni, J. (2015). Alzheimer's Disease associated with Psychiatric Comorbidities. *Anais Da Academia Brasileira de Ciências* 87, 1461–1473.
- Gaster, L., and Sanger, G. (1994). SB 204070: 5-HT₄ receptor antagonists and their potential therapeutic utility. *Drugs of the Future* 19.
- Gaven, F., Pellissier, L.P., Queffeuilou, E., Cochet, M., Bockaert, J., Dumuis, A., and Claeysen, S. (2013). Pharmacological profile of engineered 5-HT₄ receptors and identification of 5-HT₄ receptor-biased ligands. *Brain Research* 1511, 65–72.
- Ge, Y., Dong, Z., Bagot, R.C., Howland, J.G., Phillips, A.G., Wong, T.P., and Wang, Y.T. (2010). Hippocampal long-term depression is required for the consolidation of spatial memory. *Proc Natl Acad Sci U S A* 107, 16697–16702.
- Gerald, C., Nika, A., Kao, H.-T., Olsen, M.A., Laz, T.M., Schechter, L.E., Bard, J.A., Vaysse, P.J., Hartig, P.R., Branchek, T.A., et al. (1995). The 5-HT₄ receptor: molecular cloning and pharmacological characterization of two splice variants. *The EMBO Journal* 14, 2806–2815.
- Gerdeman, G.L., Ronesi, J., and Lovinger, D.M. (2002). Post-synaptic endocannabinoid release is critical to long-term depression in the striatum. *Nature Neuroscience* 5, 446–451.
- Gergs, U., Baumann, M., Böckler, A., Buchwalow, I.B., Ebel, H., Fabritz, L., Hauptmann, S., Keller, N., Kirchhof, P., Klöckner, U., et al. (2010). Cardiac overexpression of the human 5-HT₄ receptor in mice. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology* 299, H788–H798.
- Gergs, U., Böckler, A., Ebel, H., Hauptmann, S., Keller, N., Otto, V., Pönicke, K., Schmitz, W., and Neumann, J. (2013). Human 5-HT₄ receptor stimulation in atria of transgenic mice. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology* 386, 357–367.
- Germano, C., and Kinsella, G.J. (2005). Working Memory and Learning in Early Alzheimer's Disease. *Neuropsychology Review* 15, 1–10.
- Ghilan, M., Bostrom, C.A., Hryciw, B.N., Simpson, J.M., Christie, B.R., and Gil-Mohapel, J. (2014). YAC128 Huntington's disease transgenic mice show enhanced short-term hippocampal synaptic plasticity early in the course of the disease. *Brain Research* 1581, 117–128.
- Giannoni, P., Gaven, F., de Bundel, D., Baranger, K., Marchetti-Gauthier, E., Roman, F.S., Valjent, E., Marin, P., Bockaert, J., Rivera, S., et al. (2013). Early administration of RS 67333, a specific 5-HT₄ receptor agonist, prevents amyloidogenesis and behavioral deficits in the 5XFAD mouse model of Alzheimer's disease. *Frontiers in Aging Neuroscience* 5.
- Gladding, C.M., Fitzjohn, S.M., and Molnár, E. (2009). Metabotropic Glutamate Receptor-Mediated Long-Term Depression: Molecular Mechanisms. *Pharmacol Rev* 61, 395–412.
- Goedert, M. (1987). Neuronal localization of amyloid beta protein precursor mRNA in normal human brain and in Alzheimer's disease. *EMBO J.* 6, 3627–3632.
- Goh, J.J., and Manahan-Vaughan, D. (2013). Spatial Object Recognition Enables Endogenous LTD that Curtails LTP in the Mouse Hippocampus. *Cerebral Cortex* 23, 1118–1125.
- Gosselet, F., Candela, P., Cecchelli, R., and Fenart, L. (2011). Role of the blood-brain barrier in Alzheimer's disease. *Med Sci (Paris)* 27, 987–992.
- Graef, S., Schönknecht, P., Sabri, O., and Hegerl, U. (2011). Cholinergic receptor subtypes and their role in cognition, emotion, and vigilance control: An overview of preclinical and clinical findings. *Psychopharmacology* 215, 205–229.
- Granger, A.J., and Nicoll, R.A. (2014). Expression mechanisms underlying long-term potentiation: a post-synaptic view, 10 years on. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 369.

- Grant, P., Song, J.Y., and Swedo, S.E. (2010). Review of the use of the glutamate antagonist riluzole in psychiatric disorders and a description of recent use in childhood obsessive-compulsive disorder. *J Child Adolesc Psychopharmacol* 20, 309–315.
- Greenwood, C.E., and Winocur, G. (2005). High-fat diets, insulin resistance and declining cognitive function. *Neurobiology of Aging* 26, 42–45.
- Griffin, R., Nally, R., Nolan, Y., McCartney, Y., Linden, J., and Lynch, M.A. (2006). The age-related attenuation in long-term potentiation is associated with microglial activation. *J. Neurochem.* 99, 1263–1272.
- Grossman, C.J., Kilpatrick, G.J., and Bunce, K.T. (1993). Development of a radioligand binding assay for 5-HT₄ receptors in guinea-pig and rat brain. *British Journal of Pharmacology* 109, 618–624.
- Grover, L.M., and Teyler, T.J. (1990). Two components of long-term potentiation induced by different patterns of afferent activation. *Nature* 347, 477–479.
- Grover, L.M., and Yan, C. (1999). Blockade of GABAA Receptors Facilitates Induction of NMDA Receptor-Independent Long-Term Potentiation. *Journal of Neurophysiology* 81, 2814–2822.
- Gruart, A. (2006). Involvement of the CA3-CA1 Synapse in the Acquisition of Associative Learning in Behaving Mice. *Journal of Neuroscience* 26, 1077–1087.
- Grunwald, T., Beck, H., Lehnertz, K., Blumcke, I., Pezer, N., Kurthen, M., Fernandez, G., Van Roost, D., Heinze, H.J., Kutas, M., et al. (1999). Evidence relating human verbal memory to hippocampal N-methyl-D-aspartate receptors. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 96, 12085–12089.
- Gsell, W., Jungkunz, G., and Riederer, P. (2004). Functional neurochemistry of Alzheimer's disease. *Curr. Pharm. Des.* 10, 265–293.
- Gureviciene, I., Ikonen, S., Gurevicius, K., Sarkaki, A., van Groen, T., Pussinen, R., Ylinen, A., and Tanila, H. (2004). Normal induction but accelerated decay of LTP in APP + PS1 transgenic mice. *Neurobiology of Disease* 15, 188–195.
- Haahr, M.E., Fisher, P., Holst, K., Madsen, K., Jensen, C.G., Marnier, L., Lehel, S., Baaré, W., Knudsen, G., and Hasselbalch, S. (2013). The 5-HT₄ receptor levels in hippocampus correlates inversely with memory test performance in humans. *Human Brain Mapping* 34, 3066–3074.
- Habets, R.L.P., and Borst, J.G.G. (2006). An Increase in Calcium Influx Contributes to Post-Tetanic Potentiation at the Rat Calyx of Held Synapse. *Journal of Neurophysiology* 96, 2868–2876.
- Hagena, H., and Manahan-Vaughan, D. (2011). Learning-Facilitated Synaptic Plasticity at CA3 Mossy Fiber and Commissural-Associational Synapses Reveals Different Roles in Information Processing. *Cerebral Cortex* 21, 2442–2449.
- Hagena, H., and Manahan-Vaughan, D. (2016). The serotonergic 5-HT₄ receptor: A unique modulator of hippocampal synaptic information processing and cognition. *Neurobiology of Learning and Memory*.
- Haig, G.M., Pritchett, Y., Meier, A., Othman, A.A., Hall, C., Gault, L.M., and Lenz, R.A. (2014). A randomized study of H3 antagonist ABT-288 in mild-to-moderate Alzheimer's dementia. *J. Alzheimers Dis.* 42, 959–971.
- Halsband, U., and Lange, R.K. (2006). Motor learning in man: A review of functional and clinical studies. *Journal of Physiology-Paris* 99, 414–424.
- Haq, R. ul, Anderson, M., Liotta, A., Shafiq, M., Sherkheli, M.A., and Heinemann, U. (2016). Pretreatment with β -adrenergic receptor agonists facilitates induction of LTP and sharp wave ripple complexes in rodent hippocampus. *Hippocampus* 26, 1486–1492.
- Harley, C.W., Malsbury, C.W., Squires, A., and Brown, R. a. M. (2000). Testosterone decreases CA1 plasticity in vivo in gonadectomized male rats. *Hippocampus* 10, 693–697.

- Hart, J.J., and Grodon, B. (1990). Delineation of single-word semantic comprehension deficits in aphasia, with anatomical correlation. *Annals of Neurology* 226–231.
- Hartley, D.M., Walsh, D.M., Ye, C.P., Diehl, T., Vasquez, S., Vassilev, P.M., Teplow, D.B., and Selkoe, D.J. (1999). Protofibrillar Intermediates of Amyloid β -Protein Induce Acute Electrophysiological Changes and Progressive Neurotoxicity in Cortical Neurons. *J. Neurosci.* 19, 8876–8884.
- Hasan, A., Nitsche, M.A., Rein, B., Schneider-Axmann, T., Guse, B., Gruber, O., Falkai, P., and Wobrock, T. (2011). Dysfunctional long-term potentiation-like plasticity in schizophrenia revealed by transcranial direct current stimulation. *Behavioural Brain Research* 224, 15–22.
- Hasan, A., Nitsche, M.A., Herrmann, M., Schneider-Axmann, T., Marshall, L., Gruber, O., Falkai, P., and Wobrock, T. (2012). Impaired long-term depression in schizophrenia: A cathodal tDCS pilot study. *Brain Stimulation* 5, 475–483.
- Hasan, A., Brinkmann, C., Strube, W., Palm, U., Malchow, B., Rothwell, J.C., Falkai, P., and Wobrock, T. (2015). Investigations of motor-cortex cortical plasticity following facilitatory and inhibitory transcranial theta-burst stimulation in schizophrenia: A proof-of-concept study. *Journal of Psychiatric Research* 61, 196–204.
- Hasegawa, M. (2016). Molecular Mechanisms in the Pathogenesis of Alzheimer's disease and Tauopathies-Prion-Like Seeded Aggregation and Phosphorylation. *Biomolecules* 6.
- Hashimoto, G., Sakurai, M., Teich, A.F., Saeed, F., Aziz, F., and Arancio, O. (2012). 5-HT₄ Receptor Stimulation Leads to Soluble APP α Production through MMP-9 Upregulation. *Journal of Alzheimer's Disease*.
- Haute Autorité de Santé (2016). Synthèse d'avis de la commission de la transparence (Haute Autorité de Santé).
- He, L., Xue, L., Xu, J., McNeil, B.D., Bai, L., Melicoff, E., Adachi, R., and Wu, L.-G. (2009). Calcium/synaptotagmin-evoked compound fusion increases quantal size and synaptic strength. *Nature* 459, 93–97.
- Hebb, D.O. (1949). *The Organization of Behavior* (New York: Wiley).
- Hebbard, P.C., King, R.R., Malsbury, C.W., and Harley, C.W. (2003). Two organizational effects of pubertal testosterone in male rats: transient social memory and a shift away from long-term potentiation following a tetanus in hippocampal CA1. *Experimental Neurology* 182, 470–475.
- Hebert, L.E., Bienias, J.L., Aggarwal, N.T., Wilson, R.S., Bennett, D.A., Shah, R.C., and Evans, D.A. (2010). Change in risk of Alzheimer disease over time. *Neurology* 75, 786–791.
- Hegde, S.S., and Eglén, R.M. (1996). Peripheral 5-HT₄ receptors. *The FASEB Journal* 10, 1398–1407.
- Hegde, S.S., Bonhaus, D.W., Johnson, L.G., Leung, E., Clark, R.D., and Eglén, R.M. (1995). RS 39604: a potent, selective and orally active 5-HT₄ receptor antagonist. *British Journal of Pharmacology* 115, 1087–1095.
- Heneka, M.T., Ramanathan, M., Jacobs, A.H., Dumitrescu-Ozimek, L., Bilkei-Gorzo, A., Debeir, T., Sastre, M., Galldik, N., Zimmer, A., Hoehn, M., et al. (2006). Locus Ceruleus Degeneration Promotes Alzheimer Pathogenesis in Amyloid Precursor Protein 23 Transgenic Mice. *J. Neurosci.* 26, 1343–1354.
- Heppner, F.L., Ransohoff, R.M., and Becher, B. (2015). Immune attack: the role of inflammation in Alzheimer disease. *Nature Reviews Neuroscience* 16, 358–372.

- Héraud, C., Goufak, D., Ando, K., Leroy, K., Suain, V., Yilmaz, Z., De Decker, R., Authelet, M., Laporte, V., Octave, J.-N., et al. (2014). Increased misfolding and truncation of tau in APP/PS1/tau transgenic mice compared to mutant tau mice. *Neurobiol. Dis.* 62, 100–112.
- Heredia, D.J., Dickson, E.J., Bayguinov, P.O., Hennig, G.W., and Smith, T.K. (2009). Localized Release of Serotonin (5-Hydroxytryptamine) by a Fecal Pellet Regulates Migrating Motor Complexes in Murine Colon. *Gastroenterology* 136, 1328–1338.
- Higgins, G.A., Lewis, D.A., Bahmanyar, S., Goldgaber, D., Gajdusek, D.C., Young, W.G., Morrison, J.H., and Wilson, M.C. (1988). Differential regulation of amyloid-beta-protein mRNA expression within hippocampal neuronal subpopulations in Alzheimer disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 85, 1297–1301.
- Hildreth, K.L., and Church, S. (2015). Evaluation and Management of the Elderly Patient Presenting with Cognitive Complaints. *Med Clin North Am* 99, 311–335.
- Hosoi, N., Holt, M., and Sakaba, T. (2009). Calcium Dependence of Exo- and Endocytotic Coupling at a Glutamatergic Synapse. *Neuron* 63, 216–229.
- Hotte, M., Dauphin, F., Freret, T., Boulouard, M., and Levallet, G. (2012). A Biphasic and Brain-Region Selective Down-Regulation of Cyclic Adenosine Monophosphate Concentrations Supports Object Recognition in the Rat. *PLoS One* 7.
- Hrabetova, S., and Sacktor, T.C. (1996). Bidirectional Regulation of Protein Kinase Mzeta in the Maintenance of Long-Term Potentiation and Long-Term Depression. *The Journal of Neuroscience* 16, 5324–5333.
- Hsieh, H., Boehm, J., Sato, C., Iwatsubo, T., Tomita, T., Sisodia, S., and Malinow, R. (2006). AMPA-R Removal Underlies A β -induced Synaptic Depression and Dendritic Spine Loss. *Neuron* 52, 831–843.
- Hsu, K.-S., Huang, C.-C., Liang, Y.-C., Wu, H.-M., Chen, Y.-L., Lo, S.-W., and Ho, W.-C. (2002). Alterations in the balance of protein kinase and phosphatase activities and age-related impairments of synaptic transmission and long-term potentiation. *Hippocampus* 12, 787–802.
- Huang, C.-C., and Hsu, K.-S. (2006). Sustained activation of metabotropic glutamate receptor 5 and protein tyrosine phosphatases mediate the expression of (S)-3,5-dihydroxyphenylglycine-induced long-term depression in the hippocampal CA1 region. *Journal of Neurochemistry* 96, 179–194.
- Huang, Y.-Y., and Kandel, E.R. (2007a). 5-Hydroxytryptamine Induces a Protein Kinase A/Mitogen-Activated Protein Kinase-Mediated and Macromolecular Synthesis-Dependent Late Phase of Long-Term Potentiation in the Amygdala. *Journal of Neuroscience* 27, 3111–3119.
- Huang, Y.-Y., and Kandel, E.R. (2007b). Low-frequency stimulation induces a pathway-specific late phase of LTP in the amygdala that is mediated by PKA and dependent on protein synthesis. *Learning & Memory* 14, 497–503.
- Huang, L., Su, X., and Federoff, H.J. (2013). Single-chain fragment variable passive immunotherapies for neurodegenerative diseases. *Int J Mol Sci* 14, 19109–19127.
- Huang, L., Yang, X.-J., Huang, Y., Sun, E.Y., and Sun, M. (2016). Ketamine Protects Gamma Oscillations by Inhibiting Hippocampal LTD. *PLoS One* 11.
- Huang, Y.Y., Colino, A., Selig, D.K., and Malenka, R.C. (1992). The influence of prior synaptic activity on the induction of long-term potentiation. *Science* 255, 730–733.
- Hughes, R.E., Nikolic, K., and Ramsay, R.R. (2016). One for All? Hitting Multiple Alzheimer's Disease Targets with One Drug. *Front. Neurosci.* 10.
- Hung, S.-Y., and Fu, W.-M. (2017). Drug candidates in clinical trials for Alzheimer's disease. *J Biomed Sci* 24.

