



HAL
open science

Hypothyroïdie et processus neurodégénératifs associés à la maladie d'Alzheimer

Amina Chaalal

► **To cite this version:**

Amina Chaalal. Hypothyroïdie et processus neurodégénératifs associés à la maladie d'Alzheimer. Neurosciences [q-bio.NC]. Université Paris Sud - Paris XI, 2014. Français. NNT : 2014PA11T095 . tel-02918042

HAL Id: tel-02918042

<https://theses.hal.science/tel-02918042>

Submitted on 20 Aug 2020

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

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

UNIVERSITE PARIS-SUD

ÉCOLE DOCTORALE 419 : Signalisations et Réseaux Intégratifs en
Biologie, Laboratoire : Centre de Neurosciences Paris-Sud (CNRS UMR 8195)

THÈSE

Pour l'obtention du grade de

DOCTEUR EN NEUROSCIENCES

Présentée par

Amina Chaalal

Hypothyroïdie et processus neurodégénératifs associés à la Maladie d'Alzheimer

Composition du jury:

<i>Rapporteurs :</i>	Marie-Stéphanie Clerget-Froidevaux	Professeure (Muséum d'histoire Naturelle-Paris)
	Benoit Delatour	CR1 (CNRS-Paris)
<i>Examineurs :</i>	Hervé Daniel	Professeur (Université Paris-Sud)
	Anabelle Redonnet	Maître de conférences (Université Bordeaux 1)
<i>Directrice de thèse :</i>	Valérie Enderlin	Professeure (Université Paris-Sud)

Préparée au

Centre de Neurosciences de Paris Sud, UMR CNRS 8195

Université Paris Sud 91405 ORSAY Cedex

Equipe 4 : Mécanismes Cellulaires et Moléculaires de la Plasticité et de la Mémoire.

A mes parents,

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier les différents membres de mon jury, le **Pr. Marie-Stéphanie Clerget-Froidevaux**, le **Dr Anabelle Redonnet**, le **Dr. Benoit Delatour** et le **Pr. Hervé Daniel**, pour l'honneur qu'ils m'ont fait d'accepter de faire partie de mon jury de thèse et d'examiner ce travail.

Je tiens également à remercier le **Pr.Valérie Enderlin**, ma directrice de thèse pour m'avoir donné ma chance dans le monde des Neurosciences, même s'il est bien connu que « le cerveau est un organe périphérique du foie » (*Enderlin, 2011*). Merci de m'avoir fait confiance au cours de ces 3 années de thèse. Je te remercie également pour ta disponibilité malgré un emploi du temps chargé, et pour ton implication dans le travail de correction de ce manuscrit.

Pour m'avoir accueillie au sein de son laboratoire, je remercie le **Dr. Serge Laroche**. Merci de m'avoir permis de réaliser ce travail de thèse dans de bonnes conditions. Je te remercie également pour ta disponibilité : malgré toutes tes responsabilités tu as toujours su trouver le temps pour répondre à mes questions, et pour apporter un regard scientifique, bureautique, voir esthétique, pertinent sur mes travaux de thèse ainsi que sur la rédaction de ce manuscrit.

Je voudrais également remercier le **Dr. Roseline Poirier** pour avoir partagé son expérience du comportement avec moi. Quelle aventure le comportement sur le rat ! Mais nous y sommes finalement arrivés malgré « qu'ils aient eu queue »...

Une partie des résultats présentés dans ce manuscrit n'auraient pas vu le jour sans l'aide précieuse des différentes personnes avec qui nous avons collaboré. Je tiens donc à remercier ici le **Dr. David Blum** pour l'étude de la phosphorylation de la protéine Tau. Merci de m'avoir aidée à évoluer dans le monde des « Tauistes ». Grâce à toi je connais aujourd'hui le grand nord : Lille. Je remercie également **Brigitte Gillet** de l'IR4M pour m'avoir initiée à l'IRM. Un grand merci aussi à **Catherine Sébrié** pour son aide précieuse et ses conseils quant à l'analyse d'images. Je vous remercie toute les deux pour votre pédagogie et votre gentillesse.

Un grand merci aux étudiantes qui ont contribué à l'avancée de ces travaux et qui m'ont fait gagner un temps précieux : **Laurine, Marion et Julie**, Merci les filles ! Je tiens également à remercier ici **Sophie** pour avoir relu avec minutie ce manuscrit.

Les remerciements suivants reviennent bien justement au service animalier pour le travail considérable qu'ils accomplissent chaque jour. Je remercie particulièrement **Calette et Fabien** pour leur GRANDE patience face à ma peur « révolue » (enfin je pense) d'injecter les rats.

Je remercie également tous les membres de l'équipe 4, avec une mention particulière pour **Sabrina Davis** : j'ai beaucoup apprécié nos « *sit in a chair discussion* ».

Je remercie **Pascale Gisquet** pour avoir mis à ma disposition son matériel de comportement. Merci également à **Daniel Toledano**, pour m'avoir initié à Any-Maze, et pour toutes les discussions qu'on a partagé.

Au cours de ma thèse j'ai également eu l'occasion d'effectuer une mission d'enseignement au cours de laquelle j'ai rencontré des personnes « magiques » qui ont rendu cette expérience très plaisante. Merci à vous tous : **Heather, Micaela, Hervé, Laurence, Romain, Pilou, Thomas, Steeve, Rémi, Alex, Yannick, Laura, Amine, Amandine**.

Sans toutefois créer une « Association des Thésards Anonymes », j'ai eu la chance de rencontrer au cours de ma thèse des chercheurs en herbes qui ont été d'un grand soutien dans les « hauts » comme dans les « bas » de cette expérience qu'est la thèse.

Je remercie donc **Alexandra Gros**, 26 ans, du CNPS, pour avoir largement contribué à mon futur diabète. Tu as toujours répondu présente pour un service ou un McDo à minuit sur le parking d'une zone industrielle.

Je remercie **Rémi** pour avoir également contribué à mon futur diabète et à mon addiction aux plantes médicinales. L'informatique et le langage HTML reste pour moi un mystère mais merci de m'avoir aidée à le transmettre. Je te remercie également pour toutes les sessions de psychanalyse et de commérage : c'est bon pour le moral.

Je remercie **Kambiz** pour sa bonne humeur et ses blagues « pas drôles », hilarantes ; mais également **Sumen** qui a toujours le sourire.

Je remercie **Florian**, pour les discussions et délires qu'on a partagés. Je ne pensais pas que c'était possible mais j'avoue que tu me surpasses dans l'ineptie (le savon au lait ?!)

Je remercie **Quentin** pour ses conseils dans les moments difficiles de l'écriture. Merci l'ancien...

Je remercie **Pilou**, le méchant moniteur, pour m'avoir prêté sa grosse voix. Je te remercie pour toutes les discussions et les délires qu'on a pu partager.

Je remercie **Amel**, l'amie des bêtes, pour toutes nos discussions et nos délires. Tu es une personne que j'apprécie vraiment.

Un énorme MERCI à mon compagnon de galère : **Steve Lunion**. Au cours de ces années tu as été un ami mais également un « coach » sportif, nutritionnel, et mental. Désolée pour le résultat.

Un spécial MERCI à **Isabelle Santal**, « ma Best », celle qui a toujours cru en moi même quand je n'y croyais plus. Tu as toujours répondu présente quand je n'allais pas bien, malgré la distance. Tu as toujours trouvé les mots pour me remonter le moral. Merci « Yop Women ».

Enfin je tiens à remercier ma famille. Je n'en serais pas là sans vous. Vous n'avez jamais cessé de croire en moi et de m'encourager. Aucun mot ne saurait exprimer l'ampleur de ma reconnaissance pour votre soutien infaillible.

Sommaire

REMERCIEMENTS	3
SOMMAIRE	5
AVANT-PROPOS	9

PARTIE I : INTRODUCTION BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I : LA MALADIE D'ALZHEIMER	13
1) HISTORIQUE	13
2) LA MALADIE D'ALZHEIMER DEPUIS ALOIS ALZHEIMER...	14
3) SYMPTOMES ET EVOLUTION DE LA MALADIE	15
3.1. LES TROUBLES DE LA MEMOIRE	16
3.1.1. Mémoire épisodique et MA	16
3.1.2. Mémoire sémantique et MA	17
3.1.3. Mémoire de travail et MA	17
3.1.4. Mémoire spatiale et MA	18
3.1.5. Mémoire procédurale et MA	19
3.2. TROUBLES DES FONCTIONS INSTRUMENTALES	19
3.3. TROUBLES DES FONCTIONS EXECUTIVES	20
3.4. TROUBLES DU COMPORTEMENT	20
4) DIAGNOSTIC	22
4.1. CRITERES POUR ETABLIR UN DIAGNOSTIC	22
4.2. RECOMMANDATIONS DE L'HAS (HAUTE AUTORITE DE SANTE) POUR ETABLIR UN DIAGNOSTIC CLINIQUE	23
5) PHYSIOPATHOLOGIE DE LA MALADIE D'ALZHEIMER	25
5.1. AMYLOÏDOGENESE	25
5.1.1. Amyloid Precursor Protein (APP)	26
5.1.2. Métabolisme de l'APP	27
5.1.3. Peptide amyloïde et Maladie d'Alzheimer	31
5.1.4. Régionalisation des plaques amyloïdes	32
5.2. DEGENERESCENCES NEUROFIBRILLAIRES ET PROTEINES TAU	33
5.2.1. Structure et fonctions des protéines Tau	33
5.2.2. Régulation de l'état de phosphorylation de la protéine Tau	35
5.2.3. Hyperphosphorylation de la protéine Tau et Maladie d'Alzheimer	39
5.2.4. Régionalisation des DNF	40
5.3. LA NEUROINFLAMMATION	41
5.3.1. Les médiateurs cellulaires de la réponse inflammatoire	42
5.3.2. Les médiateurs moléculaires de la réponse inflammatoire	44
5.4. PLASTICITE SYNAPTIQUE ET MALADIE D'ALZHEIMER	46
5.4.2. Modifications structurales de la synapse au cours de la MA	46
5.4.3. Modifications de l'efficacité synaptique au cours de la MA	47
5.5. ATROPHIE CEREBRALE	51
6) MODELES ANIMAUX DE LA MA	54
7) FACTEURS DE RISQUE DE LA MA	56

CHAPITRE II : LES HORMONES THYROÏDIENNES	59
1) METABOLISME DES HORMONES THYROÏDIENNES	59
1.1. GENERALITES	59
1.2. SYNTHÈSE ET SÉCRETION DES HT	60
1.3. TRANSPORT PLASMATIQUE ET ENTRÉE DANS LES TISSUS CIBLES	62
2) MODE D'ACTION CELLULAIRE DES HORMONES THYROÏDIENNES	62
2.1 EFFETS GENOMIQUES DES HT	63
2.1.1. Les récepteurs nucléaires TR	63
2.1.2. Les gènes régulés par la triiodothyronine	63
2.2. EFFETS NON-GENOMIQUES DES HT	66
3) LE STATUT THYROÏDIEN	66
3.1. LA RÉGULATION DES TAUX D'HT	67
3.1.1. Axe hypothalamo-hypophyso-thyroïdien	67
3.1.2. Régulation locale par les désiodases	67
3.1.3. Catabolisme des HT	70
3.2. LES DESEQUILIBRES HORMONAUX	71
3.3. L'HYPOTHYROÏDIE	71
3.3.1. Définitions	71
3.3.2. Epidémiologie	72
3.3.3. Signes cliniques	72
3.3.4. Diagnostic	74
3.3.5. Traitement	74
3.3.6. Modèles d'études de l'hypothyroïdie	75

CHAPITRE III : HYPOTHYROÏDIE ET MALADIE D'ALZHEIMER : CONTEXTE ET OBJECTIFS	77
--	-----------

PARTIE II : MATERIELS ET METHODES

1) MODELE D'ETUDE : ANIMAUX ET TRAITEMENTS	81
1.1. CONDITIONS D'ELEVAGE	81
1.2. TRAITEMENTS ET PROTOCOLES EXPERIMENTAUX	81
1.2.1 Mise en place de l'hypothyroïdie	81
1.2.2 Traitement par la T3	81
2) METHODES	82
2.1. QUANTIFICATION DES ARN PAR RT-PCR EN TEMPS REEL	82
2.1.1. Extraction des ARN	82
2.1.2. Préparation des ADN complémentaires	83
2.1.3. Polymérase Chain Reaction (PCR)	83
2.1.4. Analyse des produits d'amplification	85
2.2. WESTERN BLOT	85
2.2.1. Principe	85
2.2.2. Protocole	86
2.3. DOSAGE DE LA T3 SERIQUE	86
2.4. DOSAGE DU TAUX DE PEPTIDES AB-42 DANS L'HIPPOCAMPE	87
2.5. TEST COMPORTEMENTAUX	87
2.5.1. Le test du couloir circulaire (ou cyclotron)	87

2.5.2. Le test du labyrinthe en croix surélevé (Plus-Maze)	88
2.5.3. Le test de l'open-field	89
2.5.4. Le test du labyrinthe aquatique de Morris (Morris Water-Maze)	89
2.5.5. Le test du labyrinthe radial aquatique (Radial Arm Water-Maze)	91
2.5.6. Le test du labyrinthe en Y (Y-Maze)	93
2.6. ETUDE DU VOLUME CEREBRAL ET DU VOLUME DE L'HIPPOCAMPE	94
2.6.1. Conditions d'examen IRM des animaux	94
2.6.2. Dispositif expérimental	95
2.6.3. Choix des paramètres généraux d'imagerie	95
2.6.4. Sacrifice des animaux et études histologiques	96
3. ANALYSES STATISTIQUES	96

PARTIE III : RESULTATS

CHAPITRE I : HYPOTHYROÏDIE ET PROCESSUS NEUROPATHOLOGIQUES ET FONCTIONNELS ASSOCIES A LA MALADIE D'ALZHEIMER 98

1. CONTEXTE ET OBJECTIFS DU TRAVAIL	98
2. METHODOLOGIE	98
3. PRINCIPAUX RESULTATS	100
4. PUBLICATION	101
5. RESULTATS COMPLEMENTAIRES	115
5.1. EFFET DE L'HYPOTHYROÏDIE SUR L'ACTIVITE LOCOMOTRICE	115
5.2. EFFET DE L'HYPOTHYROÏDIE SUR L'ACTIVITE EXPLORATOIRE DANS L'OPEN-FIELD	116
5.3. EFFET DE L'HYPOTHYROÏDIE SUR LE COMPORTEMENT DE TYPE ANXIEUX	117
5.4. EFFET DE L'HYPOTHYROÏDIE SUR L'APPRENTISSAGE ET LA MEMOIRE SPATIALE, EVALUES DANS LE LABYRINTHE AQUATIQUE DE MORRIS	118
5.4.1. Apprentissage spatial	119
5.4.2. Mémoire spatiale	120

CHAPITRE II : EFFET D'UNE ADMINISTRATION DE T3 SUR LES ALTERATIONS NEUROPATHOLOGIQUES ET FONCTIONNELLES ASSOCIEES A L'HYPOTHYROÏDIE 122

1. CONTEXTE ET OBJECTIFS DU TRAVAIL	122
2. METHODOLOGIE	122
3. RESULTATS	123
3.1. LE MODELE	123
3.2. EFFET DU STATUT THYROÏDIEN SUR LA VOIE AMYLOÏDOGENIQUE	125
3.3. EFFET DU TRAITEMENT SUR L'HYPERPHOSPHORYLATION DE TAU	126
3.4. EFFET DU STATUT THYROÏDIEN SUR LA NEUROINFLAMMATION	127
3.5. EFFET DU STATUT THYROÏDIEN SUR LA VOIE CALCIQUE ET LA VOIE ERK-MAPK	129
3.6. EFFET DU STATUT THYROÏDIEN SUR LE COMPORTEMENT DE TYPE ANXIEUX EVALUE DANS LE PLUS-MAZE	132
3.7. EFFET DU STATUT THYROÏDIEN SUR LA MEMOIRE SPATIALE	133
5.7.1. Labyrinthe radial aquatique (RAWM)	133
5.7.2. Labyrinthe en Y (Y-maze)	136

PARTIE IV : DISCUSSION

DISCUSSION GENERALE	140
1. LES PRINCIPAUX RESULTATS	141
2. LE MODELE D'HYPOTHYROIDIE	142
3. L'HYPOTHYROIDIE FAVORISE LA SURVENUE DE LESIONS CARACTERISTIQUES DE LA MALADIE D'ALZHEIMER	143
3.1. ATROPHIE CEREBRALE	143
3.2. LESIONS CELLULAIRES	145
4. STATUT THYROÏDIEN ET MEMOIRE HIPPOCAMPO-DEPENDANTE	149
CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES	153

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ANNEXES

LISTE DES ABREVIATIONS	199
LISTE DES FIGURES	200
LISTE DES TABLEAUX	201
RESUME	202
ABSTRACT	202

Avant-propos

« Vieillir est encore le seul moyen qu'on ait trouvé de vivre longtemps. »
Charles-Augustin Sainte-Beuve

Les progrès scientifiques, notamment ceux de la médecine, ont permis au cours du siècle dernier d'augmenter considérablement l'espérance de vie dans les pays industrialisés. Le vieillissement de la population s'accompagne souvent de maladies associées, comme la démence, qui représentent un problème de santé majeur au 21^{ème} siècle. La maladie d'Alzheimer (MA), qui est la plus fréquente des démences affectant les personnes âgées, est aujourd'hui devenue une priorité de santé publique. L'estimation de la prévalence de cette pathologie en France est de 0,5 % avant l'âge de 65 ans ; elle augmente fortement avec l'âge, pour atteindre plus de 15 % à 80 ans. Actuellement, on estime à 860 000 le nombre de personnes souffrant de cette pathologie en France. Chez les sujets de 65 ans et plus, ce chiffre pourrait atteindre deux millions dans les vingt à trente années à venir, compte tenu de l'augmentation de l'espérance de vie.

La MA est une pathologie neurodégénérative multifactorielle qui se manifeste entre autre, par des troubles de la mémoire, des fonctions exécutives et de l'orientation dans le temps et l'espace. Le malade perd progressivement ses facultés cognitives et son autonomie. Les travaux de recherche menés au cours du dernier siècle ont permis de mettre en évidence deux lésions caractéristiques de la pathologie : les plaques amyloïdes et les dégénérescences neurofibrillaires. Ces deux types de lésions sont chacune associées à un composé protéique : le peptide β -amyloïde pour les plaques amyloïdes, et la protéine Tau hyperphosphorylée pour les dégénérescences neurofibrillaires.