- Hung, S.-Y., Huang, W.-P., Liou, H.-C., and Fu, W.-M. (2009). Autophagy protects neuron from Abeta-induced cytotoxicity. *Autophagy* 5, 502–510.
- Hung, S.-Y., Huang, W.-P., Liou, H.-C., and Fu, W.-M. (2015). LC3 overexpression reduces A β neurotoxicity through increasing α 7nAChR expression and autophagic activity in neurons and mice. *Neuropharmacology* 93, 243–251.
- Hunsberger, H.C., Weitzner, D.S., Rudy, C.C., Hickman, J.E., Libell, E.M., Speer, R.R., Gerhardt, G.A., and Reed, M.N. (2015). Riluzole rescues glutamate alterations, cognitive deficits, and tau pathology associated with P301L tau expression. *J. Neurochem.* 135, 381–394.
- Hwang, K.-D., Bak, M.S., Kim, S.J., Rhee, S., and Lee, Y.-S. (2017). Restoring synaptic plasticity and memory in mouse models of Alzheimer's disease by PKR inhibition. *Mol Brain* 10.
- Hynd, M.R., Scott, H.L., and Dodd, P.R. (2004). Differential expression of N-methyl-d-aspartate receptor NR2 isoforms in Alzheimer's disease. *Journal of Neurochemistry* 90, 913–919.
- Inghilleri, M., Conte, A., Frasca, V., Scaldaferrri, N., Gilio, F., Santini, M., Fabbrini, G., Prencipe, M., and Berardelli, A. (2006). Altered response to rTMS in patients with Alzheimer's disease. *Clinical Neurophysiology* 117, 103–109.
- Ishikawa, T., Kaneko, M., Shin, H.-S., and Takahashi, T. (2005). Presynaptic N-type and P/Q-type Ca²⁺ channels mediating synaptic transmission at the calyx of Held of mice: Presynaptic N- and P/Q-type Ca²⁺ currents. *The Journal of Physiology* 568, 199–209.
- Ito, M. (1989). Long-Term Depression. *Annual Review of Neuroscience* 12, 85–102.
- Ito, K.-I., Skinkle, K.L., and Hicks, T.P. (1999). Age-dependent, steroid-specific effects of oestrogen on long-term potentiation in rat hippocampal slices. *The Journal of Physiology* 515, 209–220.
- Izquierdo, I., da Cunha, C., Rosat, R., Jerusalinsky, D., Ferreira, M.B.C., and Medina, J.H. (1992). Neurotransmitter receptors involved in post-training memory processing by the amygdala, medial septum, and hippocampus of the rat. *Behavioral and Neural Biology* 58, 16–26.
- Jacob, C.P., Koutsilieris, E., Bartl, J., Neuen-Jacob, E., Arzberger, T., Zander, N., Ravid, R., Roggendorf, W., Riederer, P., and Grünblatt, E. (2007). Alterations in Expression of Glutamatergic Transporters and Receptors in Sporadic Alzheimer's Disease. *Journal of Alzheimer's Disease* 11, 97–116.
- Jacobs, B.L., and Azmitia, E.C. (1992). Structure and function of the brain serotonin system. *Physiological Reviews* 72, 165–229.
- Jacobsen, C.F. (1931). A Study of cerebral function in learning. The frontal lobes. *J. Comp. Neurol.* 52, 271–340.
- Jarrett, J.T., Berger, E.P., and Lansbury, P.T. (1993). The C-terminus of the beta protein is critical in amyloidogenesis. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 695, 144–148.
- Jefferson, A.L., Beiser, A.S., Himali, J.J., Seshadri, S., O'Donnell, C.J., Manning, W.J., Wolf, P.A., Au, R., and Benjamin, E.J. (2015). Low Cardiac Index is Associated with Incident Dementia and Alzheimer's Disease: The Framingham Heart Study. *Circulation* 131, 1333–1339.
- Jenkins, I.H., Brooks, D.J., Nixon, P.D., Frackowiak, R.S.J., and Passingham's, F.E. (1994). Motor Sequence Learning: A Study with Positron Emission Tomography. *The Journal of Neuroscience* 14, 3775–3790.
- Joëls, M., Pu, Z., Wiegert, O., Oitzl, M.S., and Krugers, H.J. (2006). Learning under stress: how does it work? *Trends in Cognitive Sciences* 10, 152–158.
- Jones, M.W., Peckham, H.M., Errington, M.L., Bliss, T.V.P., and Routtenberg, A. (2001). Synaptic plasticity in the hippocampus of awake C57BL/6 and DBA/2 mice: Interstrain differences and parallels with behavior. *Hippocampus* 11, 391–396.

- Joubert, L., Hanson, B., Barthet, G., Sebben, M., Claeysen, S., Hong, W., Marin, P., Dumuis, A., and Bockaert, J. (2004). New sorting nexin (SNX27) and NHERF specifically interact with the 5-HT₄(a) receptor splice variant: roles in receptor targeting. *Journal of Cell Science* *117*, 5367–5379.
- Kadowaki, M., Wade, P.R., and Gershon, M.D. (1996). Participation of 5-HT₃, 5-HT₄, and nicotinic receptors in the peristaltic reflex of guinea pig distal colon. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology* *271*, G849–G857.
- Kamel, R., Garcia, S., Lezoualc'h, F., Fischmeister, R., Muller, S., Hoebek, J., and Eftekhari, P. (2007). Immunomodulation by maternal autoantibodies of the fetal serotonergic 5-HT₄ receptor and its consequences in early BALB/c mouse embryonic development. *BMC Dev. Biol.* *7*, 34.
- Kameyama, K., Lee, H.-K., Bear, M.F., and Huganir, R.L. (1998). Involvement of a Post-synaptic Protein Kinase A Substrate in the Expression of Homosynaptic Long-Term Depression. *Neuron* *21*, 1163–1175.
- Kandel, E.R., and Tauc, L. (1965). Mechanism of heterosynaptic facilitation in the giant cell of the abdominal ganglion of *Aplysia depilans*. *J Physiol* *181*, 28–47.
- Kang, H., Welcher, A.A., Shelton, D., and Schuman, E.M. (1997). Neurotrophins and Time: Different Roles for TrkB Signaling in Hippocampal Long-Term Potentiation. *Neuron* *19*, 653–664.
- Kang, J., Lemaire, H.G., Unterbeck, A., Salbaum, J.M., Masters, C.L., Grzeschik, K.H., Multhaup, G., Beyreuther, K., and Müller-Hill, B. (1987). The precursor of Alzheimer's disease amyloid A4 protein resembles a cell-surface receptor. *Nature* *325*, 733–736.
- Kapai, N.A., Bukanova, J.V., Solntseva, E.I., and Skrebitsky, V.G. (2012). Donepezil in a Narrow Concentration Range Augments Control and Impaired by Beta-Amyloid Peptide Hippocampal LTP in NMDAR-Independent Manner. *Cellular and Molecular Neurobiology* *32*, 219–226.
- Kasai, H., Fukuda, M., Watanabe, S., Hayashi-Takagi, A., and Noguchi, J. (2010). Structural dynamics of dendritic spines in memory and cognition. *Trends in Neurosciences* *33*, 121–129.
- Kato, S., Morie, T., and Yoshida, N. (1996). Synthesis and Biological Activity of 4-Amino-5-chloro-2-ethoxy-3-hydroxybenzamides, Metabolites of a New Gastroprokinetic Agent, Mosapride. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* *44*, 1484–1492.
- Kaumann, A.J., Sanders, L., Brown, A.M., Murray, K.J., and Brown, M.J. (1990). A 5-hydroxytryptamine receptor in human atrium. *British Journal of Pharmacology* *100*, 879–885.
- Kemp, A., and Manahan-Vaughan, D. (2004). Hippocampal long-term depression and long-term potentiation encode different aspects of novelty acquisition. *Proceedings of the National Academy of Sciences* *101*, 8192–8197.
- Kemp, A., and Manahan-Vaughan, D. (2005). The 5-Hydroxytryptamine₄ Receptor Exhibits Frequency-dependent Properties in Synaptic Plasticity and Behavioural Metaplasticity in the Hippocampal CA1 Region In vivo. *Cerebral Cortex* *15*, 1037–1043.
- Kemp, A., and Manahan-Vaughan, D. (2008). The Hippocampal CA1 Region and Dentate Gyrus Differentiate between Environmental and Spatial Feature Encoding through Long-Term Depression. *Cerebral Cortex* *18*, 968–977.
- Kemp, N., McQueen, J., Faulkes, S., and Bashir, Z.I. (2000). Different forms of LTD in the CA1 region of the hippocampus: role of age and stimulus protocol. *European Journal of Neuroscience* *12*, 360–366.
- Kerr, D.S., and Abraham, W.C. (1995). Cooperative interactions among afferents govern the induction of homosynaptic long-term depression in the hippocampus. *Proc Natl Acad Sci U S A* *92*, 11637–11641.

- Kervern, M., Angeli, A., Nicole, O., Léveillé, F., Parent, B., Villette, V., Buisson, A., and Dutar, P. (2012). Selective impairment of some forms of synaptic plasticity by oligomeric amyloid- β peptide in the mouse hippocampus: implication of extrasynaptic NMDA receptors. *J. Alzheimers Dis.* *32*, 183–196.
- Khoury, R., Grysman, N., Gold, J., Patel, K., and Grossberg, G.T. (2018). The role of 5-HT₆-receptor antagonists in Alzheimer's disease: an update. *Expert Opin Investig Drugs* *27*, 523–533.
- Kim, J.J., Foy, M.R., and Thompson, R.F. (1996). Behavioral stress modifies hippocampal plasticity through N-methyl-D-aspartate receptor activation. *PNAS* *93*, 4750–4753.
- Kim, J.J., Koo, J.W., Lee, H.J., and Han, J.-S. (2005). Amygdalar Inactivation Blocks Stress-Induced Impairments in Hippocampal Long-Term Potentiation and Spatial Memory. *J. Neurosci.* *25*, 1532–1539.
- Kim, J.J., Song, E.Y., Kim, J.J., Song, E.Y., and Kosten, T.A. (2006a). Stress effects in the hippocampus: Synaptic plasticity and memory. *Stress* *9*, 1–11.
- Kim, T.-S., Pae, C.-U., Yoon, S.-J., Jang, W.-Y., Lee, N.J., Kim, J.-J., Lee, S.-J., Lee, C., Paik, I.-H., and Lee, C.-U. (2006b). Decreased plasma antioxidants in patients with Alzheimer's disease. *Int J Geriatr Psychiatry* *21*, 344–348.
- Kimura, R., and Ohno, M. (2009). Impairments in remote memory stabilization precede hippocampal synaptic and cognitive failures in 5XFAD Alzheimer mouse model. *Neurobiology of Disease* *33*, 229–235.
- King, M., Marsden, C., and Fone, K. (2008). A role for the 5-HT_{1A}, 5-HT₄ and 5-HT₆ receptors in learning and memory. *Trends in Pharmacological Sciences* *29*, 482–492.
- Klein, A.M., Kowall, N.W., and Ferrante, R.J. (1999). Neurotoxicity and oxidative damage of beta amyloid 1-42 versus beta amyloid 1-40 in the mouse cerebral cortex. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* *893*, 314–320.
- Koch, G., Di Lorenzo, F., Bonni, S., Ponzio, V., Caltagirone, C., and Martorana, A. (2012). Impaired LTP- but not LTD-Like Cortical Plasticity in Alzheimer's Disease Patients. *Journal of Alzheimer's Disease* *31*, 593–599.
- Kollen, M., Stéphan, A., Faivre-Bauman, A., Loudes, C., Sinet, P.-M., Alliot, J., Billard, J.M., Epelbaum, J., Dutar, P., and Jouvenceau, A. (2010). Preserved memory capacities in aged Lou/C/Jall rats. *Neurobiology of Aging* *31*, 129–142.
- Korogod, N., Lou, X., and Schneggenburger, R. (2007). Posttetanic potentiation critically depends on an enhanced Ca²⁺ sensitivity of vesicle fusion mediated by presynaptic PKC. *Proc Natl Acad Sci U S A* *104*, 15923–15928.
- Kramár, E.A., Chen, L.Y., Brandon, N.J., Rex, C.S., Liu, F., Gall, C.M., and Lynch, G. (2009). Cytoskeletal Changes Underlie Estrogen's Acute Effects on Synaptic Transmission and Plasticity. *J. Neurosci.* *29*, 12982–12993.
- Kreitzer, A.C., and Malenka, R.C. (2005). Dopamine Modulation of State-Dependent Endocannabinoid Release and Long-Term Depression in the Striatum. *J. Neurosci.* *25*, 10537–10545.
- Kreitzer, A.C., and Regehr, W.G. (2002). Retrograde signaling by endocannabinoids. *Current Opinion in Neurobiology* *12*, 324–330.
- Kroker, K.S., Rast, G., and Rosenbrock, H. (2011). Differential effects of subtype-specific nicotinic acetylcholine receptor agonists on early and late hippocampal LTP. *European Journal of Pharmacology* *671*, 26–32.
- Kronberg, G., Bridi, M., Abel, T., Bikson, M., and Parra, L.C. (2017). Direct current stimulation modulates LTP and LTD: activity dependence and dendritic effects. *Brain Stimul* *10*, 51–58.

- Kubo, M., Kishi, T., Matsunaga, S., and Iwata, N. (2015). Histamine H3 Receptor Antagonists for Alzheimer's Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Placebo-Controlled Trials. *J. Alzheimers Dis.* *48*, 667–671.
- Kukull, W.A., Higdon, R., Bowen, J.D., McCormick, W.C., Teri, L., Schellenberg, G.D., Belle, G. van, Jolley, L., and Larson, E.B. (2002). Dementia and Alzheimer Disease Incidence: A Prospective Cohort Study. *Arch Neurol* *59*, 1737–1746.
- Kulla, A., and Manahan-Vaughan, D. (2002). Modulation by serotonin 5-HT₄ receptors of long-term potentiation and depotentiation in the dentate gyrus of freely moving rats. *Cerebral Cortex* *12*, 150–162.
- Kumar, A., Bean, L.A., Rani, A., Jackson, T., and Foster, T.C. (2015). Contribution of estrogen receptor subtypes, ER α , ER β , and GPER1 in rapid estradiol-mediated enhancement of hippocampal synaptic transmission in mice. *Hippocampus* *25*, 1556–1566.
- Kuwabara, Y., Ishizeki, M., Watamura, N., Toba, J., Yoshii, A., Inoue, T., and Ohshima, T. (2014). Impairments of long-term depression induction and motor coordination precede A β accumulation in the cerebellum of APP^{swe}/PS1^{dE9} double transgenic mice. *Journal of Neurochemistry* *130*, 432–443.
- Lamirault, L., and Simon, H. (2001). Enhancement of place and object recognition memory in young adult and old rats by RS 67333, a partial agonist of 5-HT₄ receptors. *Neuropharmacology* *41*, 844–853.
- Lamirault, L., Guillou, C., Thal, C., and Simon, H. (2003). Combined treatment with galanthaminium bromide, a new cholinesterase inhibitor, and RS 67333, a partial agonist of 5-HT₄ receptors, enhances place and object recognition in young adult and old rats. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry* *27*, 185–195.
- Lammich, S., Kojro, E., Postina, R., Gilbert, S., Pfeiffer, R., Jasionowski, M., Haass, C., and Fahrenholz, F. (1999). Constitutive and regulated alpha-secretase cleavage of Alzheimer's amyloid precursor protein by a disintegrin metalloprotease. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* *96*, 3922–3927.
- Lang, C., Barco, A., Zablow, L., Kandel, E.R., Siegelbaum, S.A., and Zakharenko, S.S. (2004). Transient expansion of synaptically connected dendritic spines upon induction of hippocampal long-term potentiation. *Proc Natl Acad Sci U S A* *101*, 16665–16670.
- Lecoutey, C., Hedou, D., Freret, T., Giannoni, P., Gaven, F., Since, M., Bouet, V., Ballandonne, C., Corvaisier, S., Malzert Freon, A., et al. (2014). Design of donecopride, a dual serotonin subtype 4 receptor agonist/acetylcholinesterase inhibitor with potential interest for Alzheimer's disease treatment. *Proceedings of the National Academy of Sciences* *111*, E3825–E3830.
- Lee, H.-K., Kameyama, K., Huganir, R.L., and Bear, M.F. (1998). NMDA Induces Long-Term Synaptic Depression and Dephosphorylation of the GluR1 Subunit of AMPA Receptors in Hippocampus. *Neuron* *21*, 1151–1162.
- Lee, H.-K., Barbarosie, M., Kameyama, K., Bear, M.F., and Huganir, R.L. (2000). Regulation of distinct AMPA receptor phosphorylation sites during bidirectional synaptic plasticity. *Nature* *405*, 955–959.
- Lee, H.-K., Min, S.S., Gallagher, M., and Kirkwood, A. (2005). NMDA receptor-independent long-term depression correlates with successful aging in rats. *Nature Neuroscience* *8*, 1657–1659.
- Lee, J.S., Kim, M.-H., Ho, W.-K., and Lee, S.-H. (2008). Presynaptic Release Probability and Readily Releasable Pool Size Are Regulated by Two Independent Mechanisms during Posttetanic Potentiation at the Calyx of Held Synapse. *J. Neurosci.* *28*, 7945–7953.