La compréhension des mécanismes impliqués dans la MA a évolué de façon spectaculaire au cours des dernières années ; ces progrès permettent aujourd'hui d'envisager des stratégies thérapeutiques très prometteuses. Cependant, malgré les efforts considérables fournis dans cette voie il n'existe pas, à ce jour, de traitement curatif et les seuls traitements existant visent à ralentir l'évolution des symptômes. Face à l'ampleur de ce problème de santé public, une démarche de prévention complémentaire à la démarche de développement de nouvelles approches thérapeutiques devient une priorité absolue. Cette démarche de prévention s'axe sur deux approches complémentaires : (i) la recherche de biomarqueurs fiables permettant d'établir un diagnostic précoce de la maladie, (ii) le développement de modèles animaux qui intègrent des facteurs de risque : ces derniers devraient contribuer au

développement d'approches préventives mais également à la définition de nouvelles voies moléculaires dont le ciblage pourrait retarder voire réduire l'évolution de la maladie. Les études épidémiologiques laissent supposer que l'exposition à différents facteurs de risques tels que l'inactivité intellectuelle et physique, le diabète, l'hypertension, l'hyperlipidémie ou les troubles cardiovasculaire, tout au long de la vie, influerait sur l'apparition de la maladie. Des données récentes de la littérature suggèrent que l'hypothyroïdie, dont la prévalence augmente avec l'âge, pourrait également être un facteur de risque de la MA.

Dans ce contexte, mon travail de thèse avait pour objectif de préciser le lien entre l'hypothyroïdie et l'apparition de certaines lésions neuropathologiques et fonctionnelles observées dans la MA.

Les données de la littérature présentées dans le chapitre I de la première partie font tout d'abord état des connaissances sur la MA avec des données générales sur la pathologie, ses manifestations cognitives et son diagnostic. Certaines lésions neuropathologiques sont ensuite décrites. Ce chapitre se termine par une brève description des modèles animaux de la maladie et des facteurs de risque. Un second chapitre a été consacré aux hormones thyroïdiennes (HT) avec une description allant de leur synthèse, leur mode d'action à leurs rôles dans le système nerveux central. Cette partie se termine par un chapitre présentant les données de la littérature suggérant l'existence d'un lien entre l'hypothyroïdie et la MA.

La partie II décrit le modèle utilisé et la méthodologie mise en œuvre dans ce travail. Le modèle d'étude est basé sur l'administration de propylthiouracile (PTU) via l'eau de boisson (0.05%) pendant 5 semaines. Cette molécule est un antithyroïdien de synthèse (ATS) qui inhibe la synthèse des HT. Le projet a été mené selon une approche pluridisciplinaire avec la mise en œuvre d'outils de biologie moléculaire (qPCR), de biochimie (Western Blot, Elisa), d'histologie et de comportement (tests d'anxiété, d'activité motrice, de mémoire spatiale à court et long terme). Une collaboration avec une équipe d'imagerie cérébrale a également permis de mettre en œuvre des outils d'imagerie *in vivo*.

Une première étude décrite dans la partie III a consisté à évaluer un ensemble de lésions de la MA dans l'hippocampe des rats ayant reçu du PTU pendant 5 semaines. Dans ce travail, nous avons étudié la phosphorylation de la protéine Tau, le taux de peptides A β -42, le volume cérébral, ainsi que des marqueurs proinflammatoires. La mémoire spatiale des animaux a également été évaluée.

La suite de ce travail de thèse, décrite dans le chapitre II de la partie III, a eu pour objet de tester sur notre modèle expérimental le potentiel de restauration par la T3, forme active des HT, de l'ensemble des altérations moléculaires, biochimiques et fonctionnelles déjà observées chez les animaux hypothyroïdiens. L'effet de l'administration de T3 a été évalué sur les marqueurs cités ci-dessus.

Les résultats obtenus sont confrontés aux données de la littérature dans la discussion qui fait l'objet de la partie IV.

Les résultats de ce travail ont fait l'objet d'une publication acceptée figurant dans la partie III (chapitre I). Les résultats décrits dans la partie III (chapitre II) feront l'objet d'une autre publication qui sera rédigée ultérieurement.

Partie I : Introduction bibliographique

Chapitre I : La Maladie d'Alzheimer

1) Historique

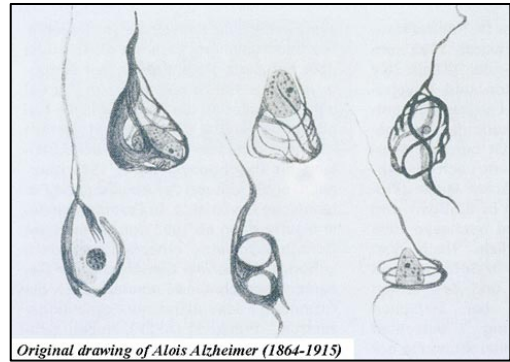
L'histoire de la Maladie d'Alzheimer (MA) s'inscrit dans celle de la démence (Derouesné, 2008). A l'antiquité, la démence désignait ce que nous appelons aujourd'hui « folie » caractérisée par un état confusionnel, des troubles comportementaux et une certaine extravagance. Ce n'est qu'en 1797 que Philippe Pinel introduit une dimension cognitive à ce terme. Il distingue ainsi la folie pathologique de la folie « ordinaire » en lui donnant le nom « d'aliénation mentale ». L'aliénation constitue ainsi une affection unique comportant différents aspects tels que l'idiotie, la manie, la mélancolie et la démence. Son élève, Jean Etienne Esquirol, va par la suite apporter une distinction claire entre l'idiotie et la démence en soulignant le caractère congénital de l'idiotie en opposition avec l'acquisition secondaire de la démence. Il apporte également une définition plus précise de la démence qu'il désigne comme un affaiblissement global des fonctions intellectuelles et de la mémoire. Cependant, à l'époque, rien ne laissait supposer que ces troubles reposaient sur des atteintes neurologiques.

En 1822, Laurent Bayle apporte pour la première fois la démonstration que des troubles mentaux et comportementaux sont liés à des lésions anatomiques. A compter de cette période, deux écoles vont s'opposer sur l'origine des troubles mentaux : les psychistes considèrent que les pathologies mentales reposent sur une origine purement psychologique ; les organicistes privilégient les lésions du cerveau. Ainsi, alors que certains aliénistes doutaient de l'utilité de l'anatomo-pathologie en psychiatrie, Alois Alzheimer (1864-1915) était convaincu que l'histopathologie était un outil nécessaire pour la compréhension et pour la classification des maladies mentales. C'est dans ce contexte que le Dr. Alzheimer, présenta lors d'un congrès d'aliéniste, le 3 novembre 1906, un cas clinique tout à fait particulier : celui d'Auguste Deter, « *Une femme de 51 ans présenta comme premiers symptômes notables des idées de jalousie à l'encontre de son mari. On put ensuite observer des défaillances de la mémoire qui s'aggravèrent rapidement. Elle ne parvenait plus à s'orienter dans sa maison, transportait les objets ici et là, les dissimulait, et parfois, croyant que l'on cherchait à la tuer, elle se mettait à hurler. A l'hôpital, tout son comportement portait la marque d'une totale confusion. Elle était complètement désorientée dans le temps et l'espace... C'est sa mémoire qui était le plus atteinte... Elle ne saisissait apparemment pas le sens de certaines questions et paraissait avoir perdu l'usage de certains objets. Après une évolution de quatre ans et demi,*

la mort survint » (Stelzmann et coll., 1995).

L'examen post-mortem du cerveau a permis de mettre en évidence une atrophie cérébrale diffuse.

L'étude histologique a révélé la présence de « curieuses altérations des neurofibrilles » (dégénérescences neurofibrillaires) ainsi que « de petits foyers miliaires » (plaques amyloïdes) dans le



Original drawing of Alois Alzheimer (1864-1915)

cortex (Stelzmann et coll., 1995). Cette étude a permis d'identifier un processus neuropathologique particulier qui se distingue de la démence sénile par sa symptomatologie, et par la sévérité et la localisation des altérations cérébrales observées. L'année suivante, Emil Kraepelin (1856-1926), clinicien mondialement connu, proposa de regrouper les cas similaires à celui d'Auguste D. sous le nom de « Maladie d'Alzheimer ».

2) La Maladie d'Alzheimer depuis Alois Alzheimer...

Aujourd'hui, la MA se définit comme une pathologie neurodégénérative s'exprimant par des troubles de la mémoire et un déclin cognitif, le plus souvent associés à des troubles comportementaux, et évoluant vers une perte progressive d'autonomie (*livre vert de la Maladie d'Alzheimer*). Elle se caractérise ainsi comme un syndrome démentiel et représente d'ailleurs la principale cause de démence (70% des cas). Par ailleurs, cette pathologie se caractérise par la présence de deux types de lésions cérébrales majeures : les plaques amyloïdes et les dégénérescences neurofibrillaires (DNF) (*Serrano-Pozo et coll., 2011*). Les avancées de la recherche ont rapidement permis de mettre en évidence qu'il existait des formes de la maladie reposant sur des prédispositions génétiques : les formes familiales. Ces formes précoces, qui apparaissent avant 60 ans, ne représentent qu'un faible pourcentage des personnes atteintes de la MA (1%). Les formes de la MA les plus répandues (99%) sont les formes sporadiques qui surviennent plus tardivement (*Mayeux et Stern, 2012*).

Un siècle après l'identification de la MA, sa prévalence ne cesse de croître. En 2010, plus de 35 millions de personnes à travers le monde étaient atteintes de démence avec 7.7 millions de nouveaux cas chaque année (soit une personne toutes les secondes) (*World Health Organization, 2010*). Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), 70% des cas sont attribués à la MA. Les dernières estimations en France sont alarmantes puisque 860 000 personnes sont touchées par cette maladie avec près de 250 000 nouveaux cas diagnostiqués

chaque année. Ces chiffres pourraient doubler d'ici 2020 et tripler en 2040 (*France Alzheimer*).

3) Symptômes et évolution de la maladie

La MA est une maladie neurodégénérative qui associe des troubles prédominants de la mémoire, du comportement, ainsi qu'une atteinte progressive et irréversible des fonctions cognitives et exécutives (*livre vert de la Maladie d'Alzheimer*). La première phase de la maladie est asymptomatique et correspond à la progression à bas bruit des lésions cérébrales (dégénérescences neurofibrillaires et plaques amyloïdes). Au fur et à mesure qu'elles affectent les régions du cerveau, ces lésions vont entraîner l'installation progressive de troubles mnésiques. Ce déclin s'accompagne également d'autres atteintes cognitives, tels que des troubles gnosiques, phasiques, mais également des troubles du comportement et une altération des fonctions exécutives et des capacités intellectuelles. La durée moyenne de l'évolution de cette maladie est de 4 à 8 ans pour des personnes âgées de plus de 65 ans, mais cette durée tend à augmenter aujourd'hui (*Alzheimer's Association, 2012*).

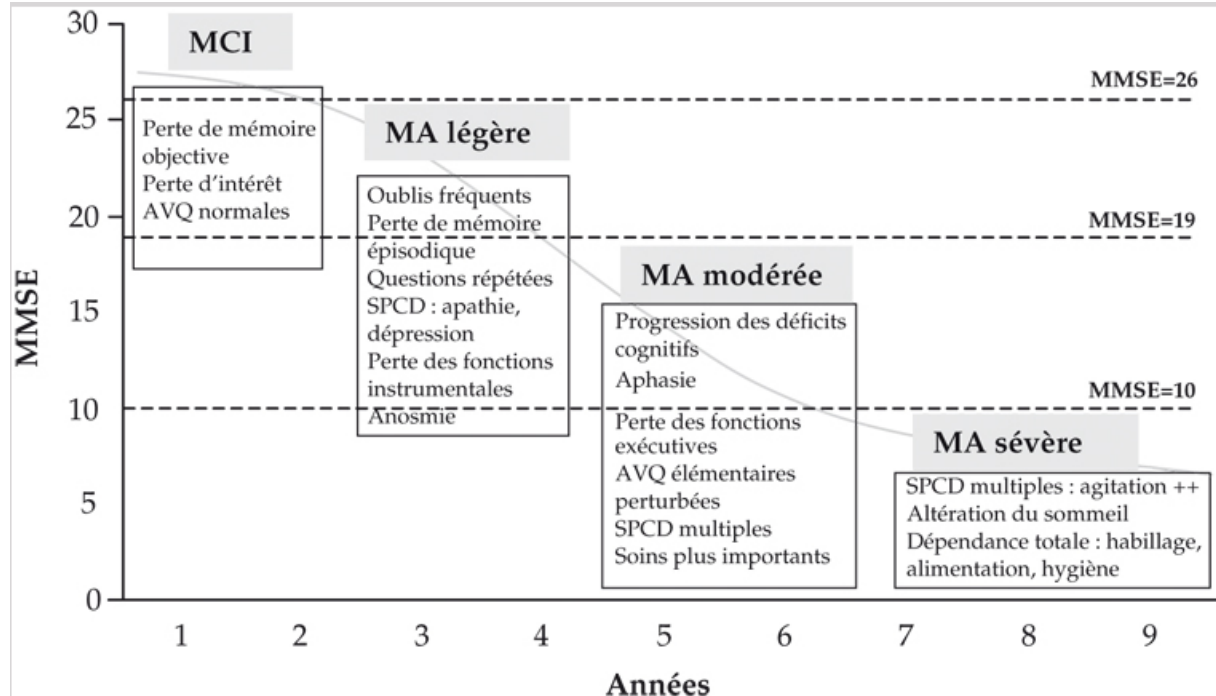


Figure 1 : Représentation schématique de l'évolution des symptômes au cours de la MA. MCI : *Mild Cognitive Impairment* ; SPCD : *Symptômes psychologiques et comportementaux des démences* ; AVQ : *Activités de la vie quotidienne*. (D'après Feldman et Woodward, 2005)

En 2005, *Feldman et Woodward* ont proposé un modèle d'évolution de la maladie tenant compte du degré de sévérité de la maladie et des atteintes cognitives et mnésiques évaluées par le test du MMSE (Mini-mental state examination) (figure 1). Ce test repose sur une série de 30 questions (soit 30 points) permettant d'évaluer différentes composantes cognitives (mémoire, attention, calcul, langage, apprentissage...). Un score inférieur ou égal à 24 points suggère un déficit cognitif. Les résultats illustrés dans la figure 1 font apparaître que les premiers signes de la maladie sont les atteintes de la mémoire, avec une atteinte progressive des différentes formes de mémoires au cours de la maladie. A un stade plus avancé de la maladie les fonctions cognitives sont également atteintes, avec une répercussion sur les activités de la vie quotidienne (AVQ). Enfin à un stade plus sévère de la maladie, les fonctions exécutives et la mémoire procédurale sont touchées entraînant une perte d'autonomie totale du patient. L'évolution de la maladie s'accompagne également de troubles comportementaux.

3.1. Les troubles de la mémoire

Une profonde détérioration de la mémoire représente généralement le premier symptôme de la maladie et ce dès le stade pré-démontiel. Les théories actuelles considèrent que la mémoire est constituée de différents systèmes fonctionnels (mémoire épisodique, sémantique, procédurale...), qui sont atteints de façon différentielle au cours de la maladie.

3.1.1. Mémoire épisodique et MA

Parmi ces différents systèmes de mémoire, la mémoire épisodique est à la fois la plus élaborée et la plus vulnérable (*Eustache et Desgranges, 2003*). Cette forme de mémoire est définie comme la capacité à apprendre, stocker et rappeler des informations spécifiques d'un événement personnel replacé dans son contexte temporel et spatial (*Tulving, 1972*). Elle fait donc appel à un souvenir autobiographique et joue un rôle essentiel dans la construction de l'identité de chacun. L'atteinte de cette composante mnésique fait le plus souvent objet de plaintes de la part des malades et de leur entourage avant même la survenue des premiers signes de démence. Cela peut se manifester par différents symptômes tels que des questions ou discussions répétitives, la perte d'objets personnels, ou encore l'oubli d'événements ou de rendez-vous. Cependant, bien que l'ensemble des chercheurs s'accorde à dire que la mémoire épisodique est atteinte dès les premiers stades de la maladie, la nature des processus déficitaires sous-jacents est encore incertaine. Ces déficits seraient le reflet de l'altération d'une ou de plusieurs étapes de l'encodage, de la consolidation, du stockage et/ou de la

récupération des souvenirs. Les travaux de *Bondi et coll. (1994)* ont, par exemple, mis en évidence des troubles du stockage de l'information, engendrant un taux d'oubli plus important. D'autres études menées par *Lipinska et coll. (1997)*, révèlent que la phase de récupération serait également perturbée. En effet, la présentation d'indices permet, chez les patients atteints de la MA, d'améliorer le rappel sans pour autant parvenir à le normaliser. A ces études s'opposent entre autre les travaux de *Greene et coll. (1995)* qui suggèrent que les altérations mnésiques observées seraient imputées à des difficultés dans les capacités à encoder de nouvelles informations plutôt qu'à une altération des processus de rappel ou encore à une accélération de l'oubli. *Moulin et coll. (2004)* quant à eux incriminent une perturbation des processus d'encodage et de consolidation. Il est également intéressant de relever qu'outre leurs difficultés à acquérir de nouvelles informations, les patients atteints de la MA éprouvent des difficultés à restituer des souvenirs personnels. En début de maladie, on note une meilleure préservation des souvenirs anciens par rapport aux souvenirs récents. Ce gradient temporel semble être dû à la sémantisation des souvenirs anciens, tandis que les souvenirs strictement épisodiques, sont altérés quelle que soit la période de la vie explorée (*Ivanoiu et coll., 2006*).

3.1.2. Mémoire sémantique et MA

Oublier le nom d'un objet, éprouver des difficultés à trouver ses mots, ou à comprendre le sens de certains termes, constituent également des problèmes communs rencontrés chez les patients atteint de la MA. Il est largement reconnu que ces déficits de langage proviennent d'une altération de la mémoire sémantique (*Tulving, 1972*). Ce type de mémoire correspond à la mémoire des mots, des concepts, des connaissances sur le monde ou sur soi-même, indépendamment de leur contexte d'acquisition (*Tulving, 1972*). Elle est perturbée très tôt, et va se détériorer graduellement au cours de la maladie (*Adlam et coll., 2004 ; Mardh et coll., 2013*). Ces perturbations peuvent traduire, soit une altération des processus de récupération de l'information, soit une perte de l'information (*Hodge et coll., 1992 ; Flanagan et coll., 2013*).

3.1.3. Mémoire de travail et MA

Au début de la maladie, les patients présentent également des déficits de mémoire de travail (*Kopelman, 1985 ; Baddeley et coll., 1991*). La mémoire de travail se réfère à un système permettant le stockage et la manipulation d'informations nécessaires à des tâches cognitives aussi complexes que la compréhension du langage, l'apprentissage temporaire et le

raisonnement (*Baddeley, 1992*). Selon le modèle de Baddeley et Hitch, cette mémoire est constituée de trois composantes :

- l'administrateur central, qui est un système de contrôle attentionnel et de coordination des systèmes esclaves (boucle phonologique et calepin visuo-spatial). Il intègre les informations issues des deux sous-systèmes et les met en relation avec d'autres sources (mémoire à long terme).
- la boucle phonologique est un système spécialisé dans le stockage et le traitement des informations verbales.
- le calepin visuo-spatial est un système chargé du traitement des stimuli visuels.

De nombreux travaux ont permis d'évaluer les performances de patients atteints de la MA en utilisant des tests permettant d'étudier les différentes composantes de la mémoire de travail. La plupart de ces tests reposent sur le principe de la double tâche et évaluent l'aptitude du patient à maintenir à court terme des informations, tout en partageant son attention avec un traitement cognitif concurrent. Ces études ont montré que les patients atteints de la MA éprouvent de grandes difficultés dans ces tâches qui nécessitent la réalisation spontanée de deux paradigmes (*Baddeley et coll., 2001*). Ces déficits ont été imputés à une atteinte de l'administrateur central, et cette atteinte retentirait sur les autres composantes de la mémoire de travail.