- Lee, K., Kim, H., An, K., Kwon, O.-B., Park, S., Cha, J.H., Kim, M.-H., Lee, Y., Kim, J.-H., Cho, K., et al. (2016). Replenishment of microRNA-188-5p restores the synaptic and cognitive deficits in 5XFAD Mouse Model of Alzheimer's Disease. *Sci Rep* 6.
- Lelong, V., Dauphin, F., and Boulouard, M. (2001). RS 67333 and D-cycloserine accelerate learning acquisition in the rat. *Neuropharmacology* 41, 517–522.
- Lelong, V., Lhonneur, L., Dauphin, F., and Boulouard, M. (2003). BIMU 1 and RS 67333, two 5-HT₄ receptor agonists, modulate spontaneous alternation deficits induced by scopolamine in the mouse. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology* 367, 621–628.
- Letty, S., Child, R., Dumuis, A., Pantaloni, J., Bockaert, J., and Rondouin, G. (1997). 5-HT₄ Receptors Improve Social Olfactory Memory in the Rat. *Neuropharmacology* 36, 681–687.
- Levallet, G., Hotte, M., Boulouard, M., and Dauphin, F. (2009). Increased particulate phosphodiesterase 4 in the prefrontal cortex supports 5-HT₄ receptor-induced improvement of object recognition memory in the rat. *Psychopharmacology* 202, 125–139.
- Lewis, D.A., Glantz, L.A., Pierri, J.N., and Sweet, R.A. (2003). Altered Cortical Glutamate Neurotransmission in Schizophrenia. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1003, 102–112.
- Lezoualc'h, F., and Robert, S.J. (2003). The serotonin 5-HT₄ receptor and the amyloid precursor protein processing. *Experimental Gerontology* 38, 159–166.
- Lezoualc'h, F., Steplewski, K., Sartiani, L., Mugelli, A., Fischmeister, R., and Bril, A. (2007). Quantitative mRNA analysis of serotonin 5-HT₄ receptor isoforms, calcium handling proteins and ion channels in human atrial fibrillation. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 357, 218–224.
- Li, G., Klein, J., and Zimmermann, M. (2013). Pathophysiological amyloid concentrations induce sustained upregulation of readthrough acetylcholinesterase mediating anti-apoptotic effects. *Neuroscience* 240, 349–360.
- Li, J., Wang, Y., Zhou, R., Wang, B., Zhang, H., Yang, L., and Faraone, S.V. (2006). Association of attention-deficit/hyperactivity disorder with serotonin 4 receptor gene polymorphisms in Han Chinese subjects. *Neuroscience Letters* 401, 6–9.
- Li, Q., Navakkode, S., Rothkegel, M., Soong, T.W., Sajikumar, S., and Korte, M. (2017). Metaplasticity mechanisms restore plasticity and associativity in an animal model of Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 114, 5527–5532.
- Li, S., Hong, S., Shepardson, N.E., Walsh, D.M., Shankar, G.M., and Selkoe, D. (2009). Soluble oligomers of amyloid β -protein facilitate hippocampal long-term depression by disrupting neuronal glutamate uptake. *Neuron* 62, 788–801.
- Li, S., Jin, M., Koeglsperger, T., Shepardson, N., Shankar, G., and Selkoe, D. (2011a). Soluble A β oligomers inhibit long-term potentiation through a mechanism involving excessive activation of extrasynaptic NR2B-containing NMDA receptors. *J Neurosci* 31, 6627–6638.
- Li, X.-M., Li, C.-C., Yu, S.-S., Chen, J.-T., Sabapathy, K., and Ruan, D.-Y. (2007). JNK1 contributes to metabotropic glutamate receptor-dependent long-term depression and short-term synaptic plasticity in the mice area hippocampal CA1. *European Journal of Neuroscience* 25, 391–396.
- Li, Z., Chalazonitis, A., Huang, Y. -y., Mann, J.J., Margolis, K.G., Yang, Q.M., Kim, D.O., Cote, F., Mallet, J., and Gershon, M.D. (2011b). Essential Roles of Enteric Neuronal Serotonin in Gastrointestinal Motility and the Development/Survival of Enteric Dopaminergic Neurons. *Journal of Neuroscience* 31, 8998–9009.
- Licht, C.L., Marcussen, A.B., Wegener, G., Overstreet, D.H., Aznar, S., and Knudsen, G.M. (2009). The brain 5-HT₄ receptor binding is down-regulated in the Flinders Sensitive Line depression model and in response to paroxetine administration. *Journal of Neurochemistry* 109, 1363–1374.

- Lim, M.M., Gerstner, J.R., and Holtzman, D.M. (2014). The sleep–wake cycle and Alzheimer’s disease: what do we know? *Neurodegener Dis Manag* 4, 351–362.
- Linden, D.E. (2007). The Working Memory Networks of the Human Brain. *Neuroscientist* 13, 257–267.
- Linden, D.J., and Connor, J.A. (1995). Long-Term Synaptic Depression. *Annual Review of Neuroscience* 18, 319–357.
- Lisman, J. (1989). A mechanism for the Hebb and the anti-Hebb processes underlying learning and memory. *Proc Natl Acad Sci U S A* 86, 9574–9578.
- Lisman, J., Cooper, K., Sehgal, M., and Silva, A.J. (2018). Memory formation depends on both synapse-specific modifications of synaptic strength and cell-specific increases in excitability. *Nat Neurosci* 21, 309–314.
- Lister, R.G. (1985). The Amnesic Action of Benzodiazepines in Man. *Neurosciences and Behavioral Reviews* 9, 87–948.
- Liu, M., Geddis, M.S., Wen, Y., Setlik, W., and Gershon, M.D. (2005). Expression and function of 5-HT₄ receptors in the mouse enteric nervous system. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology* 289, G1148–G1163.
- Liu, M.-T., Kuan, Y.-H., Wang, J., Hen, R., and Gershon, M.D. (2009). 5-HT₄ Receptor-Mediated Neuroprotection and Neurogenesis in the Enteric Nervous System of Adult Mice. *Journal of Neuroscience* 29, 9683–9699.
- Liu, X., Gu, Q.-H., Duan, K., and Li, Z. (2014). NMDA Receptor-Dependent LTD Is Required for Consolidation But Not Acquisition of Fear Memory. *J. Neurosci.* 34, 8741–8748.
- Lleó, A., Greenberg, S.M., and Growdon, J.H. (2006). Current Pharmacotherapy for Alzheimer’s Disease. *Annual Review of Medicine* 57, 513–533.
- Lo, A.C., De Maeyer, J.H., Vermaercke, B., Callaerts-Vegh, Z., Schuurkes, J.A.J., and D’Hooge, R. (2014). SSP-002392, a new 5-HT₄ receptor agonist, dose-dependently reverses scopolamine-induced learning and memory impairments in C57Bl/6 mice. *Neuropharmacology* 85, 178–189.
- Lou, X., Korogod, N., Brose, N., and Schneggenburger, R. (2008). Phorbol Esters Modulate Spontaneous and Ca²⁺-Evoked Transmitter Release via Acting on Both Munc13 and Protein Kinase C. *J. Neurosci.* 28, 8257–8267.
- Lourida, I., Soni, M., Thompson-Coon, J., Purandare, N., Lang, I.A., Ukoumunne, O.C., and Llewellyn, D.J. (2013). Mediterranean Diet, Cognitive Function, and Dementia: A Systematic Review. *Epidemiology* 24, 479.
- Lucas, G., Rymar, V.V., Du, J., Mnie-Filali, O., Bisgaard, C., Manta, S., Lambas-Senas, L., Wiborg, O., Haddjeri, N., Piñeyro, G., et al. (2007). Serotonin₄ (5-HT₄) Receptor Agonists Are Putative Antidepressants with a Rapid Onset of Action. *Neuron* 55, 712–725.
- Lüscher, C., and Huber, K.M. (2010). Group 1 mGluR-dependent synaptic long-term depression (mGluR-LTD): mechanisms and implications for circuitry & disease. *Neuron* 65, 445–459.
- Madjid, N., Tottie, E.E., Lüttgen, M., Meister, B., Sandin, J., Kuzmin, A., Stiedl, O., and Ögren, S.O. (2006). 5-Hydroxytryptamine 1A Receptor Blockade Facilitates Aversive Learning in Mice: Interactions with Cholinergic and Glutamatergic Mechanisms. *J Pharmacol Exp Ther* 316, 581–591.
- Madsen, K., Neumann, W.-J., Holst, K., Marner, L., Haahr, M.T., Lehel, S., Knudsen, G.M., and Hasselbalch, S.G. (2011). Cerebral serotonin 4 receptors and amyloid- β in early Alzheimer’s disease. *J. Alzheimers Dis.* 26, 457–466.
- Maguire, E.A., Kumaran, D., Hassabis, D., and Kopelman, M.D. (2010). Autobiographical memory in semantic dementia: A longitudinal fMRI study. *Neuropsychologia* 48, 123–136.

- Maillet, M., Robert, S.J., Cacquevel, M., Gastineau, M., Vivien, D., Bertoglio, J., Zugaza, J.L., Fischmeister, R., and Lezoualc'h, F. (2003). Crosstalk between Rap1 and Rac regulates secretion of sAPP α . *Nat. Cell Biol.* *5*, 633–639.
- Malenka, R.C., and Bear, M.F. (2004). LTP and LTD: an embarrassment of riches. *Neuron* *44*, 5–21.
- Malenka, R.C., and Nicoll, R.A. (1997). Silent Synapses Speak Up. *Neuron* *19*, 473–476.
- Manahan-Vaughan, D. (2000). Long-term Depression in Freely Moving Rats is Dependent upon Strain Variation, Induction Protocol and Behavioral State. *Cereb Cortex* *10*, 482–487.
- Manahan-Vaughan, D., and Braunewell, K.-H. (1999). Novelty acquisition is associated with induction of hippocampal long-term depression. *PNAS* *96*, 8739–8744.
- Manahan-Vaughan, D., and Braunewell, K.-H. (2005). The Metabotropic Glutamate Receptor, mGluR5, is a Key Determinant of Good and Bad Spatial Learning Performance and Hippocampal Synaptic Plasticity. *Cereb Cortex* *15*, 1703–1713.
- Manuel-Apolinar, L., Rocha, L., Pascoe, D., Castillo, E., Castillo, C., and Meneses, A. (2005). Modifications of 5-HT₄ receptor expression in rat brain during memory consolidation. *Brain Research* *1042*, 73–81.
- Marazziti, D., Baroni, S., Pirone, A., Giannaccini, G., Betti, L., Schmid, L., Vatteroni, E., Palego, L., Borsini, F., Bordi, F., et al. (2012). Distribution of Serotonin Receptor of Type 6 (5-HT₆) in Human Brain Post-mortem. A Pharmacology, Autoradiography and Immunohistochemistry Study. *Neurochemical Research* *37*, 920–927.
- Marchetti, E., Dumuis, A., Bockaert, J., Soumireu-Mourat, B., and Roman, F.S. (2000). Differential modulation of the 5-HT₄ receptor agonists and antagonist on rat learning and memory. *Neuropharmacology* *39*, 2017–2027.
- Marchetti, E., Chaillan, F.A., Dumuis, A., Bockaert, J., Soumireu-Mourat, B., and Roman, F.S. (2004). Modulation of memory processes and cellular excitability in the dentate gyrus of freely moving rats by a 5-HT₄ receptors partial agonist, and an antagonist. *Neuropharmacology* *47*, 1021–1035.
- Marchetti, E., Jacquet, M., Escoffier, G., Miglioratti, M., Dumuis, A., Bockaert, J., and Roman, F.S. (2011). Enhancement of reference memory in aged rats by specific activation of 5-HT₄ receptors using an olfactory associative discrimination task. *Brain Research* *1405*, 49–56.
- Marchetti-Gauthier, E., Roman, F.S., Dumuis, A., Bockaert, J., and Soumireu-Mourat, B. (1997). BIMU1 increases associative memory in rats by activating 5-HT₄ receptors. *Neuropharmacology* *36*, 697–706.
- Marner, L., Gillings, N., Madsen, K., Erritzoe, D., Baaré, W.F.C., Svarer, C., Hasselbalch, S.G., and Knudsen, G.M. (2010). Brain imaging of serotonin 4 receptors in humans with [¹¹C]SB207145-PET. *NeuroImage* *50*, 855–861.
- Martin, L.J., Zurek, A.A., MacDonald, J.F., Roder, J.C., Jackson, M.F., and Orser, B.A. (2010). 5GABAA Receptor Activity Sets the Threshold for Long-Term Potentiation and Constrains Hippocampus-Dependent Memory. *Journal of Neuroscience* *30*, 5269–5282.
- Martin, S.J., Grimwood, P.D., and Morris, R.G.M. (2000). Synaptic Plasticity and Memory: An Evaluation of the Hypothesis. *Annual Review of Neuroscience* *23*, 649–711.
- Masters, C.L., Bateman, R., Blennow, K., Rowe, C.C., Sperling, R.A., and Cummings, J.L. (2015). Alzheimer's disease. *Nature Reviews Disease Primers* *1*, 15056.
- Matsumoto, M., Togashi, H., Mori, K., Ueno, K., Ohashi, S., Kojima, T., and Yoshioka, M. (2001). Evidence for involvement of central 5-HT₄ receptors in cholinergic function associated with

- cognitive processes: behavioral, electrophysiological, and neurochemical studies. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 296, 676–682.
- Matsuzaki, M., Ellis-Davies, G.C.R., Nemoto, T., Miyashita, Y., Iino, M., and Kasai, H. (2001). Dendritic spine geometry is critical for AMPA receptor expression in hippocampal CA1 pyramidal neurons. *Nat Neurosci* 4, 1086–1092.
- Matthews, K.L., Chen, C.P.L.-H., Esiri, M.M., Keene, J., Minger, S.L., and Francis, P.T. (2002). Noradrenergic changes, aggressive behavior, and cognition in patients with dementia. *Biological Psychiatry* 51, 407–416.
- Mawuenyega, K.G., Sigurdson, W., Ovod, V., Munsell, L., Kasten, T., Morris, J.C., Yarasheski, K.E., and Bateman, R.J. (2010). Decreased clearance of CNS beta-amyloid in Alzheimer's disease. *Science* 330, 1774.
- Mayer, M.L., Westbrook, G.L., and Guthrie, P.B. (1984). Voltage-dependent block by Mg²⁺ of NMDA responses in spinal cord neurones. *Nature* 261–263.
- Mayford, M., Wang, J., Kandel, E.R., and O'Dell, T.J. (1995). CaMKII regulates the frequency-response function of hippocampal synapses for the production of both LTD and LTP. *Cell* 81, 891–904.
- McGaugh, J.L. (2004). The amygdala modulates the consolidation of memories of emotionally arousing experiences. *Annual Review of Neuroscience* 27, 1–28.
- McKinney, M., Coyle, J.T., and Hedreen, J.C. (1983). Topographic analysis of the innervation of the rat neocortex and hippocampus by the basal forebrain cholinergic system. *Journal of Comparative Neurology* 217, 103–121.
- Meltzer, H., and Huang, M. (2008). In vivo actions of atypical antipsychotic drug on serotonergic and dopaminergic systems. In *Progress in Brain Research*, (Elsevier), pp. 177–197.
- Meneses, A. (2015). Serotonin, neural markers, and memory. *Frontiers in Pharmacology* 6.
- Meneses, A. (2017). Neural activity, memory, and dementias: serotonergic markers. *Behavioural Pharmacology* 28, 132–141.
- Meneses, A., and Hong, E. (1997). Effects of 5-HT₄ Receptor Agonists and Antagonists in Learning. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 56, 347–351.
- Meng, X.-F., Yu, J.-T., Wang, H.-F., Tan, M.-S., Wang, C., Tan, C.-C., and Tan, L. (2014). Midlife vascular risk factors and the risk of Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis. *J. Alzheimers Dis.* 42, 1295–1310.
- Mesches, M.H., Fleshner, M., Heman, K.L., Rose, G.M., and Diamond, D.M. (1999). Exposing Rats to a Predator Blocks Primed Burst Potentiation in the Hippocampus In Vitro. *J. Neurosci.* 19, RC18–RC18.
- Meunier, J., and Shavloff, A. (1992). *Neurotransmetteurs* (Paris Edition).
- Mialet, J., Fischmeister, R., and Lezoualc'h, F. (2003). Characterization of human 5-HT₄(d) receptor desensitization in CHO cells. *British Journal of Pharmacology* 138, 445–452.
- Micheau, J., and Marighetto, A. (2011). Acetylcholine and memory: A long, complex and chaotic but still living relationship. *Behavioural Brain Research* 221, 424–429.
- Milnerwood, A.J., Cummings, D.M., Dallérac, G.M., Brown, J.Y., Vatsavayai, S.C., Hirst, M.C., Rezaie, P., and Murphy, K.P.S.J. (2006). Early development of aberrant synaptic plasticity in a mouse model of Huntington's disease. *Hum Mol Genet* 15, 1690–1703.