3.1.4. Mémoire spatiale et MA

Dans les premiers stades de la maladie, les patients vont également se plaindre de désorientation dans l'espace et ce, même dans des endroits familiers (*Amieva et coll., 2005*). Ces altérations de mémoire spatiale sont retrouvées dès le stade prédéméntiel, ce qui en fait un bon indicateur précoce de la mise en place de la maladie. La mémoire spatiale est définie comme la capacité à encoder, stocker et rappeler des informations spatiales dans le but de construire une représentation mentale de l'environnement (ou carte cognitive). Aujourd'hui, on sait que l'hippocampe joue un rôle important dans les processus de mémorisation spatiale (*Abrahams et coll., 1999 ; Maguire et coll., 1996 ; Maguire et coll., 1998 ; Maguire et coll., 1999*). Chez les patients atteints de la MA, les altérations de mémoire spatiale observées sont le reflet de la mise en place précoce des lésions histopathologiques au niveau de l'hippocampe et d'une atrophie de cette structure (*Braak et Braak, 1991*).

3.1.5. Mémoire procédurale et MA

La MA affecte donc en priorité la mémoire épisodique, sémantique, spatiale et de travail. En revanche la mémoire procédurale, qui met en jeu des processus automatiques basés sur le rappel inconscient d'un apprentissage antérieur (*Schacter et Tulving, 1994*), semble plus résistante, surtout lors des premiers stades de la maladie. Certains auteurs rapportent que l'altération des autres types de mémoires (mémoire épisodique, mémoire de travail...) interfère avec l'apprentissage, avant que celui-ci ne soit automatisé (*Beaunieux et coll., 2006*). Par contre, les procédures déjà acquises sont relativement résistantes à la maladie (*Beatty et coll., 1994 et 1997*).

3.2. Troubles des fonctions instrumentales

Bien que les troubles mnésiques représentent une part importante des symptômes de la maladie, on retrouve également, avec la progression de la maladie, une altération des fonctions instrumentales.

Les aphasies désignent des troubles du langage. Ces troubles peuvent apparaître à tous les stades de la maladie. Les premières perturbations apparaissent en début de maladie et se traduisent par un appauvrissement du répertoire lexico-sémantique. Les patients mettent alors en place des compensations en utilisant des paraphrases sémantiques (« fleur » pour « rose »...). A un stade plus avancé, le manque de mot augmente et les patients sont contraints d'utiliser des périphrases. A un stade sévère de la maladie, le discours se fait de plus en plus pauvre, plongeant le patient dans un mutisme complet (*Faber-Langendoen et coll., 1988 ; Barkat-Defradas et coll., 2008*).

L'apraxie est un ensemble de troubles de l'exécution intentionnelle d'un comportement moteur finalisé en l'absence de déficit moteur ou sensitif élémentaire. Ces troubles sont fréquemment observés aux stades relativement avancés de la MA. Ils se traduisent par une perte d'autonomie dans des tâches de la vie quotidienne : s'habiller, cuisiner... (*Lesourd et coll., 2013*).

L'agnosie fait également partie de la symptomatologie de la MA. Elle se définit comme un déficit de l'identification perceptive (visuelle, auditive, tactile, corporelle). Par exemple, à un stade avancé de la maladie, les patients présentent des difficultés à reconnaître des objets ou des visages familiers (*Helmes et Ostbye, 2002*).

3.3. Troubles des fonctions exécutives

Au cours de la progression de la maladie, des déficiences dans d'autres domaines cognitifs tels que les fonctions exécutives sont observées. Elles regroupent les compétences cognitives responsables de l'organisation, la prise de décision, l'inhibition, et la flexibilité mentale. La détection et l'évaluation des altérations des fonctions exécutives sont un enjeu important au vu des répercussions importantes que celles-ci peuvent avoir sur le quotidien des patients. Les études visant à évaluer les fonctions exécutives au cours de la MA rapportent notamment des déficits sévères dans toutes les tâches impliquant une grande flexibilité cognitive. Par exemple, *Slavin et coll. (2002)* ont montré, en utilisant le paradigme local-global de Navon, que les patients atteints de la MA ont des difficultés à passer d'une échelle à une autre entre les différents essais. Ces résultats mettent en évidence des déficits dans leurs capacités à désengager (inhiber) leur attention d'une échelle pour basculer vers une autre, ce qui suggère une atteinte de leur flexibilité mentale. D'autres études ont également mis en évidence des déficits dans des tâches d'attention partagée (*Baddeley et coll., 1986*).

3.4. Troubles du comportement

La MA est aujourd'hui considérée comme une pathologie dégénérative pour laquelle il est impossible d'occulter la dimension psycho-comportementale. Associés aux troubles cognitifs, les troubles comportementaux sont retrouvés tout au long de la maladie et provoquent un changement de la personnalité du patient. Ainsi *Benoit et coll. (2003)* rapportent dans leur étude menée sur la cohorte REAL.FR (Recherche sur la maladie d'Alzheimer Français) que 92% des patients avec un MMSE entre 11 et 20 et 84% des sujets avec un MMSE compris entre 21 et 30 présentent des troubles du comportement. Les résultats des études transversales obtenus sur 2354 patients atteints de la MA et provenant d'un des 12 centres du Consortium Européen sur la MA ont permis d'étudier la fréquence de ces déficits chez les patients (*Aalten et coll., 2007*). L'apathie est le syndrome le plus commun, développé chez 55% des patients. L'anxiété et la dépression sont également très fréquentes avec 37% de patients touchés. Les symptômes les plus rares sont les hallucinations (9.1%), l'euphorie (4.9%) et la désinhibition (9.5%). Cependant les symptômes peuvent varier au cours du temps, et en fonction des stades d'évolution de la maladie. La fréquence tend généralement à augmenter avec la sévérité du déficit cognitif même si des pics peuvent survenir à des moments particuliers de l'évolution. Par exemple, les symptômes dépressifs ou l'apathie sont présents tout au long de la maladie avec une fréquence qui augmente avec la sévérité de la

maladie. A l'opposé, les hallucinations sont retrouvées au début de la maladie mais disparaissent dans les stades sévères de la maladie. Le tableau I présente les résultats de l'étude américaine de *Mega et coll. (1996)* portant sur une population de 50 patients. Ils confortent ceux obtenus dans l'étude européenne REAL.FR (*Benoit et coll., 2003*).

Tableau I: Percentage of Alzheimer's disease patients with behaviors present in the three stages of dementia severity as measured by the MMSE.

	Mild % (n = 17)	Moderate % (n = 20)	Severe % (n = 13)	Total % (n = 50)
Delusions	12	25	31	22
Hallucinations	12	15	8	10
Agitation	47	55	85	60
Dysphoria	12	45	62	38
Anxiety	24	65	54	48
Euphoria	18	0	8	8
Apathy	47	80	92	72
Disinhibition	35	40	31	36
Irritability	35	40	54	42
Aberrant motor	12	30	84	38

MMSE = Mini-Mental State Examination ; Mild = MMSE scores 21-30 ; Moderate = MMSE scores 11-20 ; Severe = MMSE scores 0-10. (*D'après Mega et coll., 1996*)

Les données de la littérature décrites ci-dessus mettent en évidence que la MA se caractérise par des altérations cognitives très larges, avec des troubles prédominants de la mémoire mais également des altérations des fonctions instrumentales, exécutives et attentionnelles. Ces atteintes cognitives s'accompagnent généralement d'atteintes psychocomportementales. Certaines données de la littérature, non décrites dans ce document, rapportent également des troubles moteurs et des altérations sensorielles précoces telles que des dysfonctionnements olfactifs (Huttenbrink et coll., 2013 ; Albers et coll., 2014). Ces données restent controversées mais certains auteurs suggèrent que les déficits olfactifs pourraient être considérés comme des indicateurs précoces de la MA.

4) Diagnostic

4.1. Critères pour établir un diagnostic

La MA demeure mal diagnostiquée. On considère en effet qu'un diagnostic est posé seulement dans un cas sur deux, et ce déficit touche principalement les malades les plus jeunes et les plus âgés. De plus, la maladie est essentiellement identifiée lors du stade avancé, ce qui retarde de manière préjudiciable la prise en charge médicale et médico-sociale des patients et alourdit la charge des familles.

Sur le plan clinique, la MA a été décrite comme une entité clinico-pathologique double qui pour être complètement vérifiée requiert, (1) la mise en évidence d'un syndrome démentiel (2) des changements neuropathologiques spécifiques incluant des lésions intraneuronales (dégénérescences neurofibrillaires) et extraneuronales (plaques séniles) souvent accompagnées de pertes synaptiques et de dépôts amyloïdes vasculaires (*Dubois et coll., 2010*). Cependant, étant donné que l'examen histopathologique des lésions ne peut être établi que post-mortem, et qu'il n'existe pas à ce jour de bio-marqueurs fiables, ce diagnostic reste incertain. Il se base donc sur un ensemble de critères définis par le DSM V (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorder) et le NINCDS-ADRDA (National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke et the Alzheimer's Disease and Related Disorders Association). Ces critères reposent dans un premier temps sur la mise en évidence d'un syndrome démentiel.

Le DSM V a proposé une série de critères permettant de diagnostiquer une démence : il s'agit de troubles de mémoire associés à la perturbation d'au moins une autre fonction cognitive (langage, praxie, gnosie, fonctions exécutives...) suffisamment sévères pour retentir sur les activités de la vie quotidienne. Une fois le syndrome de démence établi, les critères de *McKhann et coll. (2011)* permettent de retenir le diagnostic de maladie d'Alzheimer :

- Installation progressive du syndrome démentiel.
- Absence de maladie cérébrale ou systémique pouvant être à l'origine des troubles mnésiques et cognitifs (tumeur cérébrale, hydrocéphalie à pression normale, hématorne sous-dural, maladie cérébro-vasculaire, maladie de Parkinson, maladie de Huntington, carence vitamine B12, hypothyroïdie, hypercalcémie, neurosyphilis, syndrome d'immunodéficience acquise (SIDA), schizophrénie...).
- Les troubles représentent un déclin par rapport à un état antérieur.

Ensuite, les critères du NINCDS-ADRDA permettent d'établir le diagnostic d'une MA possible, probable ou certaine en fonction des éléments suivants :

- MA possible : lorsque l'évolution de la maladie est atypique, ou lorsque le patient présente tous les critères d'une MA mais qu'une autre maladie coexistante pourrait expliquer une partie des troubles observés (accident vasculaire cérébral (AVC), démence à corps de Lewis...).
- MA probable : lorsque l'ensemble des critères cités ci-dessus est rassemblé. Cette probabilité augmente si le sujet présente une mutation génétique caractéristique d'une forme familiale de la maladie (APP, PS1, PS2).
- MA certaine : lorsque le sujet présente l'ensemble des critères cités ci-dessus et que l'examen histopathologique post-mortem du cerveau révèle la présence des lésions caractéristiques de la maladie (DNF, plaques séniles).

D'une façon générale, les critères de *McKhann et coll. (2011)* ont une spécificité de l'ordre de 70% pour le diagnostic de MA probable avec confirmation post-mortem.

4.2. Recommandations de l'HAS (Haute Autorité de Santé) pour établir un diagnostic clinique

Les recommandations de l'HAS (2011) stipulent que la démarche diagnostique pour un patient qui consulte pour des troubles de mémoires ou des troubles cognitifs doit comporter une évaluation initiale effectuée par le médecin traitant. Cette évaluation contient :

- Un entretien avec le patient et avec un accompagnant capable de donner des informations fiables sur les antécédents médicaux personnels et familiaux, les traitements antérieurs et actuels, l'histoire de la maladie et le retentissement des troubles sur les activités quotidiennes de la vie du patient.
- Un examen clinique afin d'apprécier l'état général du patient, le degré de vigilance, et l'éventuelle présence de déficits sensoriels, moteurs, ou encore de problèmes cardiovasculaires.
- Une évaluation fonctionnelle permettant d'évaluer le retentissement des troubles sur la vie quotidienne du patient à l'aide de l'échelle simplifiée des activités instrumentales de la vie quotidienne (IADL simplifié (Instrumental Activities of Daily Living)).
- Une évaluation cognitive globale à l'aide, notamment, du Mini-Mental State Examination (MMSE). D'autres tests peuvent également être utilisés tels que des tests de mémoire (épreuve de rappel des 5 mots...), des tests de fluence verbale...

- Des examens paracliniques : ces examens comprennent des analyses biologiques qui ont pour objectif d'éliminer des pathologies pouvant être à l'origine des troubles cognitifs observés (dosage de la TSH (Thyroid stimulating hormone), hémogramme, natrémie, calcémie, glycémie, albuminémie et un bilan rénal, dosage de la vitamine B12, bilan hépatique, VIH (virus de l'immunodéficience humaine), sérologie syphilitique...). Une imagerie cérébrale systématique est également recommandée dans le but (1) d'éliminer des pathologies telles qu'une hydrocéphalie, un accident vasculaire..., (2) de mettre en évidence une atrophie cérébrale spécifique.

Si après cette première évaluation, les résultats sont en faveur d'un déclin cognitif le patient sera confié à un spécialiste pour suivre des examens plus approfondis :

- Une évaluation fonctionnelle approfondie : le retentissement sur la vie quotidienne doit être plus précisément évalué par différents tests (IADL, ADL : Activity of Daily Living, DAD : Disability Assessment for Dementia) afin de mettre en œuvre des mesures d'aides au quotidien.
- Une évaluation psychique et comportementale afin de rechercher (1) les signes d'une dépression qui peut parfois se présenter sous l'aspect d'un syndrome démentiel, (2) des troubles affectifs, comportementaux, ou psychiatrique (apathie, anxiété, irritabilité...) pouvant être observés lors du développement de la MA (Utilisation d'échelles tels que le NeuroPsychiatric Inventory : NPI).
- Une évaluation neuropsychologique : cette étape vise à évaluer chacune des fonctions cognitives : mémoires, fonctions exécutives, attention et fonctions instrumentales, afin de dresser un profil cognitif du patient.
- Des examens paracliniques spécialisés peuvent être proposés dans des cas où le diagnostic est difficile à poser ou si l'évolution de la maladie est atypique. Ils comprennent par exemple (1) des examens d'imagerie cérébrale afin d'écartier l'hypothèse d'une dégénérescence fronto-temporale, (2) une analyse du liquide céphalo-rachidien (LCR) afin d'évaluer les niveaux de protéine Tau et de peptide β -amyloïde ($A\beta$), une étude génétique chez les patients ayant des antécédents familiaux.

La MA débute bien avant le stade démentiel par l'installation à bas bruit des lésions histopathologies et par l'apparition de troubles cognitifs. L'évolution se fait sur plusieurs années avec l'apparition d'une dépendance progressive et un retentissement sur les activités de la vie quotidienne (toilette, habillage, alimentation, déplacement) et sur l'entourage. Le diagnostic de la MA ne peut être établi avec certitude que grâce à des preuves anatomopathologiques ou à la découverte de mutations génétiques. Afin d'établir un diagnostic clinique précoce, différents examens permettent d'évaluer l'atteinte cognitive et la mise en place d'une démence de type Alzheimer. Cependant, les personnes diagnostiquées avec ces critères sont déjà arrivées au stade démentiel de la maladie. Or il paraît indispensable de pouvoir détecter la maladie au plus tôt. Ces dix dernières années ont été le témoin d'une nette évolution dans le champ diagnostic de la MA. Le diagnostic clinique s'est notamment enrichi grâce à l'identification de biomarqueurs biologiques, et aux avancées en matière d'imagerie morphologique et fonctionnelle.

5) Physiopathologie de la Maladie d'Alzheimer

Comme nous l'avons mentionné précédemment, le diagnostic définitif de la MA ne peut être posé avec certitude qu'après un examen cérébral post-mortem mettant en évidence les marqueurs physiopathologiques spécifiques de la MA : les plaques séniles et les dégénérescences neurofibrillaires (DNF). Ces lésions caractéristiques de la MA sont généralement associées à de nombreuses autres lésions telles qu'une neuroinflammation, un dysfonctionnement cholinergique, un stress oxydatif... Cependant, la contribution de chacune de ses lésions est différente, et le niveau de leur implication dans l'étiologie de la MA n'est pas clairement établi. Dans cette partie, sont mentionnées les données de la littérature concernant (i) les processus conduisant à la formation et au dépôt du peptide amyloïde et de la protéine Tau puis (ii) certaines autres lésions majeures de la MA : la neuro-inflammation, les perturbations synaptiques et neuronales, ainsi que l'atrophie cérébrale qui accompagnent cette maladie.

5.1. Amyloïdogenèse

L'analyse histopathologique du cerveau des patients atteints de la MA révèle la présence de dépôts d'une substance sphérique, plus ou moins compacte : il s'agit des plaques amyloïdes. Ces plaques amyloïdes sont constituées d'un polypeptide appelé peptide amyloïde

(A β). Ce peptide est un produit catabolique normal dérivé d'une protéine nommée APP (amyloid precursor protein).

5.1.1. Amyloid Precursor Protein (APP)

APP est la protéine précurseur du peptide amyloïde. Elle appartient à la famille des protéines précurseurs amyloïdes qui comprend, chez les mammifères, APP et les protéines APLP1 (APP-like protein 1) et APLP2 (APP-like protein 2) (*revue dans Evin et Li, 2012*). Seule APP génère un fragment amyloïdogénique. Le gène codant pour APP a été localisé sur le chromosome 21 (au locus 21q21) et comprend 18 exons (*Jenkins et coll., 1988*). Il est exprimé dans une grande variété de tissus chez les mammifères (cerveau, rein, poumon, foie, cœur) mais son expression est particulièrement élevée au niveau du système nerveux, dans les neurones mais également dans certaines cellules gliales (*Selkoe, 1994*). L'épissage alternatif génère plusieurs isoformes de cette protéine, dont le nom dépend du nombre d'acides aminés. Dans le système nerveux central (SNC), les isoformes majoritairement présentes sont APP695, APP751, et APP770 (figure 2) ; l'isoforme APP695 est prépondérante dans les neurones (*revue dans Evin et Li, 2012 ; Tanaka et coll., 1989*).