- Milnerwood, A.J., Parsons, M.P., Young, F.B., Singaraja, R.R., Franciosi, S., Volta, M., Bergeron, S., Hayden, M.R., and Raymond, L.A. (2013). Memory and synaptic deficits in Hip14/DHHC17 knockout mice. *PNAS* *110*, 20296–20301.
- Minichiello, L., Korte, M., Wolfner, D., Kühn, R., Unsicker, K., Cestari, V., Rossi-Arnaud, C., Lipp, H.-P., Bonhoeffer, T., and Klein, R. (1999). Essential Role for TrkB Receptors in Hippocampus-Mediated Learning. *Neuron* *24*, 401–414.
- Misane, I., and Ögren, S.O. (2003). Selective 5-HT_{1A} Antagonists WAY 100635 and NAD-299 Attenuate the Impairment of Passive Avoidance Caused by Scopolamine in the Rat. *Neuropsychopharmacology* *28*, 253–264.
- Mishizen-Eberz, A.J., Rissman, R.A., Carter, T.L., Ikonovic, M.D., Wolfe, B.B., and Armstrong, D.M. (2004). Biochemical and molecular studies of NMDA receptor subunits NR1/2A/2B in hippocampal subregions throughout progression of Alzheimer's disease pathology. *Neurobiology of Disease* *15*, 80–92.
- Mitchell, A.J., and Shiri-Feshki, M. (2009). Rate of progression of mild cognitive impairment to dementia – meta-analysis of 41 robust inception cohort studies. *Acta Psychiatrica Scandinavica* *119*, 252–265.
- Mitchell, E.A., Herd, M.B., Gunn, B.G., Lambert, J.J., and Belelli, D. (2008). Neurosteroid modulation of GABAA receptors: Molecular determinants and significance in health and disease. *Neurochemistry International* *52*, 588–595.
- Mlinar, B., Mascalchi, S., Mannaioni, G., Morini, R., and Corradetti, R. (2006). 5-HT₄ receptor activation induces long-lasting EPSP-spike potentiation in CA1 pyramidal neurons: 5-HT₄ receptor-induced EPSP-spike potentiation. *European Journal of Neuroscience* *24*, 719–731.
- Mnie-Filali, O., Amraei, M.G., Benmbarek, S., Archer-Lahlou, E., Peñas-Cazorla, R., Vilaró, M.T., Boye, S.M., and Piñeyro, G. (2010). Serotonin 4 receptor (5-HT_{4R}) internalization is isoform-specific: Effects of 5-HT and RS67333 on isoforms A and B. *Cellular Signalling* *22*, 501–509.
- Mochida, S., Few, A.P., Scheuer, T., and Catterall, W.A. (2008). Regulation of Presynaptic CaV2.1 Channels by Ca²⁺ Sensor Proteins Mediates Short-Term Synaptic Plasticity. *Neuron* *57*, 210–216.
- Mohler, E.G., Shacham, S., Noiman, S., Lezoualc'h, F., Robert, S., Gastineau, M., Rutkowski, J., Marantz, Y., Dumuis, A., Bockaert, J., et al. (2007). VRX-03011, a novel 5-HT₄ agonist, enhances memory and hippocampal acetylcholine efflux. *Neuropharmacology* *53*, 563–573.
- Moldakarimov, S., Bazhenov, M., and Sejnowski, T.J. (2010). Perceptual priming leads to reduction of gamma frequency oscillations. *Proceedings of the National Academy of Sciences* *107*, 5640–5645.
- Molineaux, S.M., Jessell, T.M., Axel, R., and Julius, D. (1989). 5-HT_{1c} receptor is a prominent serotonin receptor subtype in the central nervous system. *Proceedings of the National Academy of Sciences* *86*, 6793–6797.
- Monaghan, D.T., and Cotman, C.W. (1986). Identification and properties of N-methyl-D-aspartate receptors in rat brain synaptic plasma membranes. *Proceedings of the National Academy of Sciences* *83*, 7532–7536.
- Moore, C.I., Browning, M.D., and Rose, G.M. (1993). Hippocampal plasticity induced by primed burst, but not long-term potentiation, stimulation is impaired in area CA1 of aged fischer 344 rats. *Hippocampus* *3*, 57–66.
- Morice, E., Billard, J.-M., Denis, C., Mathieu, F., Betancur, C., Epelbaum, J., Giros, B., and Nosten-Bertrand, M. (2007). Parallel loss of hippocampal LTD and cognitive flexibility in a genetic model of hyperdopaminergia. *Neuropsychopharmacology* *32*, 2108–2116.
- Morishita, W., Connor, J.H., Xia, H., Quinlan, E.M., Shenolikar, S., and Malenka, R.C. (2001). Regulation of Synaptic Strength by Protein Phosphatase 1. *Neuron* *32*, 1133–1148.

- Morley, J.E., and Farr, S.A. (2012). Hormesis and amyloid- β protein: physiology or pathology? *J. Alzheimers Dis.* 29, 487–492.
- Morley, J.E., and Farr, S.A. (2014). The role of amyloid-beta in the regulation of memory. *Biochemical Pharmacology* 88, 479–485.
- Moroni, F., Ammirati, E., Rocca, M.A., Filippi, M., Magnoni, M., and Camici, P.G. (2018). Cardiovascular disease and brain health: Focus on white matter hyperintensities. *Int J Cardiol Heart Vasc* 19, 63–69.
- Morris, R.G.M., Anderson, E., Lynch, G.S., and Baudry, M. (1986). Selective impairment of learning and blockade of long-term potentiation by an N-methyl-D-aspartate receptor antagonist, AP5. *Nature* 319, 774–776.
- Morrison, J.H., and Baxter, M.G. (2012). The Aging Cortical Synapse: Hallmarks and Implications for Cognitive Decline. *Nat Rev Neurosci* 13, 240–250.
- Mosconi, L. (2005). Brain glucose metabolism in the early and specific diagnosis of Alzheimer's disease. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 32, 486–510.
- Moscovitch, D.A., and McAndrews, M.P. (2002). Material-specific deficits in “remembering” in patients with unilateral temporal lobe epilepsy and excisions. *Neuropsychologia* 40, 1335–1342.
- Moser, P.C. (2002). SL65.0155, A Novel 5-Hydroxytryptamine₄ Receptor Partial Agonist with Potent Cognition-Enhancing Properties. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 302, 731–741.
- Mott, D.D., and Lewis, D.V. (1991). Facilitation of the induction of long-term potentiation by GABAB receptors. *Science* 252, 1718–1720.
- Mott, D.D., and Lewis, D.V. (1992). GABAB receptors mediate disinhibition and facilitate long-term potentiation in the dentate gyrus. *Epilepsy Res. Suppl.* 7, 119–134.
- Mufson, E.J., Counts, S.E., Fahnstock, M., and Ginsberg, S.D. (2007). Cholinergic molecular substrates of mild cognitive impairment in the elderly. *Curr Alzheimer Res* 4, 340–350.
- Mukai, H., Tsurugizawa, T., Murakami, G., Kominami, S., Ishii, H., Ogiue-Ikeda, M., Takata, N., Tanabe, N., Furukawa, A., Hojo, Y., et al. (2007). Rapid modulation of long-term depression and spinogenesis via synaptic estrogen receptors in hippocampal principal neurons. *Journal of Neurochemistry* 100, 950–967.
- Müller, W.E., Romero, F.J., Perovic, S., Pergande, G., and Pialoglou, P. (1997). Protection of flupirtine on beta-amyloid-induced apoptosis in neuronal cells in vitro: prevention of amyloid-induced glutathione depletion. *J. Neurochem.* 68, 2371–2377.
- Muñoz, M.D., Antolín-Vallespín, M., Tapia-González, S., and Sánchez-Capelo, A. (2016). Smad3 deficiency inhibits dentate gyrus LTP by enhancing GABA_A neurotransmission. *Journal of Neurochemistry* 137, 190–199.
- Murakami, G., Hojo, Y., Ogiue-Ikeda, M., Mukai, H., Chambon, P., Nakajima, K., Oishi, Y., Kimoto, T., and Kawato, S. (2015). Estrogen receptor KO mice study on rapid modulation of spines and long-term depression in the hippocampus. *Brain Research* 1621, 133–146.
- Murphy, K.P.S.J., Carter, R.J., Lione, L.A., Mangiarini, L., Mahal, A., Bates, G.P., Dunnett, S.B., and Morton, A.J. (2000). Abnormal Synaptic Plasticity and Impaired Spatial Cognition in Mice Transgenic for Exon 1 of the Human Huntington's Disease Mutation. *J. Neurosci.* 20, 5115–5123.
- Nabavi, S., Fox, R., Proulx, C.D., Lin, J.Y., Tsien, R.Y., and Malinow, R. (2014). Engineering a memory with LTD and LTP. *Nature* 511, 348–352.
- Nadel, L., and Moscovitch, M. (1997). Memory consolidation, retrograde amnesia and the hippocampal complex. *Current Opinion in Neurobiology* 7, 217–227.

- Nägerl, U.V., Eberhorn, N., Cambridge, S.B., and Bonhoeffer, T. (2004). Bidirectional Activity-Dependent Morphological Plasticity in Hippocampal Neurons. *Neuron* *44*, 759–767.
- Nasehi, M., Tabatabaie, M., Khakpai, F., and Zarrindast, M.-R. (2015). The effects of CA1 5HT4 receptors in MK801-induced amnesia and hyperlocomotion. *Neuroscience Letters* *587*, 73–78.
- Nasehi, M., Davoudi, K., Ebrahimi-Ghiri, M., and Zarrindast, M.-R. (2016). Interplay between serotonin and cannabinoid function in the amygdala in fear conditioning. *Brain Research* *1636*, 142–151.
- Nasehi, M., Rostam-Nezhad, E., Ebrahimi-Ghiri, M., and Zarrindast, M.-R. (2017). Interaction between hippocampal serotonin and cannabinoid systems in reactivity to spatial and object novelty detection. *Behavioural Brain Research* *317*, 272–278.
- Nathan, T., and Lambert, J.D. (1991). Depression of the fast IPSP underlies paired-pulse facilitation in area CA1 of the rat hippocampus. *Journal of Neurophysiology* *66*, 1704–1715.
- Navakkode, S., Chew, K.C.M., Tay, S.J.N., Lin, Q., Behnisch, T., and Soong, T.W. (2017). Bidirectional modulation of hippocampal synaptic plasticity by Dopaminergic D4-receptors in the CA1 area of hippocampus. *Sci Rep* *7*.
- Neher, E., and Sakaba, T. (2008). Multiple Roles of Calcium Ions in the Regulation of Neurotransmitter Release. *Neuron* *59*, 861–872.
- Nikiforuk, A. (2014). The procognitive effects of 5-HT6 receptor ligands in animal models of schizophrenia. *Rev Neurosci* *25*, 367–382.
- Nishizawa, S., Benkelfat, C., Young, S.N., Leyton, M., Mzengeza, S., de Montigny, C., Blier, P., and Diksic, M. (1997). Differences between males and females in rates of serotonin synthesis in human brain. *Proceedings of the National Academy of Sciences* *94*, 5308–5313.
- Nisticò, R., Mango, D., Mandolesi, G., Piccinin, S., Berretta, N., Pignatelli, M., Feligioni, M., Musella, A., Gentile, A., Mori, F., et al. (2013). Inflammation Subverts Hippocampal Synaptic Plasticity in Experimental Multiple Sclerosis. *PLoS One* *8*.
- Niu, J., Vaiskunaite, R., Suzuki, N., Kozasa, T., Carr, D.W., Dulin, N., and Voyno-Yasenetskaya, T.A. (2001). Interaction of heterotrimeric G13 protein with an A-kinase-anchoring protein 110 (AKAP110) mediates cAMP-independent PKA activation. *Current Biology* *11*, 1686–1690.
- Nordberg, A. (1992). Neuroreceptor changes in Alzheimer disease. *Cerebrovasc Brain Metab Rev* *4*, 303–328.
- Norris, C.M., Halpain, S., and Foster, T.C. (1998). Reversal of Age-Related Alterations in Synaptic Plasticity by Blockade of L-Type Ca²⁺ Channels. *J. Neurosci.* *18*, 3171–3179.
- Nouhi, M., Zhang, X., Yao, N., and Chergui, K. (2017). CIQ, a positive allosteric modulator of GluN2C/D-containing N-methyl-d-aspartate receptors, rescues striatal synaptic plasticity deficit in a mouse model of Parkinson's disease. *CNS Neuroscience & Therapeutics* *24*, 144–153.
- Nourhashémi, F. (2006). Actualités et perspectives thérapeutiques de la maladie d'Alzheimer. *La Revue de Médecine Interne* *27*, 585–587.
- Nusser, Z., Lujan, R., Laube, G., Roberts, J.D.B., Molnar, E., and Somogyi, P. (1998). Cell Type and Pathway Dependence of Synaptic AMPA Receptor Number and Variability in the Hippocampus. *Neuron* *21*, 545–559.
- Oakley, H., Cole, S.L., Logan, S., Maus, E., Shao, P., Craft, J., Guillozet-Bongaarts, A., Ohno, M., Disterhoft, J., Van Eldik, L., et al. (2006). Intraneuronal beta-amyloid aggregates, neurodegeneration, and neuron loss in transgenic mice with five familial Alzheimer's disease mutations: potential factors in amyloid plaque formation. *J. Neurosci.* *26*, 10129–10140.