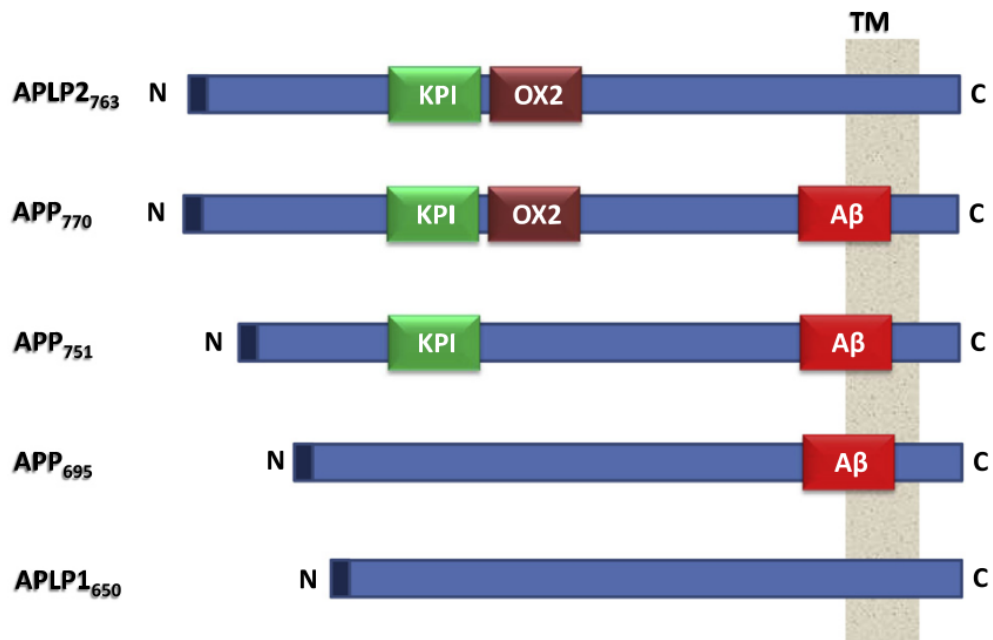


Figure 2 : Structure des différents membres de la famille de protéines APP. Ce sont toutes des glycoprotéines trans-membranaires de type I. La séquence amyloïde contient 42 résidus amino-acides qui se trouvent partiellement à l'extérieur de la membrane cellulaire et s'étendent jusqu'au domaine trans-membranaire de la protéine. (*D'après Nalivaeva et coll., 2013*).

La protéine APP possède un seul domaine transmembranaire, un très large domaine N-terminal (environ 650 à 700 acides aminés) situé dans l'espace extracellulaire ainsi qu'un court domaine C-terminal (47 acides aminés) situé dans le cytoplasme (*Dyrks et coll., 1988 ; Kang et coll., 1987*). Le fragment peptidique correspondant au peptide A β est une séquence de 42 acides aminés. Bien qu'il ait été démontré chez diverses espèces qu'APP présente une séquence d'acides aminés très conservée, il s'avère que chez le rongeur, la région correspondant au peptide A β diffère de celle de l'homme de 3 acides aminés (Arg5 substituée par Gly, Tyr10 par Phe et His13 par Arg). Cette différence de séquence rend le peptide A β du rongeur moins enclin à former des agrégats amyloïdes (*Fraser et coll., 1992*).

Même si le rôle physiologique de APP n'a pas été clairement défini, il semblerait qu'il soit impliqué dans l'adhésion cellulaire (cellule-cellule et cellule-surface) (*Breen et coll., 1991*), la croissance neuritique ainsi que dans la formation des synapses (*Kamal et coll., 2000 ; Priller et coll., 2006 ; revue dans Gralle et Ferreira, 2007 et Nalivaeva et Turner, 2013*). Son expression est augmentée pendant la différenciation neuronale et après atteinte de l'intégrité neuronale. Des rôles dans la signalisation cellulaire et la potentialisation à long terme ont été également suggérés (*revues dans Turner et coll., 2003 ; Zheng et coll., 2006*).

5.1.2. Métabolisme de l'APP

Après sa traduction et son transport dans le réticulum endoplasmique où elle subit les premières étapes de glycosylation, la protéine APP est transportée vers la membrane plasmique à travers l'appareil de Golgi, au sein duquel vont s'effectuer ou s'achever les différentes modifications post-traductionnelles. A ce stade APP peut être sécrétée ou rester ancrée à la membrane. A partir de la membrane plasmique, une fraction de l'APP peut être internalisée et livrée aux endosomes. Une fois qu'elle atteint le compartiment endosomal, APP peut de nouveau être redirigée vers la membrane plasmique ou être dirigée vers les lysosomes pour être dégradée (figure 3) (*Thinakaran et Koo, 2008*).

De fait, d'un point de vue cellulaire, APP peut donc être localisée dans différentes structures membranaires comme le réticulum endoplasmique, l'appareil de Golgi, certains organites vésiculaires ou encore la membrane cellulaire. Il semblerait d'ailleurs qu'elle puisse subir des clivages enzymatiques différents en fonction du compartiment intracellulaire où elle est située (*Huse et Doms, 2001 ; Thinakaran et Koo, 2008 ; O'Brien et Wong, 2011 ; Brunholz et coll., 2012*).

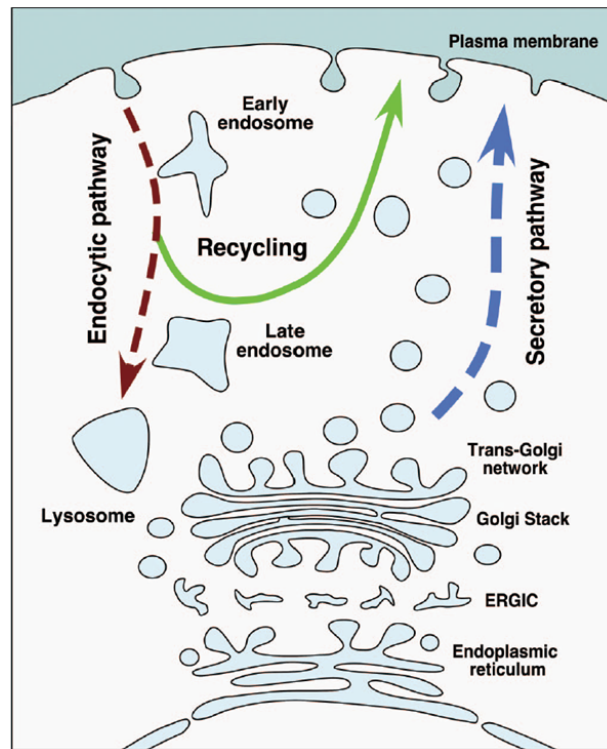


Figure 3 : Trafic intracellulaire de la protéine APP. Les protéines APP naissantes vont maturer via la voie sécrétoire constitutive. Lorsqu'APP atteint la surface de la cellule, elle est rapidement internalisée dans les endosomes. Elle va ensuite pouvoir être soit recyclée à la surface de la cellule soit dégradée par la voie lysosomale. Le clivage d'APP par la voie non-amyloïdogénique se produit principalement à la surface de la cellule où l' α -sécrétase est présente. La voie amyloïdogénique quant à elle s'effectue en transit par les organites d'endocytose où l'APP rencontre la β -sécrétase. *(D'après Kulandaivelu et coll., 2006)*

Il existe deux grandes voies de clivage d'APP : une voie dite non-amyloïdogénique qui n'aboutit pas à la formation de peptides amyloïdes et une voie dite amyloïdogénique qui est à l'origine des peptides amyloïdes (*Selkoe, 1994*).

a) La voie non-amyloïdogénique (ou physiologique)

La voie non-amyloïdogénique, qui intervient principalement à la surface cellulaire (*Parvathy, 1999*), débute par l'action de l' α -sécrétase qui clive APP au sein même du fragment A β (figure 4a), empêchant ainsi la formation du peptide amyloïde (figure 4b). Ce clivage a lieu dans l'espace extracellulaire. Trois membres de la famille ADAM (A disintegrin and metalloproteinase) ont été considérés comme de bons candidats pour l'activité α -sécrétase, à savoir ADAM17 aussi appelé TACE (Tumor Necrosis α Converting Enzyme), ADAM10 et ADAM9 (*Kuhn et coll., 2010*). Ce premier clivage de l'APP par l' α -sécrétase, génère deux fragments : le fragment N-terminal sAPP α aux propriétés neurotrophiques (*Caillé et coll., 2004 ; Demars et coll., 2013*) et le fragment membranaire C-terminal C83 (α -

CTF). Le fragment C83 est un fragment membranaire qui peut subir un clivage par la γ -sécrétase donnant ainsi deux nouveaux fragments : le P3 aux propriétés encore inconnues et l'AICD (APP intracellular domain) facteur de transcription (*von Rotz et coll. 2004; Kimberly et coll., 2001*). Cette γ -sécrétase est un complexe multi-protéique de haut poids moléculaire, constitué des présénilines PS1 et PS2, de la nicastrine, et de deux protéines membranaires Aph-1 (Anterior pharynx-defective phenotype 1) et Pen-2 (Presenilin enhancer 2) (*Wolfe et coll., 1999; Li et coll., 2000; Marlow et coll., 2003; Francis et coll., 2002; Lee et coll., 2002*). Nicastrine et Aph-1 stabiliseraient les présénilines dans le complexe tandis que Pen-2 serait nécessaire au clivage endo-protéolytique des présénilines qui confère l'activité catalytique γ -sécrétase (*Strooper, 2003*).

b) La voie amyloïdogénique (ou pathologique)

La voie amyloïdogénique, qui intervient principalement au sein du système endosomal/lysosomal, est caractérisée par l'action séquentielle de deux sécrétases qui clivent l'APP pour libérer le peptide A β (figure 4c). Dans un premier temps, APP est clivé par la β -sécrétase, enzyme également appelée BACE (β -site APP Cleaving Enzyme). BACE peut cliver APP en deux sites distincts (figure 4a) :

- au niveau de l'aspartate 1, qui est la coupure normale donnant les peptides amyloïdes (1-X)
- mais également au niveau du résidu glutamate 11, décrit comme un site de clivage alternatif de l'APP (clivage β' -sécrétase) et donnant lieu à des peptides amyloïdes plus courts (11-X).

Ce clivage conduit à la sécrétion du fragment N-terminal sAPP β plus court que le sAPP α et à la formation du fragment C-terminal C99 constitué de la totalité du peptide A β et de la queue cytoplasmique. Le fragment C99 subit alors un second clivage par la γ -sécrétase qui libère le peptide A β dans le milieu extracellulaire et l'AICD dans le milieu intracellulaire. Ce clivage produit des variantes du peptide A β , en A β (11-X) et A β (1-X) avec X=38 à 43 (*Kummer et Heneka, 2014*). Les peptides majoritaires issus de la voie amyloïde sont chez les sujets sains (*Seubert et coll., 1992*) :

- La forme courte A β -40, la plus abondante (90% des peptides sécrétés) : cette forme possède des capacités d'agrégation lentes.
- La forme longue A β -42 (majorité des 10% restants), qui s'agrège plus rapidement et est à l'origine des principaux effets toxiques.

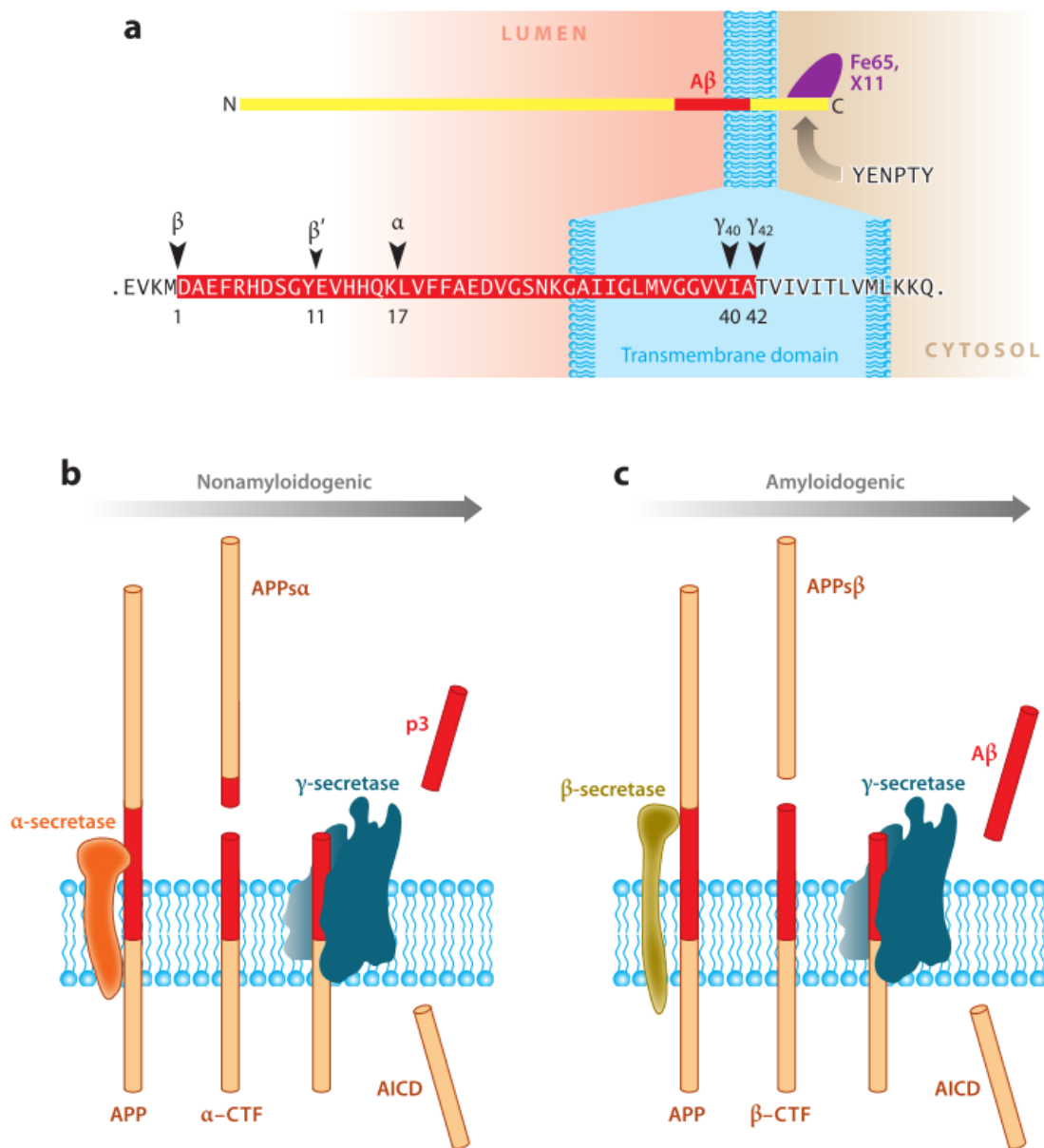


Figure 4 : Maturation protéolytique de la protéine APP. **(a)** Représentation schématique de la structure de l'APP avec le domaine Aβ représenté en rouge. Les sites de clivage par les α-, β- et γ-sécrétases sont indiqués en utilisant la numérotation de l'Aβ à partir de l'extrémité N-terminale (Asp1). **(b)** La voie non-amyloïdogénique de clivage de l'APP aboutit à un traitement séquentiel de l'APP par les α- et γ-sécrétase membranaires. L'α-sécrétase clive au sein même du domaine Aβ, empêchant ainsi la génération de ce peptide. **(c)** La voie amyloïdogénique de maturation de l'APP est réalisée par l'action successive de β- et γ-sécrétases membranaires. (D'après Richard J. O'Brien et Philip C. Wong, 2011)

Dans les conditions normales, A β est dégradé par les peptidases IDE (insulin degrading enzyme), neprylisine et par l'endotheline converting enzyme (*Ling et coll., 2003 ; Qiu et Folstein, 2006 ; Farris et coll., 2003*). Dans la MA, la surproduction du peptide amyloïde est associée à un dérèglement de la balance entre ces deux voies : la voie amyloïdogénique est privilégiée.

5.1.3. Peptide amyloïde et Maladie d'Alzheimer

Les peptides A β produits par la voie amyloïdogénique diffèrent par la composition de leurs extrémités C- et N-terminales, qui leur procurent une solubilité différente, ainsi que des propriétés biologiques et toxiques distinctes. Ils sont présents dans le cerveau sous différentes tailles et différents états d'agrégation, allant des oligomères solubles aux agrégats en fibrilles.

Il faut souligner que la voie amyloïdogénique ne conduit pas forcément à une pathologie. Le peptide A β est produit de façon physiologique dans le cerveau et le LCR tout au long de la vie (*Haass et coll., 1992*). C'est le dérèglement de sa production qui est pathogène, avec soit une surproduction des différentes formes de peptides A β , soit une augmentation spécifique du taux de peptides A β -42. Cette forme est en effet plus neurotoxique, du fait de sa grande capacité à s'agréger (*Yan and Wang, 2007*).

Le ratio entre A β -40 et A β -42 est largement en faveur de la forme courte dans les conditions physiologiques (90%). L'augmentation de ce ratio est considérée comme marqueur précoce de l'apparition de la MA (*Findeis, 2007*). Ce changement serait à l'origine de la formation de dépôts amyloïdes dans les tissus cérébraux de patients atteints de la MA (*Chang et Chen, 2014*). On distingue deux types de dépôts amyloïdes : les plaques diffuses et les plaques séniles (*Armstrong, 2009*). Les plaques diffuses sont très largement composées d'A β -42 et ne sont pas toxiques. Elles sont retrouvées dans différentes structures du système nerveux central aussi bien chez les malades que chez les personnes saines. Elles représenteraient néanmoins les formes « préamyloïdes » qui donnent naissance aux plaques séniles (*Iwatsubo et coll., 1996 ; Armstrong, 2009*). Les plaques séniles quant à elles sont composées d'un mélange de peptides A β 40-42 agrégés sous forme de feuillets plissés β entourés d'une couronne de prolongements nerveux en dégénérescence (axones et dendrites dystrophiques) (*Armstrong, 2006*). Elles sont souvent accompagnées d'une réponse inflammatoire. Ces dernières sont spécifiques de la MA mais aucune corrélation n'a été montrée entre la présence de plaques séniles et les troubles cognitifs associés à la MA (*Vehmas et coll., 2003*). Ces plaques amyloïdes sont présentes très tôt dans l'évolution de la MA, puis après une phase d'augmentation, le nombre de plaques atteint un plateau et ne suit

donc pas le profil de dégradation cognitive observée au cours de la MA (*Craig-Schapiro et coll., 2009*).

Par ailleurs, des données récentes de la littérature, laissent supposer que la présence d'oligomères solubles de peptides A β aurait également une grande importance physiopathologique (*Walsh et Selkoe, 2007 ; Larson et Lesné, 2012 ; Rosenblum, 2014*). La présence de ces oligomères serait plus fortement corrélée aux déficits cognitifs associés à la maladie que les plaques amyloïdes. Chez l'Homme, *Wang-Dietrich et coll. (2013)* ont montré une corrélation négative entre les taux d'oligomères A β dans le LCR et les scores obtenus par les patients dans l'examen du MMSE. Ces résultats suggèrent que la quantité d'oligomères A β reflète la gravité de la maladie et que les oligomères d'A β joueraient un rôle crucial dans la pathologie. Ces résultats sont confortés par les travaux de *Lue et coll. (1999)* qui ont mis en évidence une forte corrélation négative entre les taux d'oligomères solubles A β (1-40) et la perte synaptique observée dans le cortex entorhinal et le gyrus frontal supérieur de patients atteints de la MA. En 2008, *Shankar et coll.* ont montré que l'injection d'oligomères solubles d'A β humaines au niveau des ventricules latéraux de rats induisait des déficits de mémoire dans une tâche d'évitement passif. Des données émergentes de la littérature suggèrent que ces oligomères solubles pourraient potentiellement être synaptotoxiques et exerceraient leurs effets toxiques en se fixant au niveau des synapses (*Wilcox et coll., 2011 ; Larson et Lesné, 2012*). En effet, des études menées sur des modèles animaux transgéniques de la MA (APP/PS1) ont mis en évidence une co-localisation des oligomères solubles et du marqueur de densité post-synaptique PSD-95 (*Koffie et coll., 2009*). Enfin, l'injection intra-cérébrale d'oligomères solubles chez le rat semble entraîner un blocage de la potentialisation à long terme (PLT) (*Walsh et coll., 2002*). Les mécanismes par lesquels ces oligomères induiraient une synaptotoxicité restent encore flous (*revue dans Lacor, 2007 ; Benilova et coll., 2012*).