- Oberlander, J.G., and Woolley, C.S. (2016). 17β -Estradiol Acutely Potentiates Glutamatergic Synaptic Transmission in the Hippocampus through Distinct Mechanisms in Males and Females. *J. Neurosci.* *36*, 2677–2690.
- Obregon, D., Hou, H., Deng, J., Giunta, B., Tian, J., Darlington, D., Shahaduzzaman, M., Zhu, Y., Mori, T., Mattson, M.P., et al. (2012). Soluble amyloid precursor protein- α modulates β -secretase activity and amyloid- β generation. *Nat Commun* *3*, 777.
- Ohno, M., and Watanabe, S. (1996). Blockade of 5-HT_{1A} receptors compensates loss of hippocampal cholinergic neurotransmission involved in working memory of rats. *Brain Research* *9*.
- Okamoto, K.-I., Nagai, T., Miyawaki, A., and Hayashi, Y. (2004). Rapid and persistent modulation of actin dynamics regulates post-synaptic reorganization underlying bidirectional plasticity. *Nature Neuroscience* *7*, 1104–1112.
- O'Keefe, J., and Dostrovsky, J. (1971). The hippocampus as a spatial map. Preliminary evidence from unit activity in the freely-moving rat. *Brain Research* *34*, 171–175.
- Okubo-Suzuki, R., Saitoh, Y., Shehata, M., Zhao, Q., Enomoto, H., and Inokuchi, K. (2016). Frequency-specific stimulations induce reconsolidation of long-term potentiation in freely moving rats. *Mol Brain* *9*.
- Oliet, S.H.R., Malenka, R.C., and Nicoll, R.A. (1997). Two Distinct Forms of Long-Term Depression Coexist in CA1 Hippocampal Pyramidal Cells. *Neuron* *18*, 969–982.
- O'Mara, S.M., Rowan, M.J., and Anwyl, R. (1995). Metabotropic glutamate receptor-induced homosynaptic long-term depression and depotentiation in the dentate gyrus of the rat hippocampus in vitro. *Neuropharmacology* *34*, 983–989.
- Ondrejcek, T., Wang, Q., Kew, J.N.C., Virley, D.J., Upton, N., Anwyl, R., and Rowan, M.J. (2012). Activation of $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptors persistently enhances hippocampal synaptic transmission and prevents A β -mediated inhibition of LTP in the rat hippocampus. *European Journal of Pharmacology* *677*, 63–70.
- Ooishi, Y., Kawato, S., Hojo, Y., Hatanaka, Y., Higo, S., Murakami, G., Komatsuzaki, Y., Ogiue-Ikeda, M., Kimoto, T., and Mukai, H. (2012). Modulation of synaptic plasticity in the hippocampus by hippocampus-derived estrogen and androgen. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* *131*, 37–51.
- Orozco, I.J., Koppensteiner, P., Ninan, I., and Arancio, O. (2014). The schizophrenia susceptibility gene DTNBP1 modulates AMPAR synaptic transmission and plasticity in the hippocampus of juvenile DBA/2J mice. *Molecular and Cellular Neuroscience* *58*, 76–84.
- Overstreet, L.S., Pasternak, J.F., Colley, P.A., Slater, N.T., and Trommer, B.L. (1997). Metabotropic Glutamate Receptor Mediated Long-term Depression in Developing Hippocampus. *Neuropharmacology* *36*, 831–844.
- Owens, M. (2004). Selectivity of Antidepressants: From the Monoamine Hypothesis of Depression to the SSRI Revolution and Beyond. *Journal of Clinical Psychiatry* *65*, 5–10.
- Padamsey, Z., and Emptage, N. (2014). Two sides to long-term potentiation: a view towards reconciliation. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* *369*.
- Pan, B., Wang, W., Zhong, P., Blankman, J.L., Cravatt, B.F., and Liu, Q. (2011). Alterations of Endocannabinoid Signaling, Synaptic Plasticity, Learning, and Memory in Monoacylglycerol Lipase Knock-out Mice. *J. Neurosci.* *31*, 13420–13430.
- Parikh, V., Bernard, C.S., Naughton, S.X., and Yegla, B. (2014). Interactions between A β oligomers and presynaptic cholinergic signaling: age-dependent effects on attentional capacities. *Behav. Brain Res.* *274*, 30–42.

- Park, H., and Poo, M. (2013). Neurotrophin regulation of neural circuit development and function. *Nature Reviews Neuroscience* *14*, 7–23.
- Park, R., Kook, S.-Y., Park, J.-C., and Mook-Jung, I. (2014). A β 1-42 reduces P-glycoprotein in the blood-brain barrier through RAGE-NF- κ B signaling. *Cell Death Dis* *5*, e1299.
- Parker, R.M., Barnes, J.M., Ge, J., Barber, P.C., and Barnes, N.M. (1996). Autoradiographic distribution of [3 H]-(*S*)-zacopride-labelled 5-HT $_3$ receptors in human brain. *Journal of the Neurological Sciences* *144*, 119–127.
- Pascual-Brazo, J., Castro, E., Díaz, Á., Valdizán, E.M., Pilar-Cuéllar, F., Vidal, R., Treceño, B., and Pazos, Á. (2012). Modulation of neuroplasticity pathways and antidepressant-like behavioural responses following the short-term (3 and 7 days) administration of the 5-HT $_4$ receptor agonist RS67333. *The International Journal of Neuropsychopharmacology* *15*, 631–643.
- Pasqualetti, M., Ori, M., Nardi, I., Castagna, M., Cassano, G.B., and Marazziti, D. (1998). Distribution of the 5-HT $_5A$ serotonin receptor mRNA in the human brain. *Molecular Brain Research* *56*, 1–8.
- Patel, S., Grizzell, J.A., Holmes, R., Zeitlin, R., Solomon, R., Sutton, T.L., Rohani, A., Charry, L.C., Iarkov, A., Mori, T., et al. (2014). Cotinine halts the advance of Alzheimer's disease-like pathology and associated depressive-like behavior in Tg6799 mice. *Front Aging Neurosci* *6*, 162.
- Paz, R.D., Tardito, S., Atzori, M., and Tseng, K.Y. (2008). Glutamatergic dysfunction in schizophrenia: From basic neuroscience to clinical psychopharmacology. *European Neuropsychopharmacology* *18*, 773–786.
- Peñas-Cazorla, R., and Vilaró, M.T. (2015). Serotonin 5-HT $_4$ receptors and forebrain cholinergic system: receptor expression in identified cell populations. *Brain Structure and Function* *220*, 3413–3434.
- Pendolino, V., Bagetta, V., Ghiglieri, V., Sgobio, C., Morelli, E., Poggini, S., Branchi, I., Latagliata, E.C., Pascucci, T., Puglisi-Allegra, S., et al. (2014). 1-DOPA reverses the impairment of Dentate Gyrus LTD in experimental parkinsonism via β -adrenergic receptors. *Experimental Neurology* *261*, 377–385.
- Peng, Y., Zhao, J., Gu, Q.-H., Chen, R.-Q., Xu, Z., Yan, J.-Z., Wang, S.-H., Liu, S.-Y., Chen, Z., and Lu, W. (2010). Distinct trafficking and expression mechanisms underlie LTP and LTD of NMDA receptor-mediated synaptic responses. *Hippocampus* *20*, 646–658.
- Penny, C.J., and Gold, M.G. (2018). Mechanisms for localising calcineurin and CaMKII in dendritic spines. *Cellular Signalling* *49*, 46–58.
- Perez-García, G., and Meneses, A. (2008). Memory formation, amnesia, improved memory and reversed amnesia: 5-HT role. *Behavioural Brain Research* *195*, 17–29.
- Perez-García, G.S., and Meneses, A. (2005). Effects of the potential 5-HT $_7$ receptor agonist AS 19 in an autoshaping learning task. *Behavioural Brain Research* *163*, 136–140.
- Perry, E., Perry, R., Blessed, G., and Tomlinson, B. (1977). Necropsy evidence of central cholinergic deficits in senile dementia. *The Lancet* *309*, 189.
- Pettorossi, V.E., Mauro, M.D., Scarduzio, M., Panichi, R., Tozzi, A., Calabresi, P., and Grassi, S. (2013). Modulatory role of androgenic and estrogenic neurosteroids in determining the direction of synaptic plasticity in the CA1 hippocampal region of male rats. *Physiological Reports* *1*, e00185.
- Picciotto, M.R., and Zoli, M. (2002). Nicotinic receptors in aging and dementia. *Journal of Neurobiology* *53*, 641–655.

- Picot, M., Billard, J.-M., Dombret, C., Albac, C., Karamah, N., Daumas, S., Hardin-Pouzet, H., and Mhaouty-Kodja, S. (2016). Neural Androgen Receptor Deletion Impairs the Temporal Processing of Objects and Hippocampal CA1-Dependent Mechanisms. *PLoS One* *11*.
- Pimenova, A.A., Thathiah, A., De Strooper, B., and Tesseur, I. (2014). Regulation of Amyloid Precursor Protein Processing by Serotonin Signaling. *PLoS One* *9*.
- Pinar, C., Fontaine, C.J., Triviño-Paredes, J., Lottenberg, C.P., Gil-Mohapel, J., and Christie, B.R. (2017). Revisiting the flip side: Long-term depression of synaptic efficacy in the hippocampus. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* *80*, 394–413.
- Pindon, A., Van Hecke, G., Lesage, A.S., Van Gompel, P., Leysen, J.E., and Jurzak, M. (2002). Differences in Signal Transduction of Two 5-HT₄ Receptor Splice Variants: Compound Specificity and Dual Coupling with Gas- and Gai/o-Proteins. *Molecular Pharmacology* *61*, 85–96.
- Pollard, M., Varin, C., Hrupka, B., Pemberton, D.J., Steckler, T., and Shaban, H. (2012). Synaptic transmission changes in fear memory circuits underlie key features of an animal model of schizophrenia. *Behavioural Brain Research* *227*, 184–193.
- Ponimaskin, E.G., Profirovic, J., Vaiskunaite, R., Richter, D.W., and Voyno-Yasenetskaya, T.A. (2002). 5-Hydroxytryptamine 4(a) Receptor Is Coupled to the G α Subunit of Heterotrimeric G₁₃ Protein. *Journal of Biological Chemistry* *277*, 20812–20819.
- Potier, B., Jouvenceau, A., Epelbaum, J., and Dutar, P. (2006). Age-related alterations of GABAergic input to CA1 Pyramidal neurons and its control by nicotinic acetylcholine receptors in rat hippocampus. *Neuroscience* *142*, 187–201.
- Prange-Kiel, J., Wehrenberg, U., Jarry, H., and Rune, G.M. Para/autocrine regulation of estrogen receptors in hippocampal neurons. *Hippocampus* *13*, 226–234.
- Pratt, G.D., Bowery, N.G., Kilpatrick, G.J., Leslie, R.A., Barnes, N.M., Naylor, R.J., Jones, B.J., Nelson, D.R., Palacios, J.M., Slater, P., et al. (1990). Consensus meeting agrees distribution of 5-HT₃ receptors in mammalian hindbrain. *Trends in Pharmacological Sciences* *11*, 135–137.
- Puig, M.V., Rose, J., Schmidt, R., and Freund, N. (2014). Dopamine modulation of learning and memory in the prefrontal cortex: insights from studies in primates, rodents, and birds. *Frontiers in Neural Circuits* *8*.
- Puzzo, D., Privitera, L., Leznik, E., Fa, M., Staniszewski, A., Palmeri, A., and Arancio, O. (2008). Picomolar Amyloid- Positively Modulates Synaptic Plasticity and Memory in Hippocampus. *Journal of Neuroscience* *28*, 14537–14545.
- Puzzo, D., Privitera, L., Fa, M., Staniszewski, A., Hashimoto, G., Aziz, F., Sakurai, M., Ribe, E.M., Troy, C.M., Mercken, M., et al. (2011). Endogenous amyloid- β is necessary for hippocampal synaptic plasticity and memory. *Annals of Neurology* *69*, 819–830.
- Qian, H., Matt, L., Zhang, M., Nguyen, M., Patriarchi, T., Koval, O.M., Anderson, M.E., He, K., Lee, H.-K., and Hell, J.W. (2012). β 2-Adrenergic receptor supports prolonged theta tetanus-induced LTP. *J Neurophysiol* *107*, 2703–2712.
- Quiedeville, A., Boulouard, M., Hamidouche, K., Da Silva Costa-Aze, V., Nee, G., Rochais, C., Dallemagne, P., Fabis, F., Freret, T., and Bouet, V. (2015). Chronic activation of 5-HT₄ receptors or blockade of 5-HT₆ receptors improve memory performances. *Behavioural Brain Research* *293*, 10–17.
- Raha, S., Lee, H.J., Yumnam, S., Hong, G.E., Venkatarama Gowda Saralamma, V., Ha, Y.L., Kim, J.O., Kim, Y.S., Heo, J.D., Lee, S.J., et al. (2016). Vitamin D₂ suppresses amyloid- β 25–35 induced microglial activation in BV2 cells by blocking the NF- κ B inflammatory signaling pathway. *Life Sci* *161*, 37–44.

- Rammes, G., Hasenjäger, A., Sroka-Saidi, K., Deussing, J.M., and Parsons, C.G. (2011). Therapeutic significance of NR2B-containing NMDA receptors and mGluR5 metabotropic glutamate receptors in mediating the synaptotoxic effects of β -amyloid oligomers on long-term potentiation (LTP) in murine hippocampal slices. *Neuropharmacology* *60*, 982–990.
- Ranck, J.B. (1973). Studies on single neurons in dorsal hippocampal formation and septum in unrestrained rats. I. Behavioral correlates and firing repertoires. *Exp. Neurol.* *41*, 461–531.
- Rapport, M.M., Green, A.A., and Page, A.G. (1948). Crystalline serotonin. *Science* *108*, 329–330.
- Reese, L.C., Laezza, F., Woltjer, R., and Tagliatela, G. (2011). Dysregulated phosphorylation of Ca(2+)/calmodulin-dependent protein kinase II- α in the hippocampus of subjects with mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *J. Neurochem.* *119*, 791–804.
- Regehr, W.G., Delaney, K.R., and Tank, D.W. (1994). The role of presynaptic calcium in short-term enhancement at the hippocampal mossy fiber synapse. *J. Neurosci.* *14*, 523–537.
- Reis, H.J., Guatimosim, C., Paquet, M., Santos, M., Ribeiro, F.M., Kummer, A., Schenatto, G., Salgado, J.V., Vieira, L.B., Teixeira, A.L., et al. (2009). Neuro-transmitters in the central nervous system & their implication in learning and memory processes. *Current Medicinal Chemistry* *16*, 796–840.
- Restivo, L., Roman, F.S., Dumuis, A., Bockaert, J., Marchetti, E., and Ammassari-Teule, M. (2008). The promnesic effect of G-protein-coupled 5-HT₄ receptors activation is mediated by a potentiation of learning-induced spine growth in the mouse hippocampus. *Neuropharmacology* *33*, 2427–2434.
- Rey, N.L., Jardanhazi-Kurutz, D., Terwel, D., Kummer, M.P., Jourdan, F., Didier, A., and Heneka, M.T. (2012). Locus coeruleus degeneration exacerbates olfactory deficits in APP/PS1 transgenic mice. *Neurobiology of Aging* *33*, 426.e1–426.e11.
- Reynolds, G.P., Mason, S.L., Meldrum, A., Keczer, S., Parties, H., Eglén, R.M., and Wong, E.H.F. (1995). 5-Hydroxytryptamine (5-HT)₄ receptors in post mortem human brain tissue: distribution, pharmacology and effects of neurodegenerative diseases. *British Journal of Pharmacology* *114*, 993–998.
- Ribot, T. (1882). *Diseases of memory* : Appleton-Century-Crofts, New York.
- Riemer, C., Borroni, E., Levet-Trafit, B., Martin, J.R., Poli, S., Porter, R.H.P., and Bösch, M. (2003). Influence of the 5-HT₆ Receptor on Acetylcholine Release in the Cortex: Pharmacological Characterization of 4-(2-Bromo-6-pyrrolidin-1-ylpyridine-4-sulfonyl)phenylamine, a Potent and Selective 5-HT₆ Receptor Antagonist [†]. *Journal of Medicinal Chemistry* *46*, 1273–1276.
- Rizzoli, S.O., and Betz, W.J. (2005). Synaptic vesicle pools. *Nature Reviews Neuroscience* *6*, 57–69.
- Robert, S.J., Zugaza, J.L., Fischmeister, R., Gardier, A.M., and Lezoualc'h, F. (2001). The Human Serotonin 5-HT₄ Receptor Regulates Secretion of Non-amyloidogenic Precursor Protein. *The Journal of Biological Chemistry* *276*, 44881–44888.
- Roberts, R., and Knopman, D.S. (2013). Classification and Epidemiology of MCI. *Clinics in Geriatric Medicine* *29*, 753–772.
- Rochais, C., Lecoutey, C., Gaven, F., Giannoni, P., Hamidouche, K., Hedou, D., Dubost, E., Genest, D., Yahiaoui, S., Freret, T., et al. (2015). Novel multitarget-directed ligands (MTDLs) with acetylcholinesterase (AChE) inhibitory and serotonergic subtype 4 receptor (5-HT₄R) agonist activities as potential agents against Alzheimer's disease: the design of donecopride. *J. Med. Chem.* *58*, 3172–3187.
- Rodgers, F.C., Zarnowska, E.D., Laha, K.T., Engin, E., Zeller, A., Keist, R., Rudolph, U., and Pearce, R.A. (2015). Etomidate Impairs Long-Term Potentiation In Vitro by Targeting α 5-Subunit Containing GABAA Receptors on Nonpyramidal Cells. *J Neurosci* *35*, 9707–9716.

- Roe, C.M., Xiong, C., Miller, J.P., and Morris, J.C. (2007). Education and Alzheimer disease without dementia: Support for the cognitive reserve hypothesis. *Neurology* 68, 223–228.
- Rollema, H., Lu, Y., Schmidt, A.W., and Zorn, S.H. (1997). Clozapine increases dopamine release in prefrontal cortex by 5-HT_{1A} receptor activation. *European Journal of Pharmacology* 338, R3–R5.
- Ronde, P., Ansanay, H., Dumuis, A., Miller, R., and Bockaert, J. (1995). Homologous desensitization of 5-Hydroxytryptamine 4 receptors in rat oesophagus : functional and second messenger studies. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutic* 272, 977–983.
- Rösch, H., Schweigreiter, R., Bonhoeffer, T., Barde, Y.-A., and Korte, M. (2005). The neurotrophin receptor p75^{NTR} modulates long-term depression and regulates the expression of AMPA receptor subunits in the hippocampus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102, 7362–7367.
- Rosel, P., Arranz, B., Urretavizcaya, M., Oros, M., San, L., and Navarro, M.A. (2004). Altered 5-HT_{2A} and 5-HT₄ Post-synaptic Receptors and Their Intracellular Signalling Systems IP₃ and cAMP in Brains from Depressed Violent Suicide Victims. *Neuropsychobiology* 49, 189–195.
- Roselli, C.E., Horton, L.E., and Resko, J.A. (1985). Distribution and Regulation of Aromatase Activity in the Rat Hypothalamus and Limbic System. *Endocrinology* 117, 2471–2477.
- Rosenzweig, E.S., and Barnes, C.A. (2003). Impact of aging on hippocampal function: plasticity, network dynamics, and cognition. *Progress in Neurobiology* 69, 143–179.
- Rudell, A.P., Fox, S.E., and Ranck, J.B. (1980). Hippocampal excitability phase-locked to the theta rhythm in walking rats. *Experimental Neurology* 68, 87–96.
- Rusanen, M., Kivipelto, M., Quesenberry, C.P., Zhou, J., and Whitmer, R.A. (2011). Heavy smoking in midlife and long-term risk of Alzheimer disease and vascular dementia. *Arch. Intern. Med.* 171, 333–339.
- Rush, D.K., and Streit, K. (1992). Memory modulation with peripherally acting cholinergic drugs. *Psychopharmacology (Berl.)* 106, 375–382.
- Rush, A.M., Wu, J., Rowan, M.J., and Anwyl, R. (2002). Group I Metabotropic Glutamate Receptor (mGluR)-Dependent Long-Term Depression Mediated via p38 Mitogen-Activated Protein Kinase Is Inhibited by Previous High-Frequency Stimulation and Activation of mGluRs and Protein Kinase C in the Rat Dentate Gyrus In Vitro. *J. Neurosci.* 22, 6121–6128.
- Russo, P., Del Bufalo, A., Frustaci, A., Fini, M., and Cesario, A. (2014). Beyond acetylcholinesterase inhibitors for treating Alzheimer's disease: α 7-nAChR agonists in human clinical trials. *Curr. Pharm. Des.* 20, 6014–6021.
- Saganich, M.J., Schroeder, B.E., Galvan, V., Bredesen, D.E., Koo, E.H., and Heinemann, S.F. (2006). Deficits in Synaptic Transmission and Learning in Amyloid Precursor Protein (APP) Transgenic Mice Require C-Terminal Cleavage of APP. *J. Neurosci.* 26, 13428–13436.
- Samuels, B.A., Mendez-David, I., Faye, C., David, S.A., Pierz, K.A., Gardier, A.M., Hen, R., and David, D.J. (2016). Serotonin 1A and Serotonin 4 Receptors: Essential Mediators of the Neurogenic and Behavioral Actions of Antidepressants. *The Neuroscientist* 22, 26–45.
- Sando, S.B., Melquist, S., Cannon, A., Hutton, M., Sletvold, O., Saltvedt, I., White, L.R., Lydersen, S., and Aasly, J. (2008). Risk-reducing effect of education in Alzheimer's disease. *International Journal of Geriatric Psychiatry* 23, 1156–1162.
- Schaeffer, E.L., and Gattaz, W.F. (2008). Cholinergic and glutamatergic alterations beginning at the early stages of Alzheimer disease: participation of the phospholipase A2 enzyme. *Psychopharmacology* 198, 1–27.
- Schildkraut, J. (1965). The catecholamine hypothesis of affective disorders: a review of supporting evidence. *American Journal of Psychiatry* 122, 509–522.

- Schliebs, R., and Arendt, T. (2006). The significance of the cholinergic system in the brain during aging and in Alzheimer's disease. *Journal of Neural Transmission* *113*, 1625–1644.
- Schliebs, R., and Arendt, T. (2011). The cholinergic system in aging and neuronal degeneration. *Behavioural Brain Research* *221*, 555–563.
- Schreiner, B., Hedskog, L., Wiehager, B., and Ankarcrona, M. (2015). Amyloid- β peptides are generated in mitochondria-associated endoplasmic reticulum membranes. *J. Alzheimers Dis.* *43*, 369–374.
- Schulz, K., and Korz, V. (2010). Hippocampal Testosterone Relates to Reference Memory Performance and Synaptic Plasticity in Male Rats. *Front Behav Neurosci* *4*.
- Schwindt, G.C., and Black, S.E. (2009). Functional imaging studies of episodic memory in Alzheimer's disease: a quantitative meta-analysis. *NeuroImage* *45*, 181–190.
- Scoville, W.B. (1954). The limbic lobe in man. *J. Neurosurg.* *64–66*.
- Scoville, W.B., and Milner, B. (1957). Loss of recent memory after bilateral hippocampal lesions. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiat.* *11*.
- Segu, L., Lecomte, M.-J., Wolff, M., Santamaria, J., Hen, R., Dumuis, A., Berrard, S., Bockaert, J., Buhot, M.-C., and Compan, V. (2010). Hyperfunction of Muscarinic Receptor Maintains Long-Term Memory in 5-HT₄ Receptor Knock-Out Mice. *PLoS ONE* *5*, e9529.
- Séguéla, P., Wadiche, J., Dineley-Miller, K., Dani, J.A., and Patrick, J.W. (1993). Molecular Cloning, Functional Properties, and Distribution of Rat Brain CU₂:A Nicotinic Cation Channel Highly Permeable to Calcium. *The Journal of Neuroscience* *13*, 596–604.
- Seitz, R.J., Roland, E., Bohm, C., Greitz, T., and Stone-Elander, S. (1990). Motor learning in man: a positron emission tomographic study. *NeuroReport* *1*, 57–60.
- Seyedabadi, M., Fakhfouri, G., Ramezani, V., Mehr, S.E., and Rahimian, R. (2014). The role of serotonin in memory: interactions with neurotransmitters and downstream signaling. *Experimental Brain Research* *232*, 723–738.
- Shankar, G.M., Li, S., Mehta, T.H., Garcia-Munoz, A., Shepardson, N.E., Smith, I., Brett, F.M., Farrell, M.A., Rowan, M.J., Lemere, C.A., et al. (2008). Amyloid- β protein dimers isolated directly from Alzheimer's brains impair synaptic plasticity and memory. *Nature Medicine* *14*, 837–842.
- Sharrow, K.M., Kumar, A., and Foster, T.C. (2002). Calcineurin as a potential contributor in estradiol regulation of hippocampal synaptic function. *Neuroscience* *113*, 89–97.
- Sheline, Y.I., West, T., Yarasheski, K., Swarm, R., Jasielec, M.S., Fisher, J.R., Ficker, W.D., Yan, P., Xiong, C., Frederiksen, C., et al. (2014). An antidepressant decreases CSF A β production in healthy individuals and in transgenic AD mice. *Sci Transl Med* *6*, 236re4.
- Shors, T.J. (2004). Learning During Stressful Times. *Learn. Mem.* *11*, 137–144.
- Shors, T.J. (2006). Stressful Experience and Learning Across the Lifespan. *Annu. Rev. Psychol.* *57*, 55–85.
- Shors, T., Seib, T., Levine, S., and Thompson, R. (1989). Inescapable versus escapable shock modulates long-term potentiation in the rat hippocampus. *Science* *244*, 224–226.
- Sia, T.C., Whiting, M., Kyloh, M., Nicholas, S.J., Oliver, J., Brookes, S.J., Dinning, P.G., Wattchow, D.A., and Spencer, N.J. (2013). 5-HT₃ and 5-HT₄ antagonists inhibit peristaltic contractions in guinea-pig distal colon by mechanisms independent of endogenous 5-HT. *Frontiers in Neuroscience* *7*.
- Šimić, G., Babić Leko, M., Wray, S., Harrington, C., Delalle, I., Jovanov-Milošević, N., Bažadona, D., Buée, L., de Silva, R., Di Giovanni, G., et al. (2016). Tau Protein Hyperphosphorylation and

- Aggregation in Alzheimer's Disease and Other Tauopathies, and Possible Neuroprotective Strategies. *Biomolecules* *6*, 6.
- Sjöström, P.J., Turrigiano, G.G., and Nelson, S.B. (2003). Neocortical LTD via Coincident Activation of Presynaptic NMDA and Cannabinoid Receptors. *Neuron* *39*, 641–654.
- Skucas, V.A., Mathews, I.B., Yang, J., Cheng, Q., Treister, A., Duffy, A.M., Verkman, A.S., Hempstead, B.L., Wood, M.A., Binder, D.K., et al. (2011). Impairment of Select Forms of Spatial Memory and Neurotrophin-Dependent Synaptic Plasticity by Deletion of Glial Aquaporin-4. *J. Neurosci.* *31*, 6392–6397.
- Smith, G.S., Barrett, F.S., Joo, J.H., Nassery, N., Savonenko, A., Sodums, D.J., Marano, C.M., Munro, C.A., Brandt, J., Kraut, M.A., et al. (2017). Molecular imaging of serotonin degeneration in mild cognitive impairment. *Neurobiology of Disease* *105*, 33–41.
- Soeter, M., and Kindt, M. (2011). Noradrenergic enhancement of associative fear memory in humans. *Neurobiology of Learning and Memory* *96*, 263–271.
- Sokoloff, L. (1999). Energetics of Functional Activation in Neural Tissues. *Neurochem Res* *24*, 321–329.
- Song, S., Wang, X., Sava, V., Weeber, E.J., and Sanchez-Ramos, J. (2014). In vivo administration of granulocyte colony-stimulating factor restores long-term depression in hippocampal slices prepared from transgenic APP/PS1 mice. *Journal of Neuroscience Research* *92*, 975–980.
- Spencer, J.P., Brown, J.T., Richardson, J.C., Medhurst, A.D., Sehmi, S.S., Calver, A.R., and Randall, A.D. (2004). Modulation of hippocampal excitability by 5-HT₄ receptor agonists persists in a transgenic model of Alzheimer's disease. *Neuroscience* *129*, 49–54.
- Spencer, N.J., Nicholas, S.J., Robinson, L., Kyloh, M., Flack, N., Brookes, S.J., Zagorodnyuk, V.P., and Keating, D.J. (2011). Mechanisms underlying distension-evoked peristalsis in guinea pig distal colon: is there a role for enterochromaffin cells? *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology* *301*, G519–G527.
- Sperling, R.A., Aisen, P.S., Beckett, L.A., Bennett, D.A., Craft, S., Fagan, A.M., Iwatsubo, T., Jack, C.R., Kaye, J., Montine, T.J., et al. (2011). Toward defining the preclinical stages of Alzheimer's disease: Recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia* *7*, 280–292.
- Squire, L.R. (2004). Memory systems of the brain: A brief history and current perspective. *Neurobiology of Learning and Memory* *82*, 171–177.
- Squire, L.R., and Zola-Morgan, S. (1988). Memory: brain systems and behavior. *Trends in Neurosciences* *11*, 170–175.
- Stancu, I.-C., Ris, L., Vasconcelos, B., Marinangeli, C., Goeminne, L., Laporte, V., Haylani, L.E., Couturier, J., Schakman, O., Gailly, P., et al. (2014). Tauopathy contributes to synaptic and cognitive deficits in a murine model for Alzheimer's disease. *The FASEB Journal* *28*, 2620–2631.
- Stanton, P.K., and Sejnowski, T.J. (1989). Associative long-term depression in the hippocampus induced by hebbian covariance. *Nature* *18*, 215–218.
- Staubli, U., and Otaky, N. (1994). Serotonin controls the magnitude of LTP induced by theta bursts via an action on NMDA-receptor-mediated responses. *Brain Research* *643*, 10–16.
- Stäubli, U., Scafidi, J., and Chun, D. (1999). GABAB Receptor Antagonism: Facilitatory Effects on Memory Parallel Those on LTP Induced by TBS but Not HFS. *J. Neurosci.* *19*, 4609–4615.
- Steinbusch, H.W. (1984). Serotonin-immunoreactive neurons and their projections in the CNS. In *Handbook of Chemical Neuroanatomy.*, (Elsevier), pp. 68–125.

- Stemmer, P.M., and Klee, C.B. (1994). Dual Calcium Ion Regulation of Calcineurin by Calmodulin and Calcineurin B. *Biochemistry* 33, 6859–6866.
- Stenbaek, D.S., Fisher, P.M., Ozenne, B., Andersen, E., Hjordt, L.V., McMahon, B., Hasselbalch, S.G., Frokjaer, V.G., and Knudsen, G.M. (2017). Brain serotonin 4 receptor binding is inversely associated with verbal memory recall. *Brain and Behavior* 7, e00674.
- Stern, Y. (2012). Cognitive reserve in ageing and Alzheimer's disease. *Lancet Neurol* 11, 1006–1012.
- Steward, L.J., Ge, J., Stowe, R.L., Brown, D.C., Bruton, R.K., Stokes, P.R.A., and Barnes, N.M. (1996). Ability of 5-HT₄ receptor ligands to modulate rat striatal dopamine release in vitro and in vivo. *British Journal of Pharmacology* 117, 55–62.
- Stopford, C.L., Thompson, J.C., Neary, D., Richardson, A.M.T., and Snowden, J.S. (2012). Working memory, attention, and executive function in Alzheimer's disease and frontotemporal dementia. *Cortex* 48, 429–446.
- Storga, D., Vrecko, K., Birkmayer, J.G.D., and Reibnegger, G. (1996). Monoaminergic neurotransmitters, their precursors and metabolites in brains of Alzheimer patients. *Neuroscience Letters* 203, 29–32.
- Strachan, M.W.J., Deary, I.J., Ewing, F.M.E., and Frier, B.M. (1997). Is Type II Diabetes Associated With an Increased Risk of Cognitive Dysfunction?: A critical review of published studies. *Diabetes Care* 20, 438–445.
- Stranahan, A.M., Arumugam, T.V., Lee, K., and Mattson, M.P. (2010). Mineralocorticoid receptor activation restores medial perforant path LTP in diabetic rats. *Synapse* 64, 528–532.
- Stranahan, A.M., Arumugam, T.V., and Mattson, M.P. (2011). Lowering Corticosterone Levels Reinstates Hippocampal Brain-Derived Neurotrophic Factor and Trkb Expression without Influencing Deficits in Hypothalamic Brain-Derived Neurotrophic Factor Expression in Leptin Receptor-Deficient Mice. *Neuroendocrinology* 93, 58–64.
- Stratton, M.M., Chao, L.H., Schulman, H., and Kuriyan, J. (2013). Structural studies on the regulation of Ca²⁺/calmodulin dependent protein kinase II. *Current Opinion in Structural Biology* 23, 292–301.
- Straube, T., Korz, V., and Frey, J.U. (2003). Bidirectional modulation of long-term potentiation by novelty-exploration in rat dentate gyrus. *Neuroscience Letters* 344, 5–8.
- Strube, W., Bunse, T., Nitsche, M.A., Wobrock, T., Aborowa, R., Misewitsch, K., Herrmann, M., Falkai, P., and Hasan, A. (2015). Smoking Restores Impaired LTD-Like Plasticity in Schizophrenia: a Transcranial Direct Current Stimulation Study. *Neuropsychopharmacology* 40, 822–830.
- Strube, W., Bunse, T., Nitsche, M.A., Palm, U., Falkai, P., and Hasan, A. (2016). Differential response to anodal tDCS and PAS is indicative of impaired focal LTP-like plasticity in schizophrenia. *Behavioural Brain Research* 311, 46–53.
- Suárez-González, A., Crutch, S.J., Franco-Macías, E., and Gil-Néciga, E. (2016). Neuropsychiatric Symptoms in Posterior Cortical Atrophy and Alzheimer Disease. *J Geriatr Psychiatry Neurol* 29, 65–71.
- Suzuki, T., Iwata, N., Kitamura, Y., Kitajima, T., Yamanouchi, Y., Ikeda, M., Nishiyama, T., Kamatani, N., and Ozaki, N. (2003). Association of a haplotype in the serotonin 5-HT₄ receptor gene (HTR4) with Japanese schizophrenia. *American Journal of Medical Genetics Part B: Neuropsychiatric Genetics* 121B, 7–13.
- Sweeney, J.E., Höhmann, C.F., Moran, T.H., and Coyle, J.T. (1988). A long-acting cholinesterase inhibitor reverses spatial memory deficits in mice. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 31, 141–147.