5.1.4. Régionalisation des plaques amyloïdes

Dans un premier temps, les plaques amyloïdes sont observées dans le néocortex puis se propagent dans le cortex entorhinal, l'amygdale, l'insula, le cortex cingulaire, ainsi que dans l'hippocampe. Lors d'un stade plus avancé, certains noyaux sous-corticaux seraient ensuite touchés, comme le striatum, le thalamus et l'hypothalamus, suivis d'autres noyaux du tronc cérébral, et enfin le pont et le cervelet. L'évolution de ces lésions peut être résumée en trois phases : une première phase néocorticale, puis une phase limbique et enfin une phase sous-corticale (figure 5) (*Thal et coll., 2002*).

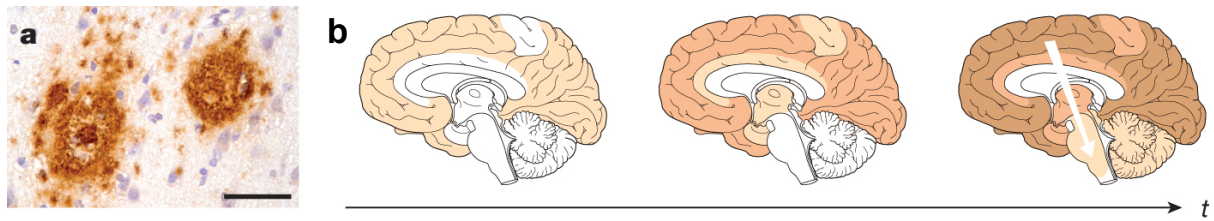


Figure 5 : Evolution des dépôts amyloïdes (a) au cours du développement de la maladie d'Alzheimer (b). (D'après Jucker et Walker, 2013)

5.2. Dégénérescences neurofibrillaires et protéines Tau

Les dégénérescences neurofibrillaires (DNF) sont caractérisées par l'accumulation intraneuronale de matériaux fibrillaires appelés « filaments hélicoïdaux appariés » (*Kurt et coll., 1997*). Ces filaments sont principalement composés de protéines Tau hyperphosphorylées (*Brion et coll., 1985; Grundke-Iqbal et coll., 1986; Goedert et coll., 1988; Morishima-Kawashima et coll., 1995*).

5.2.1. Structure et fonctions des protéines Tau

Les protéines Tau appartiennent à la superfamille des protéines MAP (Microtubule-Associated Proteins) (*Dehmelt et Halpain., 2004*). Principalement exprimées au niveau des neurones, elles participent à la polymérisation de la tubuline, à la stabilisation des microtubules (*Drubin et Kirschner, 1986*), au transport d'organites le long des microtubules, à la croissance des neurites, mais également à la signalisation cellulaire en interagissant avec des protéines tel que PIP₂ (*revue dans Johnson et Hartigan, 1999*). Le gène codant pour les protéines Tau est localisé sur le chromosome 17, et le transcrit primaire contient 13 exons (*Andreadis et coll., 1992*). Dans le cerveau humain, il existe six isoformes de la protéine Tau résultant d'un épissage alternatif des exons 2, 3 et 10 du transcrit primaire (figure 6). Cet épissage génère dans le cerveau six isoformes qui diffèrent par la présence (1) de la séquence codant pour l'exon 10, (2) des exons 2 et 3 (notons que l'exon 3 est toujours accompagné de l'exon 2), (3) de trois ou quatre régions répétées dans la partie carboxy-terminale (C-terminale) de la molécule, (4) et la présence d'un ou deux inserts (29 ou 58 acides aminés) dans la partie amino-terminale (N-terminale) (*Andreadis et coll., 1992*).

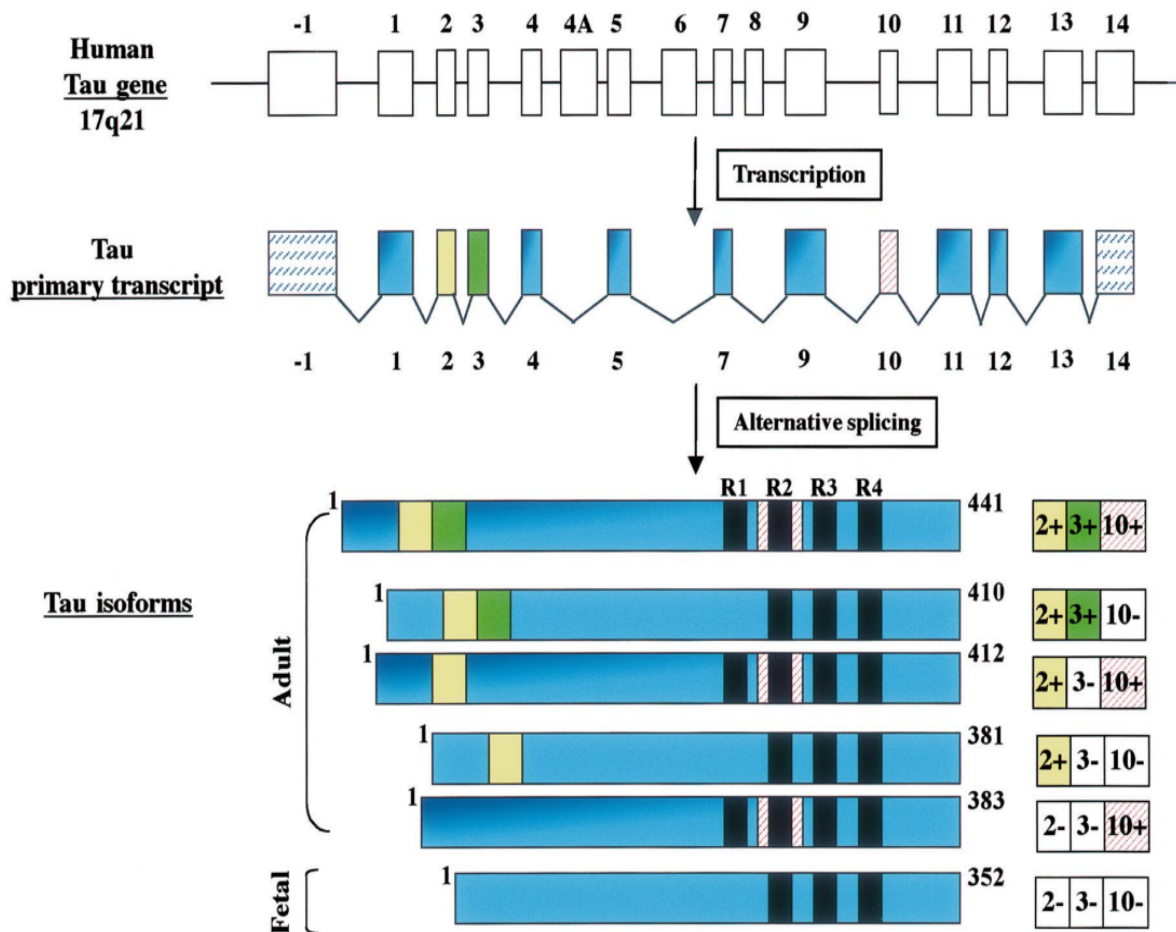


Figure 6 : Représentation schématique du gène codant pour la protéine Tau humaine, de son transcrite primaire et des six isoformes de la protéine tau présents dans le SNC. Le gène codant la protéine tau humaine est situé sur le chromosome 17 en position 17q21 et contient 16 exons. Le transcrite primaire contient 13 exons. Les exons 1, 4, 5, 7, 9, 11, 12, 13 sont constitutifs, et les exons 2, 3 et 10 sont alternativement épissés, donnant naissance à six ARNm différents, qui sont à l'origine une fois traduits des six isoformes de la protéine Tau. Ces isoformes diffèrent par l'absence/présence des 29 acides aminés codés par l'exon 2 (zones jaunes) et 3 (zones vertes) dans la partie amino-terminale, mais également par la présence de trois (R1, R3 et R4) ou quatre (R1-R4) régions répétées (boîtes noires) dans la partie carboxy-terminale. Le quatrième domaine de liaison aux microtubules est codé par l'exon 10 (zone rayée). Les isoformes de la protéine tau adulte comprennent les formes longues de 441, 410, 412 acides aminés et les formes courtes composées de 381 et 383 acides aminés (*D'après Buée et coll., 2000*).

D'un point de vue fonctionnel les protéines Tau sont composées de deux domaines (figure 7) (*pour revue Buée et coll., 2000*):

- Un domaine « de projection » qui comprend les exons 2 ou 2+3 qui confèrent à la protéine une longueur différente en fonction des isoformes. Ces deux inserts très acides sont suivis d'une région basique riche en proline. Ce domaine permet à la protéine Tau liée au microtubule d'interagir avec la membrane plasmique et certains organites comme les mitochondries, jouant ainsi un rôle majeur dans la structuration du cytosquelette.

- Un domaine « de liaison » au microtubule au niveau C-terminal qui comprend des motifs répétés. Ces motifs répétés sont des séquences de 18 acides aminés notées R1 à R4, encodées par les exons 9 à 12 et permettant la fixation de Tau au microtubule. Cette région serait impliquée dans l'assemblage et la stabilisation des microtubules. Les isoformes composés de 4 régions répétées (4R) stabiliseraient davantage les microtubules que les isoformes 3R.

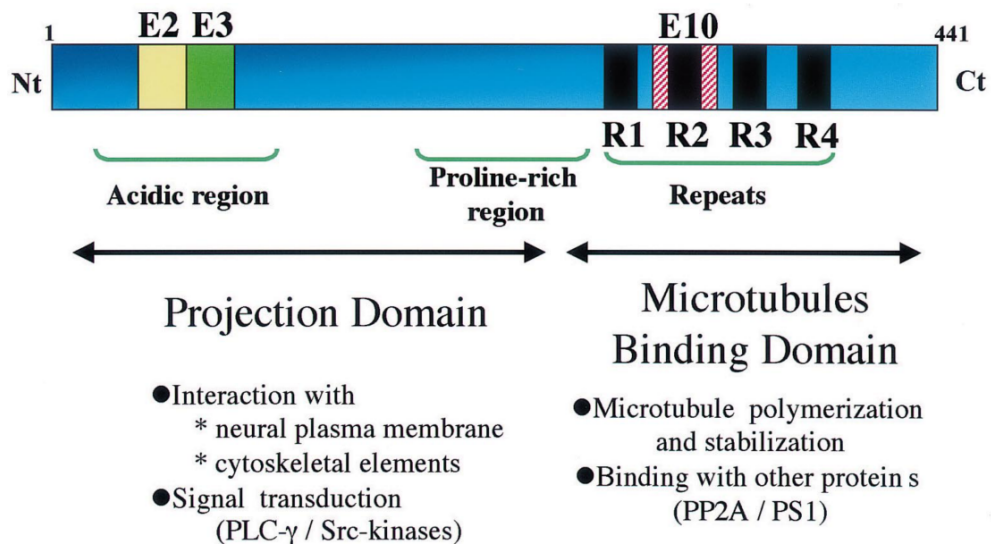


Figure 7 : Représentation schématique des domaines fonctionnels de l'isoforme la plus longue de la protéine tau (441). Le domaine de projection, comprenant une région riche en acide et une région riche en proline, interagit avec les éléments du cytosquelette afin de déterminer les espacements entre microtubules dans les axones. La partie C-terminale correspond au domaine de liaison au microtubule et régule le taux de polymérisation des microtubules. (D'après Buée et coll., 2000)

5.2.2. Régulation de l'état de phosphorylation de la protéine Tau

La phosphorylation constitue la principale modification post-traductionnelle des protéines Tau. Parmi les 85 résidus sérines et thréonines présents sur la protéine Tau, 30 sont phosphorylés dans des conditions physiologiques (tableau II). Ces phosphorylations permettent la régulation de l'interaction Tau/microtubules et par conséquent la stabilité des microtubules (*Sergeant et coll., 2008*). Lorsqu'elles portent en particulier sur la région riche en prolines située en amont des motifs répétés, elle diminue l'affinité de la protéine Tau pour les microtubules, entraînant leur dépolymérisation. La phosphorylation des résidus sérine 262 et 356 (selon la numérotation de l'isoforme la plus longue), situés respectivement dans le premier et quatrième domaine de liaison, modulerait également l'affinité des protéines Tau aux microtubules. Les différents états de phosphorylation de la protéine Tau résultent de l'activité de nombreuses kinases et phosphatases (*Trojanowski et Lee, 1995*).

Tableau II : Sites de phosphorylation de la protéine Tau. La numérotation correspond à l'isoforme comprenant 441 acides aminés. Y : tyrosine ; T : thréonine ; S : sérine. (*D'après Martin et coll., 2013*)

Site de phosphorylation de la protéine Tau				
Sites retrouvés exclusivement au niveau du cerveau de patients atteints de la MA	Sites retrouvés au niveau du cerveau de patients atteints de la MA et de sujets sains	Sites retrouvés dans les conditions physiologiques	Sites présumptifs	
Y18	S46	T17	T30	
S68	T181	Y29	S61	
T69	S198	T39	T63	
T71	S199	T50	S64	
S113	S202	T52	T76	
T123	T205	S56	S129	
T153	T212	T95	S137	
T175	T217	T101	Y310	
T184	T231	T102	T319	
S185	S235	T111	T377	
S191	S400	S131		
Y197	S404	T135		
S208	S412	T149		
S210	S413	T169		
S214	S416	S195		
S237		T222		
S238		S241		
S258		T245		
S262		T273		
S289		S285		
S356		S293		
Y394		S305		
T403		S316		
S409		S320		
S422		S324		
T427		S341		
S433		S352		
S435		T361		
		T373		
		T386		
		T414		

a) Kinases de Tau

Les kinases impliquées dans la phosphorylation de Tau sont nombreuses. Parmi les plus communes, on trouve (figure 7) :

- GSK3 β (glycogen synthase kinase 3 β), une kinase impliquée dans de nombreux mécanismes physiologiques tels que la prolifération cellulaire, et l'apoptose (*Jaeger et coll., 2013 ; Hur et Zhou, 2010*). D'un point de vue fonctionnel, il a été montré que la phosphorylation de GSK3 β au niveau des sérines 9 et 389 entraîne l'inhibition de l'activité de cette kinase, alors que la phosphorylation au niveau de la tyrosine 216 augmente l'activité de GSK3 β (*Stambolic et R. Woodgett, 1994 ; Hughes et coll., 1993*). Tau peut être phosphorylée par GSK3 β au niveau de 42 résidus (*pour revue Martin et coll., 2013*).
- les MAPK (mitogen activated protein kinase), avec ERK1/2 (extracellular signal-regulated kinase 1/2), JNK (jun kinases) et p38. Ces kinases jouent un rôle dans la phosphorylation anormale de Tau au niveau de sites de phosphorylation retrouvés chez des patients atteints de la MA.
- CaMKII (calcium/calmodulin-dependent kinase II) : après une activation par la calmoduline, CaMKII va pouvoir activer un certain nombre de substrats, parmi lesquels se trouve la protéine Tau (*Yamamoto et coll., 2005 ; Yoshimura et coll., 2003*).
- la PKA (Protéine Kinase A), la PKC (protéine kinase C), CDK5 (Cyclin-Dependent Kinase 5)...

b) Phosphatases de Tau

L'état de phosphorylation/déphosphorylation de Tau est régulé par une balance entre l'activité des kinases et celle des phosphatases. Parmi les phosphatases on retrouve les protéines phosphatases PP1, PP2A, PP2B (aussi connue sous le nom de calcineurine) et PP5 (*Iqbal et Grundke-Iqbal, 2005*). Dans des conditions physiologiques, la phosphatase prédominante agissant au niveau du cerveau humain est PP2A, avec une part d'activité de 71% comparée aux autres phosphatases (PP2B 7% ; PP5 11%) (*Martin et coll., 2013*).

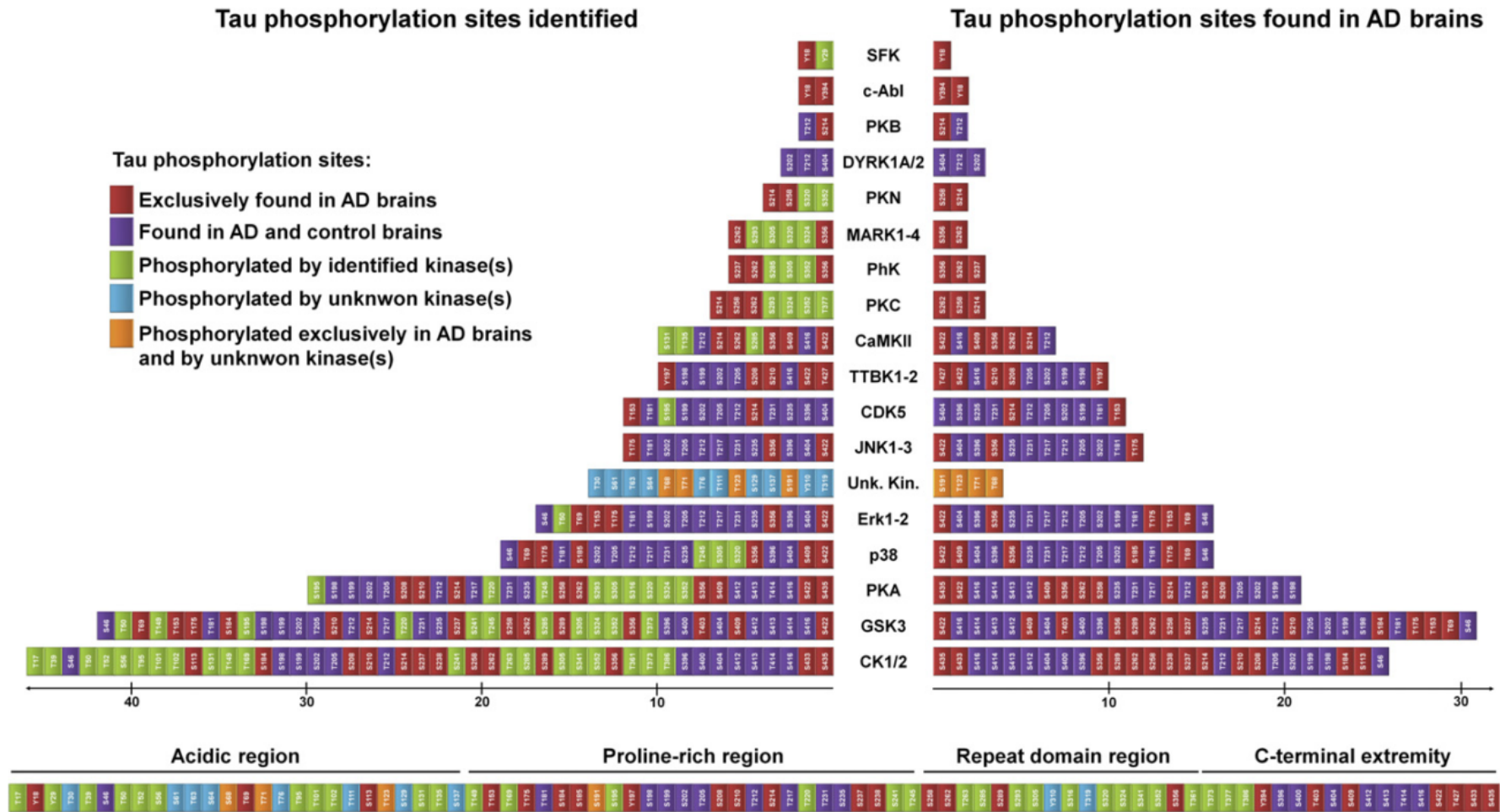


Figure 8 : Kinases de la protéine Tau. Pour chaque kinase sont répertoriés, (i) sur la gauche tous les sites de phosphorylation de la protéine Tau, (ii) sur la droite les sites de phosphorylation trouvés dans le cerveau de patients atteints de la MA. (*D'après Martin et coll., 2013*)

5.2.3. Hyperphosphorylation de la protéine Tau et Maladie d'Alzheimer

Une phosphorylation anormale ou excessive est observée dans le cas de la MA. La phosphorylation anormale résulte en une phosphorylation au niveau de sites qui, dans des conditions physiologiques, ne sont pas concernés par la phosphorylation : on parle d'épitope non-physiologique. Une phosphorylation excessive correspond à une phosphorylation amplifiée au niveau d'un ou plusieurs site(s) physiologique(s).