- Sweet, E.S., Saunier-Rebori, B., Yue, Z., and Blitzer, R.D. (2015). The Parkinson's Disease-Associated Mutation LRRK2-G2019S Impairs Synaptic Plasticity in Mouse Hippocampus. *J. Neurosci.* 35, 11190–11195.
- Szot, P., White, S.S., Greenup, J.L., Leverenz, J.B., Peskind, E.R., and Raskind, M.A. (2006). Compensatory Changes in the Noradrenergic Nervous System in the Locus Ceruleus and Hippocampus of Postmortem Subjects with Alzheimer's Disease and Dementia with Lewy Bodies. *J. Neurosci.* 26, 467–478.
- Tabatadze, N., Sato, S.M., and Woolley, C.S. (2014). Quantitative Analysis of Long-Form Aromatase mRNA in the Male and Female Rat Brain. *PLoS One* 9.
- Takeuchi, T., Duzskiewicz, A.J., and Morris, R.G.M. (2013). The synaptic plasticity and memory hypothesis: encoding, storage and persistence. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 369, 20130288–20130288.
- Takumi, Y., Ramírez-León, V., Laake, P., Rinvik, E., and Ottersen, O.P. (1999). Different modes of expression of AMPA and NMDA receptors in hippocampal synapses. *Nature Neuroscience* 2, 618–624.
- Talantova, M., Sanz-Blasco, S., Zhang, X., Xia, P., Akhtar, M.W., Okamoto, S., Dziewczapolski, G., Nakamura, T., Cao, G., Pratt, A.E., et al. (2013). A β induces astrocytic glutamate release, extrasynaptic NMDA receptor activation, and synaptic loss. *Proc Natl Acad Sci U S A* 110, E2518–E2527.
- Tamburella, A., Micale, V., Navarria, A., and Drago, F. (2009). Antidepressant properties of the 5-HT₄ receptor partial agonist, SL65.0155: Behavioral and neurochemical studies in rats. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry* 33, 1205–1210.
- Tan, J.W., and Kim, M.K. (2016). Neuroprotective Effects of Biochanin A against β -Amyloid-Induced Neurotoxicity in PC12 Cells via a Mitochondrial-Dependent Apoptosis Pathway. *Molecules* 21.
- Tanaka, Y., Meguro, K., Yamaguchi, S., Ishii, H., Watanuki, S., Funaki, Y., Yamaguchi, K., Yamadori, A., Iwata, R., and Itoh, M. (2003). Decreased striatal D2 receptor density associated with severe behavioral abnormality in Alzheimer's disease. *Ann Nucl Med* 17, 567–573.
- Tang, Y., Schlumpberger, T., Kim, T., Lueker, M., and Zucker, R.S. (2000). Effects of Mobile Buffers on Facilitation: Experimental and Computational Studies. *Biophysical Journal* 78, 2735–2751.
- Taniyama, K., Makimoto, N., Furuichi, A., Sakurai-Yamashita, Y., Nagase, Y., Kaibara, M., and Kanematsu, T. (2000). Functions of peripheral 5-hydroxytryptamine receptors, especially 5-hydroxytryptamine 4 receptor, in gastrointestinal motility. *Journal of Gastroenterology* 35, 575–582.
- Tapiainen, V., Taipale, H., Tanskanen, A., Tiihonen, J., Hartikainen, S., and Tolppanen, A.-M. (2018). The risk of Alzheimer's disease associated with benzodiazepines and related drugs: a nested case–control study. *Acta Psychiatrica Scandinavica* 138, 91–100.
- Tata, A.M., Velluto, L., D'Angelo, C., and Reale, M. (2014). Cholinergic system dysfunction and neurodegenerative diseases: cause or effect? *CNS Neurol Disord Drug Targets* 13, 1294–1303.
- Teixeira, C.M., Rosen, Z.B., Suri, D., Sun, Q., Hersh, M., Sargin, D., Dincheva, I., Morgan, A.A., Spivack, S., Krok, A.C., et al. (2018). Hippocampal 5-HT Input Regulates Memory Formation and Schaffer Collateral Excitation. *Neuron*.
- Temido-Ferreira, M., Ferreira, D.G., Batalha, V.L., Marques-Morgado, I., Coelho, J.E., Pereira, P., Gomes, R., Pinto, A., Carvalho, S., Canas, P.M., et al. (2018). Age-related shift in LTD is dependent on neuronal adenosine A_{2A} receptors interplay with mGluR5 and NMDA receptors. *Molecular Psychiatry*.

- Tesseur, I., Pimenova, A.A., Lo, A.C., Ciesielska, M., Lichtenthaler, S.F., De Maeyer, J.H., Schuurkes, J.A.J., D'Hooge, R., and De Strooper, B. (2013). Chronic 5-HT₄ receptor activation decreases A β production and deposition in hAPP/PS1 mice. *Neurobiol. Aging* 34, 1779–1789.
- Thomas, J., Thomas, C.J., Radcliffe, J., and Itsiopoulos, C. (2015). Omega-3 Fatty Acids in Early Prevention of Inflammatory Neurodegenerative Disease: A Focus on Alzheimer's Disease. *Biomed Res Int* 2015.
- Tolppanen, A.-M., Taipale, H., Koponen, M., Lavikainen, P., Tanskanen, A., Tiihonen, J., and Hartikainen, S. (2016). Cohort profile: the Finnish Medication and Alzheimer's disease (MEDALZ) study. *BMJ Open* 6.
- Tomita, S., Stein, V., Stocker, T.J., Nicoll, R.A., and Brecht, D.S. (2005). Bidirectional Synaptic Plasticity Regulated by Phosphorylation of Stargazin-like TARPs. *Neuron* 45, 269–277.
- Toni, I., and Passingham, R.E. (1999). Prefrontal-basal ganglia pathways are involved in the learning of arbitrary visuomotor associations: a PET study. *Experimental Brain Research* 127, 19–32.
- Toth, P., Tarantini, S., Csiszar, A., and Ungvari, Z. (2017). Functional vascular contributions to cognitive impairment and dementia: mechanisms and consequences of cerebral autoregulatory dysfunction, endothelial impairment, and neurovascular uncoupling in aging. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 312, H1–H20.
- Tramutola, A., Lanzillotta, C., Perluigi, M., and Butterfield, D.A. (2017). Oxidative stress, protein modification and Alzheimer disease. *Brain Research Bulletin* 133, 88–96.
- Tretter, V., Revilla-Sanchez, R., Houston, C., Terunuma, M., and Havekes, R. (2009). Deficits in spatial memory correlate with modified gamma-aminobutyric acid type A receptor tyrosine phosphorylation in the hippocampus. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 106, 6.
- Trinchese, F., Liu, S., Battaglia, F., Walter, S., Mathews, P.M., and Arancio, O. (2004). Progressive age-related development of Alzheimer-like pathology in APP/PS1 mice. *Annals of Neurology* 55, 801–814.
- Tse, Y.C., Bagot, R.C., Hutter, J.A., Wong, A.S., and Wong, T.P. (2011). Modulation of Synaptic Plasticity by Stress Hormone Associates with Plastic Alteration of Synaptic NMDA Receptor in the Adult Hippocampus. *PLOS ONE* 6, e27215.
- Tucsek, Z., Noa Valcarcel-Ares, M., Tarantini, S., Yabluchanskiy, A., Fülöp, G., Gautam, T., Orock, A., Csiszar, A., Deak, F., and Ungvari, Z. (2017). Hypertension-induced synapse loss and impairment in synaptic plasticity in the mouse hippocampus mimics the aging phenotype: implications for the pathogenesis of vascular cognitive impairment. *GeroScience* 39, 385–406.
- Tulving, E. (1995). Organization of memory : Quo Vadis. *Journal of Cognitive Neurosciences*.
- Tulving, E., and Schacter, D.L. (1990). Priming and human memory systems. *Science* 247, 301–306.
- Tulving, E., Hayman, C.A., and MacDonald, C.A. (1991). Long-lasting perceptual priming and semantic learning in amnesia: A case experiment. *Journal of Experimental Psychology: Learning, Memory, and Cognition* 17, 595–617.
- Turrigiano, G.G., and Nelson, S.B. (2004). Homeostatic plasticity in the developing nervous system. *Nature Reviews Neuroscience* 5, 97–107.
- Twarkowski, H., Hagen, H., and Manahan-Vaughan, D. (2016). The 5-hydroxytryptamine₄ receptor enables differentiation of informational content and encoding in the hippocampus: Role of 5-HT₄ Receptor in Hippocampal Plasticity. *Hippocampus* 26, 875–891.
- Usdin, M.T., Shelbourne, P.F., Myers, R.M., and Madison, D.V. (1999). Impaired Synaptic Plasticity in Mice Carrying the Huntington's Disease Mutation. *Hum Mol Genet* 8, 839–846.

- Van Snellenberg, J.X. (2009). Working memory and long-term memory deficits in schizophrenia: Is there a common substrate? *Psychiatry Research: Neuroimaging* 174, 89–96.
- Varnäs, K., Halldin, C., Pike, V.W., and Hall, H. (2003). Distribution of 5-HT₄ receptors in the postmortem human brain - an autoradiographic study using [¹²⁵I]SB 207710. *European Neuropsychopharmacology* 13, 228–234.
- Varnäs, K., Thomas, D.R., Tupala, E., Tiihonen, J., and Hall, H. (2004). Distribution of 5-HT₇ receptors in the human brain: a preliminary autoradiographic study using [¹²⁵I]SB-269970. *Neuroscience Letters* 367, 313–316.
- Vassar, R., Bennett, B.D., Babu-Khan, S., Kahn, S., Mendiaz, E.A., Denis, P., Teplow, D.B., Ross, S., Amarante, P., Loeloff, R., et al. (1999). Beta-secretase cleavage of Alzheimer's amyloid precursor protein by the transmembrane aspartic protease BACE. *Science* 286, 735–741.
- Vilaró, M.T., Cortés, R., and Mengod, G. (2005). Serotonin 5-HT₄ receptors and their mRNAs in rat and guinea pig brain: Distribution and effects of neurotoxic lesions: 5-HT₄ Receptors in Rat and Guinea Pig Brain. *Journal of Comparative Neurology* 484, 418–439.
- Villers, A., Godaux, E., and Ris, L. (2012). Long-Lasting LTP Requires Neither Repeated Trains for Its Induction Nor Protein Synthesis for Its Development. *PLoS One* 7.
- Vouimba, R.-M., Foy, M.R., Foy, J.G., and Thompson, R.F. (2000). 17 β -estradiol suppresses expression of long-term depression in aged rats. *Brain Research Bulletin* 53, 783–787.
- Wada, E., Wada, K., Boulter, J., Deneris, E., Heinemann, S., Patrick, J., and Swanson, L.W. (1989). Distribution of alpha₂, alpha₃, alpha₄, and beta₂ neuronal nicotinic receptor subunit mRNAs in the central nervous system: A hybridization histochemical study in the rat. *Journal of Comparative Neurology* 284, 314–335.
- Waeber, C., Sebben, M., Bockaert, J., and Dumuis, A. (1995). Regional distribution and ontogeny of 5-HT₄ binding sites in rat brain. *Behavioural Brain Research* 73, 259–262.
- Wagner, J.J., and Alger, B.E. (1995). GABAergic and developmental influences on homosynaptic LTD and depotentiation in rat hippocampus. *J. Neurosci.* 15, 1577–1586.
- Waldmeier, P.C., Kaupmann, K., and Urwyler, S. (2008). Roles of GABAB receptor subtypes in presynaptic auto- and heteroreceptor function regulating GABA and glutamate release. *J Neural Transm* 115, 1401–1411.
- Waltereit, R., and Weller, M. (2003). Signaling from cAMP/PKA to MAPK and synaptic plasticity. *Mol Neurobiol* 27, 99–106.
- Wang, H., and Wagner, J.J. (1999). Priming-Induced Shift in Synaptic Plasticity in the Rat Hippocampus. *Journal of Neurophysiology* 82, 2024–2028.
- Wang, S.-J., Wang, K.-Y., and Wang, W.-C. (2004). Mechanisms underlying the riluzole inhibition of glutamate release from rat cerebral cortex nerve terminals (synaptosomes). *Neuroscience* 125, 191–201.
- Ward, A., Tardiff, S., Dye, C., and Arrighi, H.M. (2013). Rate of Conversion from Prodromal Alzheimer's Disease to Alzheimer's Dementia: A Systematic Review of the Literature. *DEE* 3, 320–332.
- Warren, S.G., Humphreys, A.G., Juraska, J.M., and Greenough, W.T. (1995). LTP varies across the estrous cycle: enhanced synaptic plasticity in proestrus rats. *Brain Research* 703, 26–30.
- Wawra, M., Fidzinski, P., Heinemann, U., Mody, I., and Behr, J. (2014). 5-HT₄-Receptors Modulate Induction of Long-Term Depression but Not Potentiation at Hippocampal Output Synapses in Acute Rat Brain Slices. *PLoS ONE* 9, e88085.

- Weis, W.I., and Kobilka, B.K. (2018). The Molecular Basis of G Protein–Coupled Receptor Activation. *Annual Review of Biochemistry* 87, 897–919.
- Whitlock, J.R. (2006). Learning Induces Long-Term Potentiation in the Hippocampus. *Science* 313, 1093–1097.
- Wiggs, C.L., Weisberg, J., and Martin, A. (1998). Neural correlates of semantic and episodic memory retrieval. *Neuropsychologia* 37, 103–118.
- Willins, D.L., Deutch, A.Y., and Roth, B.L. (1997). Serotonin 5-HT_{2A} receptors are expressed on pyramidal cells and interneurons in the rat cortex. *Synapse* 27, 79–82.
- Willis, B.L., Gao, A., Leonard, D., DeFina, L.F., and Berry, J.D. (2012). Midlife Fitness and the Development of Chronic Conditions in Later Life. *Arch Intern Med* 172, 1333–1340.
- Wilson, R.S., Nag, S., Boyle, P.A., Hizek, L.P., Yu, L., Buchman, A.S., Schneider, J.A., and Bennett, D.A. (2013). Neural reserve, neuronal density in the locus ceruleus, and cognitive decline. *Neurology* 80, 1202–1208.
- Woehler, A., and Ponimaskin, E.G. (2009). G Protein - Mediated Signaling: Same Receptor, Multiple Effectors. *Current Molecular Pharmacology* 2, 237–248.
- Wong, T.P., Howland, J.G., Robillard, J.M., Ge, Y., Yu, W., Titterness, A.K., Brebner, K., Liu, L., Weinberg, J., Christie, B.R., et al. (2007). Hippocampal long-term depression mediates acute stress-induced spatial memory retrieval impairment. *PNAS* 104, 11471–11476.
- Woo, N.H., Teng, H.K., Siao, C.-J., Chiaruttini, C., Pang, P.T., Milner, T.A., Hempstead, B.L., and Lu, B. (2005). Activation of p75^{NTR} by proBDNF facilitates hippocampal long-term depression. *Nature Neuroscience* 8, 1069–1077.
- Woo, T.-U.W., Shrestha, K., Lamb, D., Minns, M.M., and Benes, F.M. (2008). N-Methyl-D-Aspartate Receptor and Calbindin-Containing Neurons in the Anterior Cingulate Cortex in Schizophrenia and Bipolar Disorder. *Biological Psychiatry* 64, 803–809.
- Wosiski-Kuhn, M., Erion, J.R., Gomez-Sanchez, E.P., Gomez-Sanchez, C.E., and Stranahan, A.M. (2014). Glucocorticoid receptor activation impairs hippocampal plasticity by suppressing BDNF expression in obese mice. *Psychoneuroendocrinology* 42, 165–177.
- Wu, C.-S., Wang, S.-C., Chang, I.-S., and Lin, K.-M. (2009). The Association Between Dementia and Long-Term Use of Benzodiazepine in the Elderly: Nested Case–Control Study Using Claims Data. *The American Journal of Geriatric Psychiatry* 17, 614–620.
- Wu, Z., Guo, Z., Gearing, M., and Chen, G. (2014). Tonic inhibition in dentate gyrus impairs long-term potentiation and memory in an Alzheimer’s disease model. *Nat Commun* 5, 4159.
- Xing, Z.G., Yu, G.D., Qin, L., Jiang, F., and Zhao, W.H. (2015). Effects and mechanism of lipoic acid on beta-amyloid-intoxicated C6 glioma cells. *Genet. Mol. Res.* 14, 13880–13888.
- Xu, J., and Wu, L.-G. (2005). The Decrease in the Presynaptic Calcium Current Is a Major Cause of Short-Term Depression at a Calyx-Type Synapse. *Neuron* 46, 633–645.
- Xu, L., Anwyl, R., and Rowan, M.J. (1997). Behavioural stress facilitates the induction of long-term depression in the hippocampus. *Nature* 387, 497–500.
- Yamaguchi, T., Suzuki, M., and Yamamoto, M. (1997). Evidence for 5-HT₄ receptor involvement in the enhancement of acetylcholine release by p-chloroamphetamine in rat frontal cortex. *Brain Res.* 772, 95–101.
- Yang, C.-H., Huang, C.-C., and Hsu, K.-S. (2005). Behavioral Stress Enhances Hippocampal CA1 Long-Term Depression through the Blockade of the Glutamate Uptake. *J. Neurosci.* 25, 4288–4293.

- Yang, J., Han, H., Cao, J., Li, L., and Xu, L. (2006). Prenatal stress modifies hippocampal synaptic plasticity and spatial learning in young rat offspring. *Hippocampus* *16*, 431–436.
- Yankner, B.A., Dawes, L.R., Fisher, S., Villa-Komaroff, L., Oster-Granite, M.L., and Neve, R.L. (1989). Neurotoxicity of a fragment of the amyloid precursor associated with Alzheimer's disease. *Science* *245*, 417–420.
- Yeh, C.-M., Huang, C.-C., and Hsu, K.-S. (2012). Prenatal stress alters hippocampal synaptic plasticity in young rat offspring through preventing the proteolytic conversion of pro-brain-derived neurotrophic factor (BDNF) to mature BDNF. *The Journal of Physiology* *590*, 991–1010.
- Yoshida, S., and Suzuki, N. (1993). Antiamnesic and cholinomimetic side-effects of the cholinesterase inhibitors, physostigmine, tacrine and NIK-247 in rats. *European Journal of Pharmacology* *250*, 117–124.
- Zamani, M.R., Desmond, N.L., and Levy, W.B. (2000). Estradiol Modulates Long-Term Synaptic Depression in Female Rat Hippocampus. *Journal of Neurophysiology* *84*, 1800–1808.
- Zhang, D.X., and Levy, W.B. (1992). Ketamine blocks the induction of LTP at the lateral entorhinal cortex-dentate gyrus synapses. *Brain Research* *593*, 124–127.
- Zhang, X., and Poo, M. (2002). Localized Synaptic Potentiation by BDNF Requires Local Protein Synthesis in the Developing Axon. *Neuron* *36*, 675–688.
- Zhang, Z., Song, M., Liu, X., Su Kang, S., Duong, D.M., Seyfried, N.T., Cao, X., Cheng, L., Sun, Y.E., Ping Yu, S., et al. (2015). Delta-secretase cleaves amyloid precursor protein and regulates the pathogenesis in Alzheimer's disease. *Nat Commun* *6*, 8762.
- Zhang, Z., Xie, M., and Ye, K. (2016). Asparagine endopeptidase is an innovative therapeutic target for neurodegenerative diseases. *Expert Opin. Ther. Targets* *20*, 1237–1245.
- Zheng, Y., Wang, J., Li, D., Guo, M., Zhen, M., and Chang, Q. (2016). Wnt / β -Catenin Signaling Pathway Against A β Toxicity in PC12 Cells. *Neurosignals* *24*, 40–47.
- Zhong, G., Wang, Y., Zhang, Y., Guo, J.J., and Zhao, Y. (2015). Smoking Is Associated with an Increased Risk of Dementia: A Meta-Analysis of Prospective Cohort Studies with Investigation of Potential Effect Modifiers. *PLoS One* *10*.
- Zhou, Q., Homma, K.J., and Poo, M. (2004). Shrinkage of Dendritic Spines Associated with Long-Term Depression of Hippocampal Synapses. *Neuron* *44*, 749–757.
- Ziff, E.B. (2007). TARPs and the AMPA Receptor Trafficking Paradox. *Neuron* *53*, 627–633.
- Zucker, R.S., and Regehr, W.G. (2002). Short-Term Synaptic Plasticity. *Annual Review of Physiology* *64*, 355–405.

PIERRE LECOUFLET

130 Boulevard Leroy, Caen 14000, FRANCE | 0624384368 | pierre.lecouflet@unicaen.fr
DoB: 19th February 1986



ACADEMIC EDUCATION

- 2015 – 2018:** **PhD in Neurosciences** - Academic defense scheduled in November 2018
COMETE research unit (INSERM U1075), Caen Normandy University (UCN)
- 2014 – 2015:** **Master's 2 degree in Neurosciences and Behavioral sciences**, with honors
GMPc research unit (EA 4259), Caen Normandy University UCN
- 2013 – 2018:** **Pharmacy residency** - Academic defense for the Pharm. D. scheduled in September 2018
"Overview of the 5-HT4 receptor's role in memory and synaptic plasticity"
DES (Specialized Graduate Studies) of Pharmaceutical innovation and Research
- 2010 – 2011:** **Master's 1 degree in Biomedical sciences**, Caen Normandy University
- 2007 – 2012:** **Pharmaceutical sciences studies**, Caen Normandy University

PROFESSIONAL EXPERIENCE

✓ RESEARCH ACTIVITIES

- 2015-2018:** PhD. Thesis fellowship (3 years) - COMETE (U1075), UCN/INSERM
"Interest of 5-HT4 receptors in Alzheimer's disease: behavioral and electrophysiological preclinical studies on mice." Supervisors: Prs P. Schumann-Bard and T. Freret.
- 2014-2015:** Master 2 fellowship (6 months) - GMPc (EA4259), UCN
"Technical development of an extracellular electrophysiology station to study 5-HT4 receptors activation effects on hippocampal synaptic plasticity in mice." Supervisors: Prs P. Schumann-Bard and T. Freret
- 2013 – 2014:** 1st year of pharmacy residency in hospital
-6 months: Argentan Hospital Center, central pharmacy and cytotoxic preparation unit
-6 months: Caen University Hospital Center, clinical trial department
- 2011 – 2012:** Clerkship - Internal audit on good practice in anesthesia
-6 months part-time in Caen University Hospital Center
- 2010 – 2011:** Master 1 fellowship (2 months) – GMPc (EA4259), UCN
"Proof of concept for a dual target compound efficiency: association of sub-active doses of an acetylcholinesterase inhibitor and a 5-HT4 receptor agonist in object recognition in mice" Supervisor: Pr. T. Freret
- July 2009:** Research introductory traineeship (1 month) - GMPc (EA4259), UCN
"Behavioural characterization of the rat strain LOU/c/Jall: spatial memory performances assessment in aging"
Supervisor: Pr. T. Freret

✓ TEACHING ACTIVITIES

- 2015-2018:** Temporary assistant teacher
Pharmaceutical School of Caen University (L2 and L3 student) – 183h in neurophysiology
Sciences School for Master 1 Student - Practical work initiation to extracellular electrophysiology

✓ **UNDERGRADUATE STUDENT SUPERVISION and EVALUATION COMMITTEE**

Supervision and teaching of undergraduate students at the laboratory

Students in Research introductory traineeship

Students in Master's degree 1 in Biomedical Sciences

Student representative in three CSI (Thesis Monitoring Committee)

TRAINING COURSE and LABORATORY SKILLS

2017: French Animal Experimentation license

2017: ELECTRAIN – European Neurosciences Institute, Göttingen

Extensive course and practical training in electrophysiology

Electrophysiology: extra-cellular recordings on transverse hippocampal slice, two electrodes intra-cellular recordings on *Xenopus* oocytes

Behavioral experiments and handling of rodents

Calcium Imaging

Cell culture

Software: Excel, PowerPoint, Word, Gimp 2, Stat view, R

PUBLICATIONS and COMMUNICATIONS

✓ **PUBLICATIONS**

Freret T, Lelong-Boulouard V, **Lecouflet P**, Hamidouche K, Dauphin F, Boulouard M. “*Co-modulation of an allosteric modulator of nicotinic receptor-cholinesterase inhibitor (galantamine) and a 5-HT4 receptor agonist (RS-67333): effect on scopolamine-induced memory deficit in the mouse.*” **Psychopharmacology** (Berl). 2017 Aug; 234(15):2365-2374. doi: 10.1007/s00213-017-4664-z.

Lecouflet P., Billard J.M., Schumann-Bard P., Freret T. “*Stimulation of the 5-HT4 receptor in mouse hippocampal slices modulates LTP through the GABAergic system*”. In preparation for **Neuropsychopharmacology**.

Hamidouche K., **Lecouflet P.**, Boulouard M., Freret T. “*Mind the gap of a relevant animal model of Alzheimer disease: a focus on a model of amyloidogenic challenge, the 5xFAD mouse.*” In preparation for **Frontiers in Aging Neuroscience**.

✓ **COMMUNICATIONS in international congress**

2016, November: Oral communication, 20th annual meeting of the LARC-Neurosciences network, Rennes
“*In vitro activation of 5-HT4 receptors enhances basal transmission and long term depression in mice's hippocampus but impairs long term potentiation.*”

2018, July: Poster communication, 11th FENS forum of Neurosciences, Berlin
“*Effects of 5-HT4R activation on hippocampal CA1 plasticity: a potential involvement of GABA neurotransmission.*”

LANGUAGES

French – native language

English – speak fluently and read/write with proficiency

German – basic knowledge

REFERENCES

Pr Thomas Freret (thomas.freret@unicaen.fr)

Professor of physiology at COMETE INSERM UMR-S 1075

Caen Normandy University, 1 Boulevard Henri Becquerel, 14000 Caen, France.

Pr Pascale Schumann-Bard (pascale.schumann-bard@unicaen.fr)

Professor of physiology at COMETE INSERM UMR-S 1075

Caen Normandy University, 1 Boulevard Henri Becquerel, 14000 Caen, France.

Dr Jean-Marie Billard (jean-marie.billard@inserm.fr)

DR2 (Research Director 2nd class) CNRS

1 Boulevard Henri Becquerel, 14000 Caen, France.



Résumé en français

La Maladie d'Alzheimer (MA) est la première cause de démence au monde. Un fort coût de prise en charge, associé à une faible efficacité des traitements actuels font de la découverte d'une thérapie efficace une priorité. Dans ce contexte les récepteurs sérotoninergiques de type 4 (5-HT₄R) représentent une cible prometteuse. En effet, l'utilisation d'agonistes des 5-HT₄R chez l'animal entraîne à la fois des effets pro-mnésiants et anti-amnésiants et une action sur la physiopathologie de cette maladie. Par ailleurs, l'aspect multifactoriel de la MA a conduit à faire émerger ces dernières années un consensus quant à la nécessité du développement de stratégies thérapeutiques multi-cibles.

Dans un premier temps, nous avons démontré l'intérêt de l'association d'un inhibiteur de l'acétylcholinestérase (IACHÉ) - l'un des rares médicaments disponibles, à un agoniste des 5-HT₄R (RS67333) sur les performances de mémoire de travail et de référence chez la souris. Par la suite et afin de mieux comprendre les mécanismes mis en jeu dans les effets anti-amnésiant du RS67333, nous avons étudié les effets de la stimulation des 5-HT₄R sur la plasticité synaptique mesurée au moyen d'une approche *ex vivo* au niveau de la région CA1 de l'hippocampe chez la souris saine NMRI. En effet, la plasticité synaptique, est un élément essentiel des processus d'apprentissage et de mémoire. Une première étude chez la souris saine a montré que la stimulation des 5-HT₄R inhibait la potentialisation à long terme (LTP) induite par stimulation thêta-burst (TBS). Nos résultats suggèrent que l'inhibition de la LTP par l'agoniste est médiée par une modification de la neurotransmission GABAergique. La dernière partie de mes travaux a porté sur un modèle transgénique murin mimant certains des aspects de la MA (souris 5xFAD). Ainsi, si la stimulation des 5-HT₄R conduisait à des résultats similaires en terme de transmission synaptique de base ou de plasticité à long-terme, elle modifie de façon importante la plasticité à court terme. L'ensemble de ces résultats obtenus *ex vivo* nécessiteraient d'être associés à des mesures *in vivo*, pour faire le lien entre les effets sur la plasticité synaptique et les performances de mémoire.

Nos travaux montrent l'existence d'une association entre les 5-HT₄R et la transmission GABAergique dans la modulation de la plasticité synaptique hippocampique de la région CA1. Plus généralement, ils renforcent l'intérêt de stratégies multi-cibles contenant notamment un agoniste des 5-HT₄R.

Résumé en anglais

Alzheimer's disease (AD) is the first cause of dementia in the world. Due to its high cost of care combined with the lack of efficient treatment, the discovery of an effective therapy is a priority. In that regard, 5-HT₄R are a promising target. Indeed, preclinical studies showed promnesic and anti-amnesic effect of 5-HT₄R agonist as well as a disease-modifying effect on amyloid processing. Furthermore, given the multifactorial aspect of AD pathophysiology, there is a consensus concerning the necessity for multi-target therapy to treat effectively this disease.

First, we confirmed the beneficial effect of a combined treatment with galantamine, an IACHÉ, and RS67333, a 5-HT₄R agonist, on working and reference memory performances in a pharmacological model of scopolamine-induced amnesia. Then, for a better understanding of the mechanisms involved in 5-HT₄R stimulation-induced increase in memory performances, we investigated the effects of such stimulation on CA1 area synaptic plasticity. Indeed, synaptic plasticity is a key component of learning and memory processes. Through *ex-vivo* electrophysiological recordings, we demonstrated that 5-HT₄R activation impairs TBS-induced LTP in wild-type healthy mice. Further experiments suggested that such impairment involves a modulation of GABAergic neurotransmission. In addition, a third study on a transgenic model of AD (5xFAD mice) showed similar results.

These results, obtained exclusively *ex vivo*, need to be associated with *in vivo* experiments to close the gap with behavioral experiments and allow an interpretation of memory performances through synaptic plasticity modifications.

Our work shows the existence of an interplay between 5-HT₄R and GABAergic transmission in the regulation of synaptic plasticity in hippocampal CA1 area. Furthermore, we strengthen the interest toward multi-target treatment involving 5-HT₄R agonists in the field of AD.

Mots clés: récepteurs 5-HT₄, maladie d'Alzheimer, plasticité synaptique, système GABAergique, galantamine

Discipline : aspects cellulaires et moléculaires de la biologie

Laboratoire : UMR-S 1075 Mobilités : vieillissement, pathologie santé COMETE

Université de Caen Normandie, Campus Jules Horowitz, Boulevard Becquerel, 14032