Dans la MA un certain nombre de sites apparaissent comme hyperphosphorylés ou anormalement phosphorylés et ce profil concerne les six isoformes de la protéine Tau (*Martin et coll., 2013*) (tableau II). Des méthodes immunologiques ont permis de mettre en évidence que ces sites se trouvent essentiellement dans le domaine central riche en prolines. On retrouve également certains sites au sein de la région répétée et au niveau de l'extrémité C-terminale (figure 8). Cette hyperphosphorylation diminuerait l'affinité de Tau pour les microtubules et favoriserait ainsi la dissociation de la protéine Tau des microtubules (figure 9). Cette dissociation conduit à un désassemblage des microtubules et donc à une déstabilisation du cytosquelette pouvant être à l'origine d'un dysfonctionnement neuronal (*Liu et coll., 2007*).

Par ailleurs l'augmentation du nombre des protéines Tau libres hyperphosphorylées va favoriser l'auto-assemblage des protéines Tau en filaments. En effet *Alonso et coll. (2001)* ont montré que des protéines Tau anormalement hyperphosphorylées isolées de cerveaux de patients atteints de la MA polymérisent *in vitro* pour former des filaments en paires appariés (PHF : paired helical filament) ; les conditions d'auto-assemblage ne nécessitent pas de co-facteur. Tous ces résultats suggèrent donc que l'hyperphosphorylation de Tau est probablement suffisante pour la formation des PHF et pourrait être le mécanisme moléculaire à l'origine des lésions neurodégénératives dans la MA. Les PHF vont par la suite s'agréger pour former les DNF (*Alonso et coll., 2001 ; Trojanowski et Lee, 1995 ; Mazanetz et Fischer, 2007*). De plus, Tau présenterait comme A β la capacité d'activer le système complément et ainsi de générer une réponse inflammatoire (*Zilka et coll., 2012 ; Wes et coll., 2014*).

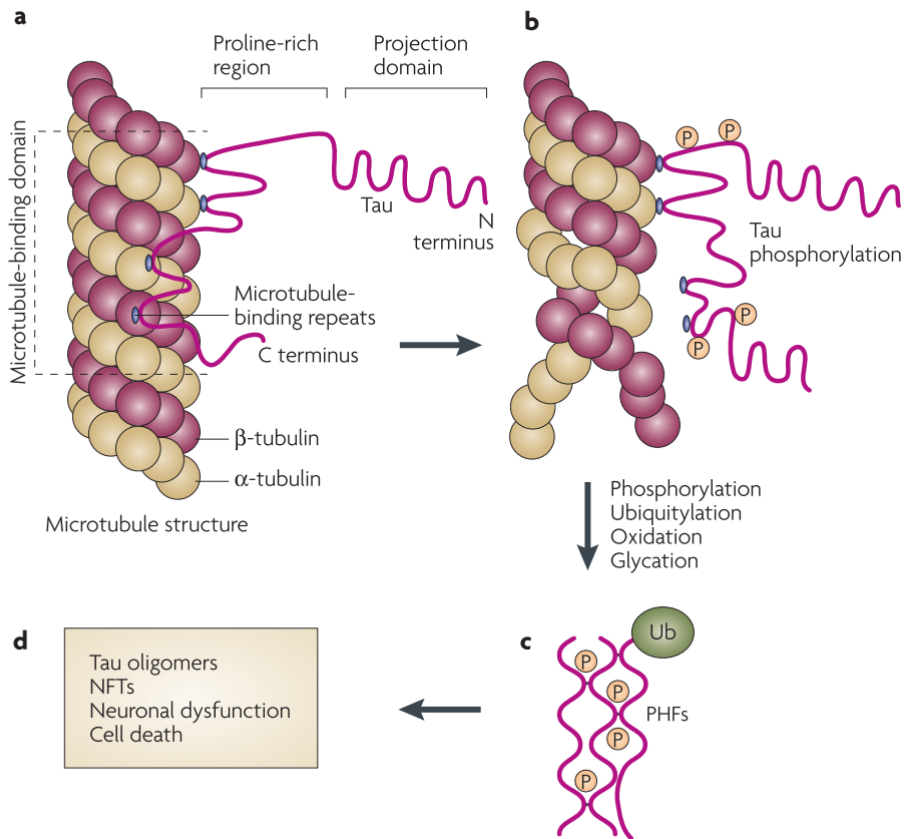


Figure 9 : Formation des DNF. a) Les microtubules sont des polymères solides cylindriques composés d' α - et de β -tubuline qui fournissent un support structural pour les neurones. Tau est la principale protéine associée aux microtubules dans les neurones et elle permet la stabilisation de l'architecture des microtubules par l'intermédiaire de motifs de liaison à la tubuline. b) La phosphorylation de Tau au niveau de certains sites sérine/thréonine par certaines kinases (GSK3 β , CDK5...) diminue l'affinité de Tau pour les microtubules, ce qui se traduit par la déstabilisation des microtubules. c) La protéine Tau anormalement phosphorylée se dissocie des microtubules neuronaux et s'accumule pour former des PHF (paires de filaments hélicoïdaux) (PHF). d) Ces PHF vont s'associer pour former des agrégats insolubles appelés dégénérescences neurofibrillaires (DNF) toxiques pour la cellule. (D'après Mazanetz et Fischer, 2007)

5.2.4. Régionalisation des DNF

La dégénérescence neurofibrillaire progresse dans l'espace cérébral selon une topographie qui suit fortement l'évolution des déficits cognitifs. Elle commence dans les régions temporales internes telles que les cortex trans-entorhinal et entorhinal, et l'hippocampe expliquant les troubles de mémoire des faits récents et s'étend séquentiellement aux autres structures limbiques comme l'amygdale et le thalamus. Elle va par la suite s'étendre jusqu'aux aires associatives corticales, expliquant la perte globale des fonctions cognitives. Enfin, dans les cas les plus sévères, elle peut être détectée au sein des aires sensorielles primaires, motrices, et visuelles, ainsi que dans d'autres structures sous-corticales telles que le striatum et la substance noire (figure 10) (Braak et Braak, 1997).

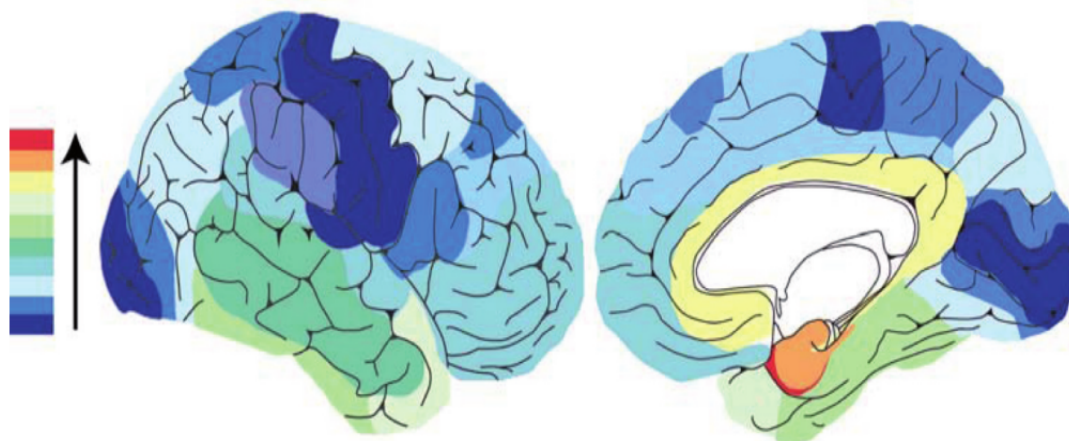


Figure 10 : Densité moyenne des lésions neurofibrillaires chez un patient atteint de MA en fonction de la topographie. Face externe (image de gauche) et interne (droite) de la surface corticale. L'échelle de couleur va du moins au plus sévèrement touché. À noter l'atteinte très sévère (rouge) du cortex trans-entorhinal, l'atteinte marquée (orange) du cortex entorhinal et le respect des aires sensorielles primaires (en bleu foncé) (*D'après Duyckaerts et Dickson, 2003*).

5.3. La neuroinflammation

L'inflammation constitue un ensemble de réactions vasculaires, cellulaires et tissulaires provoquées par une agression ; réactions ayant pour but de stopper un stimulus dommageable. On distingue deux types d'inflammations : l'inflammation aiguë qui est la réponse initiale de l'organisme face à un stimulus dommageable entraînant une cascade d'événements biochimiques et l'inflammation chronique qui est, quant à elle, causée par un état inflammatoire prolongé et caractérisée par un changement graduel du type de cellules au site de l'inflammation menant à une guérison et une destruction simultanée des cellules environnantes (*Chandrasoma et Taylor, 1997*).

L'implication des mécanismes inflammatoires dans l'étiologie de la MA est aujourd'hui reconnue par bon nombre d'auteurs ; il est clairement établi que la MA s'accompagne d'une réponse inflammatoire (*Akiyama et coll., 2000 ; revue dans Wyss-Coray and Rogers, 2012*). Le rôle de l'inflammation en revanche reste controversé : même si durant les premiers stades de la maladie, l'activation des microglies et des astrocytes semble favoriser l'élimination du peptide A β , l'activation chronique des microglies s'accompagne d'une augmentation concomitante du nombre de peptides A β et de la phosphorylation de Tau. Par ailleurs, des données émergentes de la littérature obtenues chez l'homme et sur des

modèles animaux rapportent que l'administration d'anti-inflammatoires semble diminuer le risque de développer la MA, réduire les dépôts amyloïdes et ralentir la progression des déficits cognitifs (*Hüll et coll., 1999 ; revue dans Méraz-Rios et coll., 2013*). Au laboratoire, *Stephan et coll. (2003)* ont notamment montré que l'administration d'anti-inflammatoires non-stéroïdiens, à des rats ayant reçus des injections de peptides A β 42-43 dans le gyrus dentelé, restaure les déficits de PLT au niveau du gyrus dentelé ainsi que les déficits de mémoire de travail.

5.3.1. Les médiateurs cellulaires de la réponse inflammatoire

La neuroinflammation dépend principalement des microglies. Les cellules microgliales jouent un rôle important en tant que résidents immunocompétents dotés d'un pouvoir phagocytaire (*Kim et Vellis, 2005*). Chez un sujet sain, elles sont présentes à l'état inactif et distribuées uniformément à travers le cerveau (*Fernandes et coll., 2014*). Les microglies sont alors très sensibles aux changements du milieu où elles se trouvent et explorent le cerveau pour y nettoyer les débris, y éliminer les cellules apoptotiques ou endommagées, et y découvrir les éléments plus destructifs comme une infection ou une inflammation locale. Une fois activée, la microglie qui a adopté une nouvelle morphologie, est capable de phagocytose, de cytotoxicité et d'induction de l'apoptose. Elle initie la réponse inflammatoire en libérant des molécules pro-inflammatoires comme les interleukines Il1 β , Il6 et facteur de nécrose tumorale TNF α (figure 11). Dans le cas d'une neuroinflammation plus complexe comme celle présente pour la MA, la microglie peut rester activée de façon continue, causant une cascade inflammatoire perpétuelle accélérant l'inflammation et pouvant causer à plus long terme la mort neuronale (*Eikelenboom et coll., 2006*). L'analyse des plaques neuritiques montre une concentration anormalement élevée de microglies activées autour et à l'intérieur de celles-ci (*D'Andréa et coll., 2003*). Cette co-localisation des cellules microgliales activées et des plaques séniles a été interprétée dans la littérature comme une conséquence secondaire du processus physiopathologique de la MA (*Fillit et coll, 1991; Hickman et coll, 2008 ; Johnston et coll, 2011 ; Liu et Chan, 2014 ; Varnum et Ikezu, 2012*).

La réponse inflammatoire est également médiée dans le SNC par les astrocytes (*Degos et coll., 2009*). Les astrocytes fournissent les conditions adéquates pour le bon fonctionnement des neurones et des synapses et sont impliquées dans la sécrétion et le recyclage de neurotransmetteurs, l'homéostasie ionique, la régulation du métabolisme énergétique, le remodelage synaptique, le traitement de l'information, et la transmission de signaux (*Araque et Navarrete, 2010*).

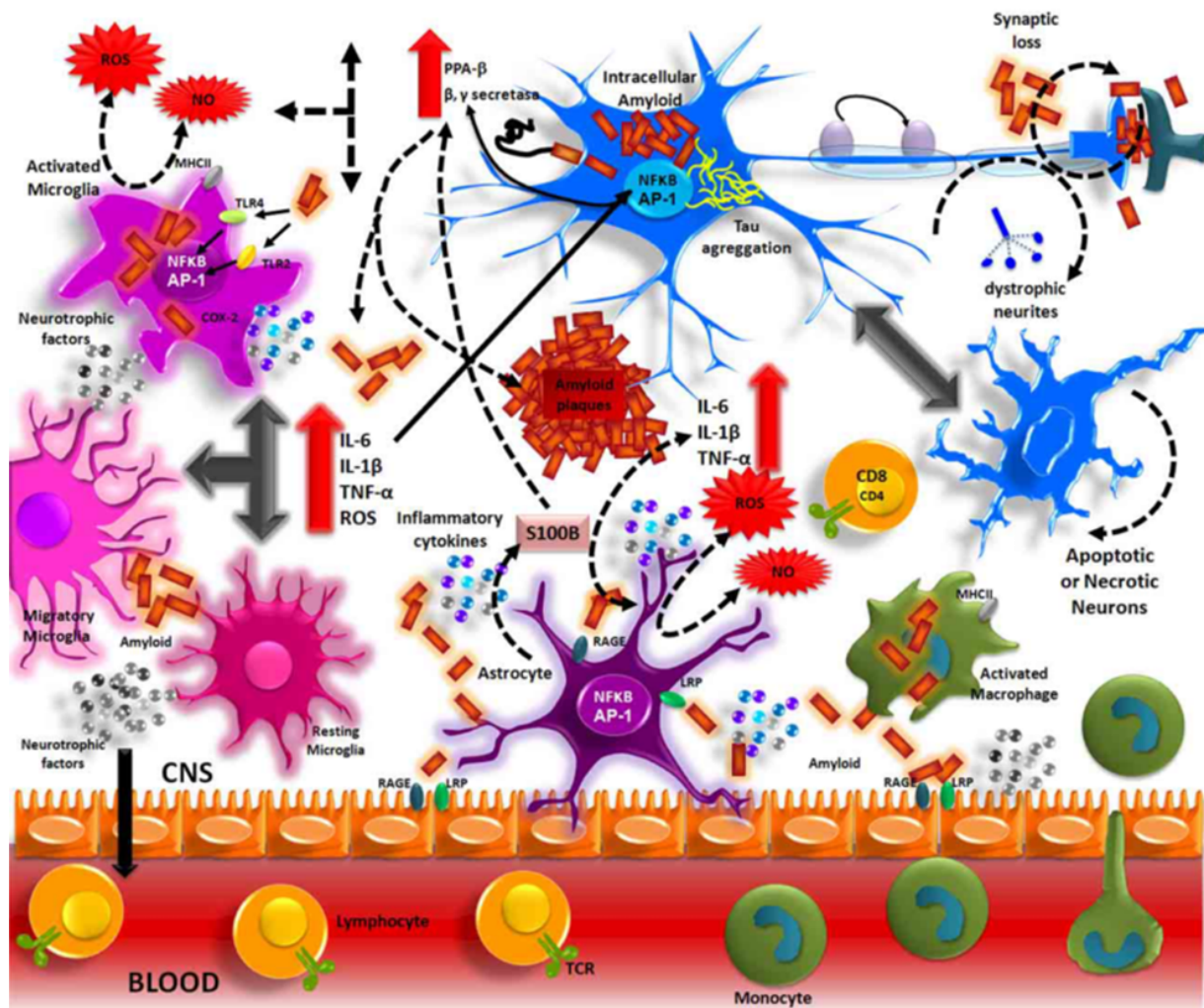


Figure 11 : Les peptides A β forment des agrégats qui activent les microglies via les TLR (toll like receptor) et les récepteurs RAGE. Ces récepteurs vont, à leur tour, activer des facteurs de transcription induisant la production par les astrocytes et les microglies d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) ainsi que la production de cytokines inflammatoires (IL1, IL6, TNF). Ces facteurs inflammatoires vont agir directement sur les neurones et les astrocytes amplifiant ainsi la réponse inflammatoire. Ceci est à l'origine de l'effet neurotoxique de l'inflammation dans la MA. Les médiateurs inflammatoires produits par les cellules résidentes du SNC vont également induire la production de molécules d'adhérence et de chimiokines afin de recruter des cellules immunitaires périphériques (*D'après Méraz-Rios et coll., 2013*).

Il a été démontré que la présence de peptides amyloïdes permettait l'activation des astrocytes via les récepteurs Toll (TLR) et les voies RAGE-dépendantes (*Wyss-Coray et Rogers, 2012*). Leur activation entraîne un changement morphologique et fonctionnel qui leur donne notamment la capacité de pouvoir phagocytter et dégrader les peptides amyloïdes cytotoxiques (*Meraz-Rios et coll., 2013*). Les astrocytes réactifs, par opposition aux astrocytes quiescents, peuvent alors produire les cytokines IL1 β , IL6 et TNF α (*Carrero et coll., 2012*) et favoriser l'infiltration de lymphocytes périphériques afin d'augmenter la réponse

inflammatoire (*Montero-Menei et coll., 1996*). Ces changements qui altèrent « l'homéostasie neurone-astrocyte » provoquent une dépolarisation neuronale locale qui conduit à des dommages cytotoxiques (*Thal, 2012 ; Meraz-Ríos et coll., 2013*). Ainsi, l'activation accrue des astrocytes aggrave les lésions neuronales et accélère la progression de la maladie. Des études ont également montré que les astrocytes pouvaient générer une faible quantité de peptides A β (*Liu et coll., 2013 ; Zhao et coll., 2011*) (figure 11).

5.3.2. Les médiateurs moléculaires de la réponse inflammatoire

a) Les cytokines

Comme nous l'avons vu précédemment, les microglies et les astrocytes peuvent produire et libérer des cytokines qui interviennent dans les mécanismes inflammatoires. Il y a actuellement 18 cytokines appelées interleukine (IL). D'autres cytokines ont conservé leur nom biologique d'origine, tel que le facteur de nécrose tumorale (TNF) (*Dinarello, 2000*). Chez les patients atteints de la MA on observe une augmentation de la libération des cytokines pro-inflammatoires IL1 β , IL6 et TNF α (*Jiang et coll., 2011 ; Liu et Chan, 2014*).

IL1 β est une cytokine pro-inflammatoire qui peut être libérée dans le SNC par les microglies, les astrocytes et les neurones. Une fois libérée, IL1 β va pouvoir activer d'autres types cellulaires tels que des astrocytes et des cellules microgliales qui vont à leur tour libérer des cytokines. Il s'agit d'un médiateur majeur des réponses aux maladies auto-inflammatoires, auto-immunes, infectieuses, et joue un rôle important dans de nombreuses pathologies neurodégénératives (*Garlanda et coll., 2013*). Des taux élevés d'IL1 β ont été retrouvés dans le sérum et le cerveau de patients atteints de la MA (*Swardfager et coll., 2010 ; Griffin et coll., 1989*). Il a également été montré qu'IL1 β est capable d'induire la production d'APP et d'A β par les neurones. En effet l'injection d'IL1 β dans l'hémisphère cérébral augmente le taux d'APP et l'amyloïdogenèse (*Sheng et coll., 1996*). Inversement, il semblerait que sAPP puisse activer la microglie et induire l'expression d'IL1 β . D'autres études ont montré qu'une augmentation d'IL1 β dans un modèle murin de la MA (3xTg-AD croisé avec des souris IL1^{XAT}) pouvait induire la phosphorylation de la protéine Tau en stimulant l'activité des protéines kinases p38-MAPK et de GSK3 β (*Ghosh et coll., 2013*). Le blocage d'IL1 β dans le cerveau d'un modèle murin triple transgénique (APP/PS1/Tau) de la MA (3xTg-AD) a permis d'altérer la réponse inflammatoire, de restaurer les déficits cognitifs, d'atténuer la tauopathie, et de réduire le taux de peptides A β fibrillaires (*Kitazawa et coll., 2011*).

IL6 est une cytokine pro-inflammatoire qui joue un rôle important dans la régulation immunitaire (*Kishimoto, 2010*). Tout comme IL1 β , IL6 est présente à des taux élevés dans le

cerveau et le sérum des patients atteints de la MA (*Swardfager et coll., 2010*). De nombreux résultats ont suggéré un rôle important d'IL6 dans le développement de la maladie (*revue dans Gadiant et Otten, 1997*). En effet IL6 semble contribuer à la production d'APP mais également à la formation des DNF en favorisant l'hyperphosphorylation de Tau via la voie cdk5/p35 (*Papassotiropoulos et coll., 2001*).

TNF α est une cytokine qui peut avoir des effets bénéfiques ou nocifs sur les neurones. Cette cytokine stimule le facteur de transcription NF- κ B qui induit l'expression de molécules pro-inflammatoires ainsi que la synthèse de facteurs de survie neuronale. Cette cytokine peut également stimuler la libération de glutaminase microgliale et en conséquence favoriser la formation de glutamate à l'origine d'une excitotoxicité (*Takeuchi et coll., 2006*). Dans la MA, le rôle direct de cette cytokine reste incertain. Des travaux menés sur des modèles *in vitro* rapportent que TNF α stimule l'expression de BACE1, favorisant ainsi le clivage d'APP (*Yamamoto et coll., 2007*). D'autres études suggèrent que TNF α augmente l'expression des β - et γ -sécrétase et la production d'A β (*Blasko et coll., 2000 ; Liao et coll., 2004*). Par ailleurs l'utilisation d'inhibiteurs du TNF α chez les souris 3xTg-AD exposées à une inflammation périphérique chronique a mis en évidence une diminution du taux agrégats amyloïdes ainsi que des déficits cognitifs (*McAlpine et coll., 2010*). Toutefois, une suppression à long terme de la voie de signalisation du récepteur du TNF α peut supprimer la capacité des microglies à éliminer efficacement les agrégats d'A β , favorisant ainsi son agrégation à des stades précoces (*Montgomery et coll., 2011*)

b) CRP (protéine C réactive)

CRP est une protéine qui est exprimée dans une variété de types cellulaires tels que les neurones. Il s'agit d'un marqueur d'inflammation et de lésions tissulaires, qui est utilisé en clinique pour détecter les infections aiguës et évaluer les réponses inflammatoires dans les maladies chroniques (*Fuji et coll., 2008*). Alors que la plupart des études considère, à ce jour, que la protéine CRP est un facteur prédictif de la démence (*Mangiafico et coll 2006; Ravaglia et coll., 2007*), peu de travaux portent sur la contribution de cette protéine dans la mise en place de la MA. Des études ont montré une augmentation des niveaux d'ARNm et de protéine de CRP dans l'hippocampe et le cortex temporal au cours de la MA (*McGeer et coll, 2001 ; Wood et coll 1993; Yasojima et coll., 2000*). Des études immunohistochimiques ont révélé une grande quantité de cellules CRP-immunoréactives dans les plaques séniles et les dégénérescences neurofibrillaires intracellulaires (*Duong et coll 1997 ; Iwamoto et coll 1994 ; McGeer et coll. 2001; Yasojima et coll 2000*). Récemment, *Lin et ses collaborateurs (2009)*

ont montré, chez des rats ayant reçu des injections intracérébrales de CRP, une augmentation des taux d'expression de APP, IL1 β , IL6 et TNF α dans le cortex cérébral et l'hippocampe ainsi qu'une altération des performances de mémoire spatiale ; ces résultats sont comparables à ceux obtenus chez des rats injectés avec des peptides A β .

5.4. Plasticité synaptique et Maladie d'Alzheimer

Bien que les acteurs majeurs de la MA soient clairement identifiés, on commence à peine à comprendre comment ces derniers affectent les fonctions neuronales et interfèrent avec les processus d'apprentissage et de mémoire. La structure des synapses, le trafic des vésicules synaptiques, ou encore certaines voies de signalisation impliquées dans la plasticité synaptique, semblent être altérés chez les patients atteints de la MA.

5.4.1. La plasticité synaptique

Le nombre, la distribution et l'efficacité des synapses peuvent être considérés comme un indicateur de la plasticité synaptique. En effet, la disposition des connexions neuronales chez l'adulte n'est pas figée dans une configuration définitive mais est susceptible, dans certaines limites, de modifications. Par exemple au cours de l'apprentissage, on observe une augmentation de l'efficacité des connexions entre synapses ou encore, émergence puis pousse des neurites (qui deviennent ensuite des dendrites) et formation de nouvelles synapses. C'est pourquoi, dans le SNC, on entend par "plasticité", la capacité que possède une région cérébrale à modifier son organisation synaptique, soit à la suite d'une lésion pour suppléer la déficience introduite, soit à la suite de modifications des conditions extérieures (*Meunier et Shvaloff, 1995*). Ce remodelage fonctionnel et structural joue un rôle majeur dans les processus d'apprentissage et de mémoire (*revue dans Middei et coll., 2014*).

5.4.2. Modifications structurales de la synapse au cours de la MA

Une altération des circuits neuronaux majeurs de l'hippocampe a été mise en évidence chez des patients atteints de la MA (*revue dans Llorens-Martin et coll., 2014*). Par ailleurs, de nombreuses études ont mis en évidence une perte de contacts synaptiques dans le néocortex et l'hippocampe de ces patients (*Davies et coll., 1987 ; Masliah et coll., 1989 ; Scheff et coll., 1990*). Des études quantitatives effectuées au niveau du cortex frontal de patients atteints de la MA, ont révélé une diminution de 25 à 35% de la densité synaptique avec 15 à 35% de perte synaptique par neurone (*Scheff et coll., 2006*). L'hippocampe semble être le plus touché par les pertes synaptiques avec une diminution de 55% au niveau de la zone CA1 (*Scheff et coll., 2006*). Ces dommages synaptiques ont été détectés dès les premiers stades de la MA et il

existe une forte corrélation entre ces pertes synaptiques et les capacités cognitives (*Scheff et coll., 2006*). La figure 12 montre une corrélation significative entre le nombre de synapses au niveau de la couche moléculaire externe du gyrus denté et le score obtenu au MMSE.

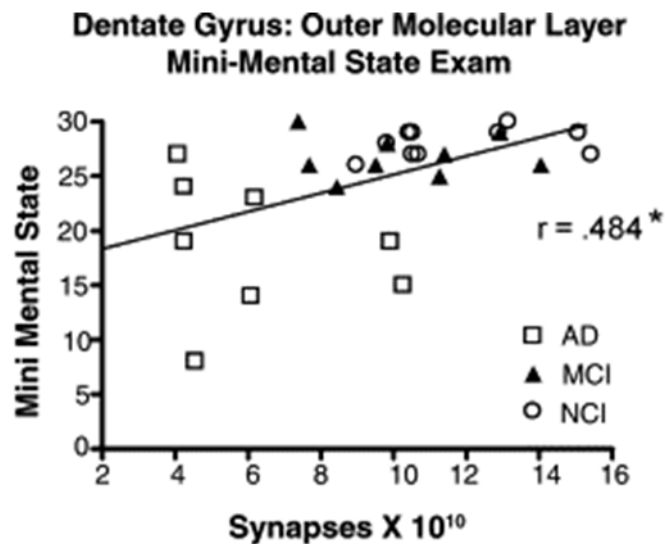


Figure 12 : Corrélation positive entre le score obtenu au MMSE et l’augmentation du nombre total de synapses au niveau de la couche moléculaire externe du gyrus denté, chez des patients atteints de la MA (AD), des patients MCI, et des individus ne présentant aucun déclin cognitifs (NCI). * $p < 0,05$. (D’après Scheff et coll., 2006).

Les modifications structurales de la synapse peuvent être associées à une réduction de l’expression de différentes protéines jouant un rôle important dans la composition des éléments post et pré-synaptiques (SNAP-25, RC3, GAP43...), mais également dans le transport vésiculaire (Synaptotagmin, synaptophysin I...) (*Arendt, 2005*).

5.4.3. Modifications de l’efficacité synaptique au cours de la MA

Les modifications de la plasticité synaptique peuvent se traduire au plan électrophysiologique par le phénomène “Hebbien” de potentialisation à long terme ou PLT. La PLT peut être définie comme une augmentation de l’efficacité de la transmission synaptique induite par l’application d’un train de stimuli de haute fréquence (*Malenka, 1994; Pasinelli et coll., 1995*). L’induction d’une PLT se traduirait par de nombreuses modifications morphologiques post-synaptiques, telles qu’une élongation des épines dendritiques, un

accroissement des zones actives et la formation de nouveaux contacts dendritiques. Des données de la littérature rapportent l'existence d'une modification de l'efficacité de transmission synaptique dans la MA. A titre d'exemple, *Stephan et coll. (2001)* ont montré que l'injection de peptides A β 40-43 dans le gyrus dentelé de rats, s'accompagne de déficits de PLT. Ces travaux ont été confortés par ceux de *Klyubin et coll. (2004)* qui ont mis en évidence que des injections intracérébrales de peptide A β -40 soluble dans la zone CA1 (corne d'Ammon 1) d'hippocampes de rats, entraînaient une inhibition de la PLT.

Certaines voies de signalisation semblent jouer un rôle crucial dans les phénomènes de plasticité synaptique, dans l'efficacité de la transmission synaptique (*Xu et coll., 2005*). Parmi ces voies, il y a la voie calcique et la voie ERK-MAPK. Ces voies de signalisation semblent altérées dans la MA.

a) La voie calcique

Le calcium intracellulaire s'associe à la calmoduline (CaM), petite protéine cytoplasmique ubiquitaire qui joue un rôle majeur dans la transduction du signal calcique (*Vetter et Leclerc, 2003*).

En conditions basales, CaM est liée à RC3 (neurogranine) (*Kumar et coll., 2013*), une protéine exprimée spécifiquement dans les terminaisons neuronales post-synaptiques. RC3 participe à la régulation de la signalisation calcique en régulant la disponibilité de CaM (*Diez-Guerra, 2010*). L'entrée de calcium dans le compartiment post-synaptique va induire la dissociation du complexe RC3/CaM (*Hoffman et coll., 2014*). La liaison du calcium à CaM va alors provoquer un changement de conformation de la protéine lui permettant d'activer ses cibles cellulaires (*Vetter et Leclerc, 2003*) : les protéines kinases CaMKII α (Ca²⁺/CaM-dependent protein kinase II α) et CaMKIV (Ca²⁺/CaM-dependent protein kinase IV) (*Rellos et coll., 2010 ; Wayman et coll., 2011*) (figure 13). CaMKII α peut se lier à une grande variété de protéines post-synaptiques (*Skelding et Rostas, 2009*) dont la sous-unité NR2B des récepteurs NMDA (*Strack et Colbran, 1998*), Tau (*Benneceb et coll., 2001*) et Raf 1 activant ainsi la voie ERK-MAPK (*Salzano et coll., 2012*). CaMKIV est un puissant activateur de la transcription Ca²⁺-dépendante qui agit en activant de nombreux facteurs de transcription, y compris CREB (cAMP response element binding protein) (*Anderson et coll., 2004*). Après la dissociation du complexe RC3-CaM, RC3 phosphorylée par la protéine kinase C (PKC), va stimuler des récepteurs couplés aux protéines G (RCPG) déclenchant ainsi la mobilisation des réserves de Ca²⁺ intracellulaires (*Cohen et coll., 1993*). CaM pourra également activer la calcineurine (CaN), principale phosphatase de RC3 (*Rumi-Masante et coll., 2012*).

Cette voie calcique joue un rôle important dans la régulation des concentrations en calcium intracellulaire et par conséquent dans la modulation des processus de plasticité synaptique. Les travaux de *Huang et ses collaborateurs (2004)* ont effectivement montré que des souris RC3-KO présentaient des déficits de PLT au niveau de l'hippocampe associés à des déficits de mémoire spatiale dans la piscine de Morris. Par ailleurs, d'autres études ont mis en évidence un rôle important de CaMKII dans la formation de la mémoire et l'induction de la PLT (*Lucchesi et coll., 2010*). *Otmakhov et coll. (1997)* ont montré en utilisant un inhibiteur de la protéine CaMKII que celle-ci était essentielle pour l'induction de la PLT.

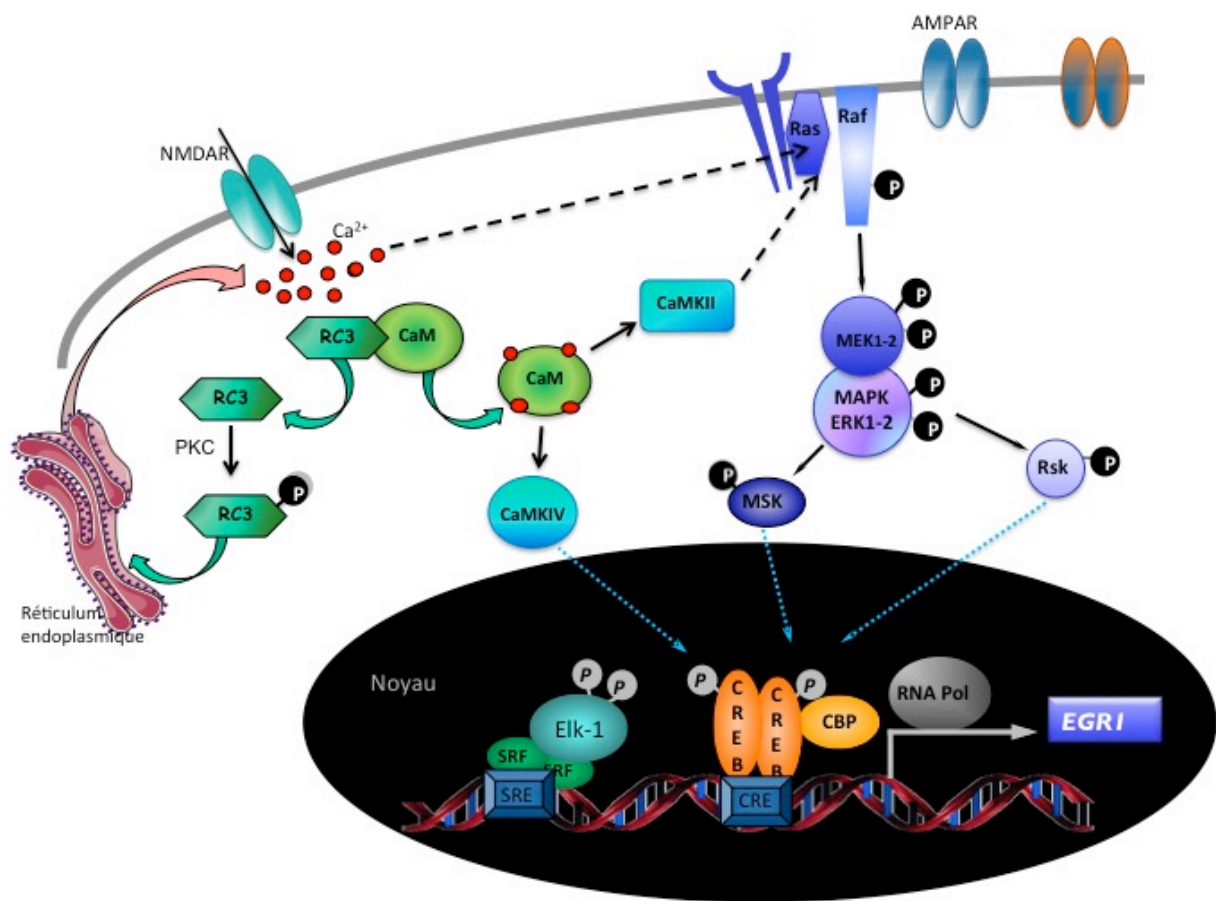


Figure 13 : Représentation schématique de la voie calcique (vert) et de la voie ERK-MAPK (violet).

b) La voie ERK-MAPK (extracellular signal regulated kinase/mitogen activated protein kinase)

La voie ERK-MAPK est une voie de signalisation qui assure la médiation de la transmission de signaux extracellulaires via des récepteurs membranaires associés à des effecteurs cytoplasmiques et nucléaires. Ces récepteurs, qui sont en majorité de la famille des récepteurs tyrosine/kinases (RTK) et des RCPG (*Sugden et Clerk, 1997*) vont, après activation par leurs ligands (des mitogènes, facteurs de croissance, chimiokines ou hormones), déclencher le recrutement de protéines dites « adaptatrices », telles que Grb-2 (growth factor receptor bound protein 2). Ce recrutement va permettre la mobilisation du facteur nucléosidique SOS (son of sevenless) qui va stimuler le passage de Ras de l'état inactif, lié au GDP, à l'état actif, lié au GTP. Ainsi une fois activée, Ras va interagir et activer les MAP3K, A-Raf, B-Raf ou c-Raf-1 qui régulent l'activation, par phosphorylation, des protéines MAP2K, MEK1 et MEK2, qui vont à leur tour phosphoryler ERK-1 et ERK-2. Une fois activées, ERK 1 et 2 vont pouvoir phosphoryler un certain nombre de substrats parmi lesquels on trouve des protéines membranaires (CD120a, Syk...), des protéines nucléaires (Pax6, Elk-1, c-Fos...), des protéines du cytosquelette (Tau, paxilin) et différentes protéines kinases (RSK (Ribosomal S6 Kinase), MSK (Mitogen and Stress activated Kinase), MNK) (*Revue dans Roux et Blenis, 2004 ; Seger et Krebs, 1995*). Les kinases RSK et MSK vont par la suite pouvoir moduler l'activité de différentes protéines. Parmi les cibles de ces kinases on retrouve le facteur de transcription CREB (*Cargnello and Philippe P. Roux 2011*) ; son activation va permettre de moduler l'expression de différents gènes, dont EGR1/zif268 (Early growth response protein 1) (*Sgambato et coll., 1998*) (figure 13).

De nombreuses études se sont intéressées au rôle de cette voie dans le cerveau. *Davis et coll. (2000)* ont montré que l'inhibition de la voie ERK-MAPK bloquait la phosphorylation de CREB et de Elk1, et donc l'induction de la transcription d'EGR1, entraînant une rapide détérioration de la PLT. D'autres travaux menés au laboratoire ont montré l'importance de cette voie de signalisation dans les processus mnésiques (*Bozon et coll. 2002 & 2003*). Ces travaux ont été confortés récemment par l'étude de *Veyrac et coll. (2013)* qui a montré que des souris EGR1-KO présentaient des problèmes de mémoire spatiale à long terme.

c) Altération des voies de signalisation calcique et ERK-MAPK dans la MA

À ce jour, plusieurs études, menées à la fois *in vitro* et *in vivo* suggèrent qu'une altération de ces voies de signalisations contribue à la détérioration des performances mnésiques observées au cours de la MA. Cependant ces études restent très controversées. En 2004, *Bell et ses collaborateurs* ont montré qu'une exposition aiguë au peptide A β -42 dans l'hippocampe entraîne une augmentation de l'activité de la voie ERK-MAPK alors qu'une exposition chronique entraîne une diminution de l'activité de cette même voie. Ces données sont en contradiction avec les travaux de *Ghasemi et coll. (2014)* qui montrent une augmentation de l'activité de ERK associée à des déficits mnésiques chez des rats injectés avec le peptide A β pendant 4 jours. Enfin *Ma et coll. (2007)*, en s'appuyant sur des études menées sur des cerveaux de patients atteints de la MA, suggèrent une activation de ERK dépendante du stade d'évolution de la MA.

Par ailleurs, d'autres travaux ont mis en évidence une diminution de p-CaMKII sur des tissus humains de patients atteints de la MA et chez des souris traitées par des infusions intracérébrales de peptides A β (*Reese et coll., 2011*). Ces données sont en accord avec les travaux de *Dineley et coll., (2010)* qui ont montré une augmentation de l'activité de CaN et une diminution des taux de p-CREB dans un modèle de souris ayant reçu, par injections intracérébro-ventriculaires, le peptide A β ; l'administration d'un inhibiteur de CaN a permis de réverser les effets observés. Par ailleurs, une diminution de la phosphorylation de CREB a été observée dans le cerveau de patients atteints de la MA (*Yamamoto et coll., 1999*) et chez des souris transgéniques sur-exprimant A β (*Dineley et coll., 2001 ; revue dans Bitner et coll., 2012*). Cependant, ces études sont en contradiction avec les résultats obtenus par *Muller et ses collaborateurs (2011)* qui montrent qu'une mutation sur le gène de la préséniline entraîne une augmentation de l'expression de CREB concomitante à une augmentation de l'activité de CaMKIV.

5.5. Atrophie cérébrale

Une des conséquences macroscopiques caractéristiques de la MA est l'atrophie du cerveau, visible à l'IRM (Imagerie par résonance magnétique). Cette atrophie cérébrale globale est plus importante que celle observée lors du vieillissement normal. En effet, des études d'imagerie rapportent une baisse de 2% du volume cérébral par an chez les patients atteints de la MA contre 0.5% chez des sujets âgés sains (*Resnick et coll., 2003 ; Evans et coll., 2010 ; Fox et coll., 1999*) (figure 14).

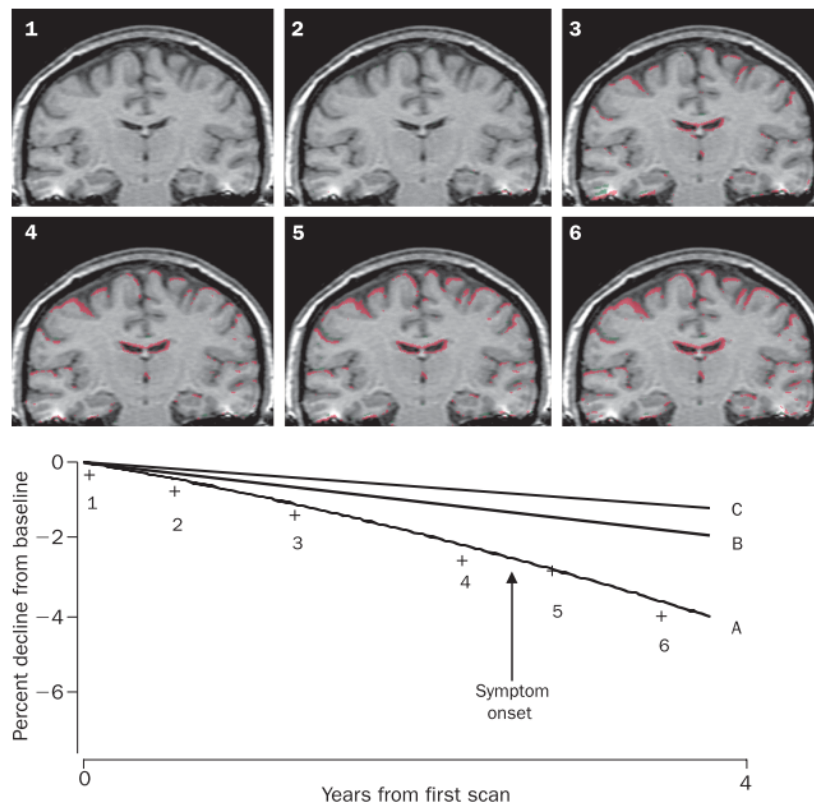


Figure 14. Evolution de l'atrophie cérébrale globale. Les clichés ci-dessus représentent une série de six acquisitions obtenue en IRM sur des patients initialement asymptomatiques et prédisposés à développer la forme familiale de la MA. Les scans ont été acquis sur une période de 4 ans avant l'identification des critères de démence ; les premiers symptômes ont été signalés entre les acquisitions 4 et 5 (flèche). Chaque scan a été identifié en fonction de sa position par rapport au premier scan. Les contours rouges représentent la perte de tissu par rapport aux valeurs initiales. Le panel inférieur représente les volumes cérébraux, issus des scans enregistrés dans le panneau supérieur (A) comparés à l'atrophie globale du cerveau au cours du vieillissement normal (B) et comparés à des personnes âgées de 70 ans et en très bonne santé (C). (D'après Fox et Schott., 2004)

D'un point de vue chronologique, il semblerait, d'une part, que le taux d'atrophie soit faible au début de la maladie, puis augmente avec la sévérité de la maladie (Evans et coll., 2010). D'autre part, il apparaît que certaines régions sont plus vulnérables que d'autres à cette atrophie. L'hippocampe, structure du système limbique impliquée dans la mémoire et la représentation spatiale, apparaît comme la région la plus vulnérable à cette atrophie, avec un taux d'atrophie pouvant atteindre 4.5% chez les patients se trouvant à un stade avancé de la MA contre 1.5% au cours du vieillissement normal (Barnes et coll., 2009). De plus, La Joie et coll. (2013) ont montré que la région hippocampique la plus touchée est la zone CA1. Cette vulnérabilité peut s'expliquer par le fait que la région hippocampique, et plus particulièrement la zone CA1, est la première zone atteinte par les DNF (Braak et Braak, 1996). Par ailleurs,

de nombreuses études ont mis en évidence une forte corrélation négative entre le nombre de neurones dans la zone CA1 de l'hippocampe et le nombre de DNF dans cette même région (Fukutani et coll., 2000; Von Gunten et coll., 2006). L'atrophie durant les stades précoces à modérés de la maladie peut également apparaître dans le cortex temporo-pariétal et le cortex cingulaire postérieur. Plus rarement, on peut la visualiser dans le cortex cingulaire antérieur, le cortex frontal, le thalamus, les noyaux caudés et les putamen ou l'insula.

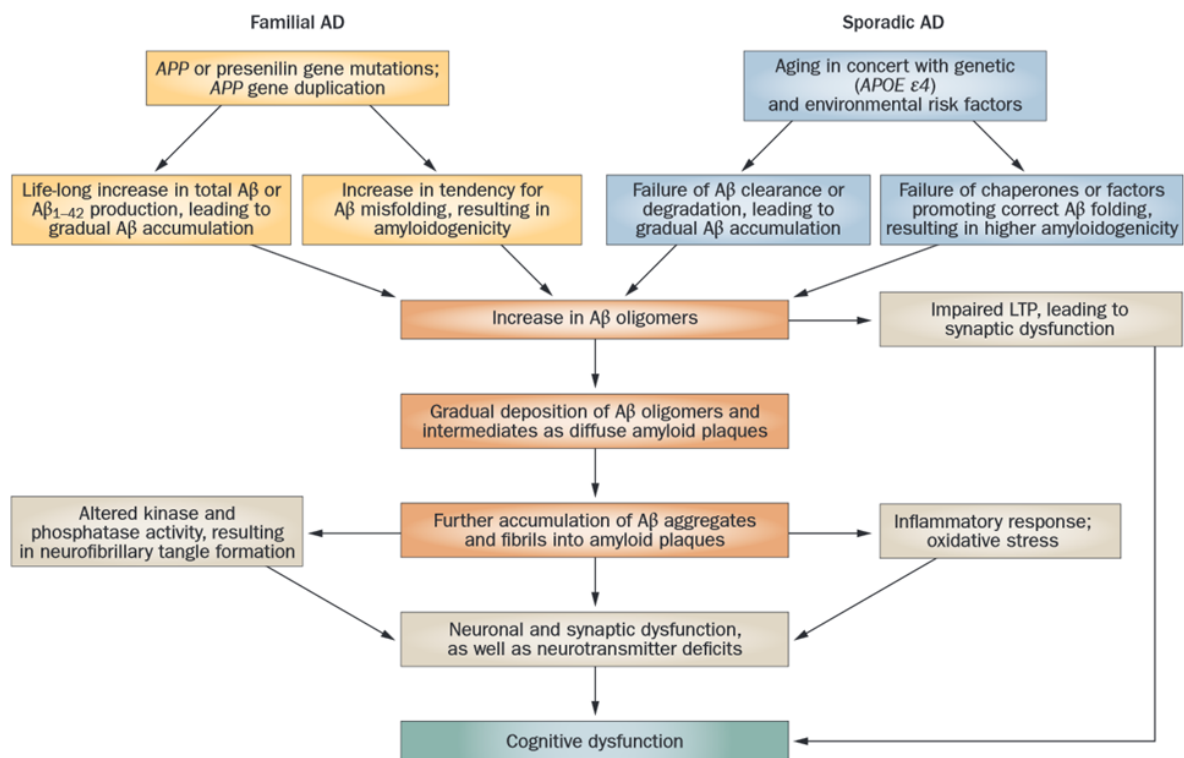


Figure 15 : Hypothèse de la cascade amyloïde : un déséquilibre entre la production et la clairance du peptide Aβ dans le cerveau provoque une augmentation du niveau du peptide Aβ. La forme soluble du peptide Aβ subit un changement de conformation favorisant son agrégation. Les dépôts amyloïdes favorisent la neurotoxicité, la perte synaptique et l'inflammation. Les données suggèrent que les oligomères d'Aβ solubles pourraient inhiber la PLT dans l'hippocampe et, par conséquent, perturber la plasticité synaptique. L'hyperphosphorylation de Tau et la formation subséquente de DNF, ainsi que l'inflammation et le stress oxydatif, sont considérés comme des événements en aval. (D'après Blennow et coll., 2010)

Aujourd'hui, la séquence d'apparition des lésions décrites ci-dessus dans l'étiologie de la MA n'est pas connue.

Seules quelques hypothèses sont avancées :

- *Une hypothèse laisse supposer que la surproduction de peptides amyloïdes est le premier déterminant étiologique de la maladie, et les DNF, la perte neuronale, la neuro-inflammation et la démence seraient les conséquences directes des dépôts amyloïdes (Hardy et Higgins, 1992). Il s'agit de l'hypothèse de la cascade amyloïde (figure 15).*

- *L'hypothèse Tau propose qu'une dérégulation de Tau est à l'origine de la neurotoxicité et des processus neurodégénératifs de la MA et que Tau est l'acteur clé dans la pathogenèse de la maladie. Cette hypothèse est soutenue par plusieurs résultats dont ceux de Roberson et coll. (2007) obtenus sur un modèle de souris transgéniques de la MA surexprimant le peptide amyloïde humain ; sur ce modèle, la réduction, même partielle de la protéine Tau permet de prévenir les problèmes de mémoire, malgré la persistance de niveaux élevés de peptides amyloïdes.*

- *Enfin en 2008, Hooper et coll., ont émis l'hypothèse selon laquelle une augmentation de l'activité de GSK3 β serait à l'origine des altérations mnésiques, de l'hyperphosphorylation de Tau, de l'augmentation d'A β , et de la réponse inflammatoire associée à la MA.*

6) Modèles animaux de la MA

Comme nous venons de le voir, la MA se caractérise par la présence de lésions cérébrales spécifiques : les dépôts amyloïdes (oligomères et agrégats de peptides amyloïdes A β) et les DNF. Ces lésions sont associées à une neuroinflammation, à des pertes neuronales et synaptiques graduelles et à des troubles progressifs de la mémoire et du comportement. Il s'agit d'une pathologie spécifiquement humaine et de ce fait, aucun modèle animal ne permet aujourd'hui de mimer parfaitement la maladie.

Les modèles expérimentaux les plus utilisés pour étudier cette pathologie sont des modèles de souris transgéniques dans lesquels ont été introduits des gènes humains. Différents types de souris transgéniques surexpriment le gène de l'APP humaine, sauvage ou muté : on retrouve chez ces animaux certains aspects de la maladie pouvant inclure des plaques amyloïdes, des déficits cognitifs, des altérations de plasticité synaptique et des signes

d'inflammation (*Duyckaerts, et coll., 2008 ; Van Leuven, 2000 ; Pozueta et coll., 2013 ; Webster et coll., 2014 ; Neha et coll., 2014*). Une surexpression du gène codant pour la protéine préséniline PS1 ou PS2 humaine mutée, n'a pas permis de mettre en évidence de plaques amyloïdes. En revanche des croisements obtenus à partir des lignées surexprimant APP et des lignées surexprimant PS1 accélère de la formation de plaques amyloïdes (*Borchelt et coll., 1997 ; Dewatcher et coll., 2000*). D'autres modèles miment davantage pathologie Tau (démences fronto-temporales) : chez ces animaux, il apparaît que la surexpression de la protéine Tau humaine sauvage entraîne une hyperphosphorylation de Tau sans toutefois conduire à la formation de DNF (*Gotz et coll., 2001*). En revanche, la surexpression de la protéine Tau mutée s'accompagne d'une pathologie neurofibrillaire progressive et d'une perte neuronale (*Gotz et coll., 2001*). Des souris surexprimant la protéine Tau humaine mutée au niveau de 4 sites (souris THY-Tau22) présentent également des déficits mnésiques associée à une perte de synapses fonctionnelles (*Schindowski et coll., 2006*). En 2003, *Oddo et ses collaborateurs* ont développé un modèle associant la pathologie amyloïde et la pathologie Tau. Ces souris triples transgéniques (3xTg-AD) possèdent les mutations de l'APP (Swedish), PS1 (M146V) et tau (P301L) ; elles développent des plaques amyloïdes dans le néocortex puis dans l'hippocampe et des DNF dans l'hippocampe puis dans le cortex. Ces souris présentent également un dysfonctionnement synaptique, ainsi que des déficits mnésiques. Cette lignée est actuellement considérée comme celle simulant de la manière la plus proche le développement de la MA chez l'homme.

Récemment, *Cohen et coll. (2013)* ont développé une souche de rats (TgF344-AD) exprimant les gènes mutés d'APP et de PS1. Ces rats présentent des dépôts amyloïdes, une tauopathie, une gliose ainsi qu'une dégénérescence neuronale dans le cortex et l'hippocampe. Au niveau fonctionnel, ces animaux présentent des déficits de mémoire spatiale et de travail. Ces quelques exemples d'animaux transgéniques mettent en évidence la difficulté de mimer tous les symptômes de la maladie dans un même modèle animal.

Les animaux présentant une manipulation génétique modélisent seulement la forme familiale de la MA, qui représente moins d'1% des cas. Afin de mieux comprendre et d'identifier les mécanismes à l'origine des formes sporadiques, des animaux non transgéniques tels que les lémuriens, microcèbes, chiens, dauphins, sont également utilisés (revue dans *Braidy et coll., 2012*). D'autres travaux s'intéressent aux facteurs qui semblent moduler la survenue la MA. Des modèles animaux présentant une modification de ces facteurs de risques sont de plus en plus développés.

7) Facteurs de Risque de la MA

Un ensemble de données de la littérature rapporte que le développement de la MA semble influencée par des facteurs tant génétiques qu'environnementaux (*Daviglus et coll., 2011 ; revue dans Berr et coll., 2009 et dans Barberger-Gateau et coll., 2013*).

La forme familiale repose uniquement sur des facteurs génétiques. Elle se caractérise par une transmission autosomique dominante. Trois gènes ont été identifiés : le gène codant la protéine APP (présent sur le chromosome 21) et les gènes codant pour les présénilines 1 et 2 (respectivement présents sur les chromosomes 14 et 1) (*Wu et coll., 2012*).

Concernant les formes sporadiques, l'origine est plus complexe. L'âge demeure le principal facteur de risque de la maladie (*Evans et coll., 1989; Kukull and Bowen 2002*) avec une incidence qui double par tranche d'âge de 5 ans à partir de 65 ans (*Letenneur et coll., 1994 ; étude PAQUID 2003*). Les femmes ont également un risque plus élevé que les hommes de développer la maladie particulièrement après l'âge de 80 ans (*Dartigues et coll., 2002*). Cette différence sexuelle pourrait s'expliquer par des différences génétiques et hormonales notamment liées à la baisse du niveau d'œstrogènes avec l'âge chez la femme ou simplement par la différence de longévité entre hommes et femmes (*Yaffe et coll., 1998*).

Le gène de l'apolipoprotéine E (ApoE), protéine de transport des lipides, apparaît être un gène de susceptibilité de la MA clairement défini. Il est exprimé chez l'homme sous trois isoformes codés par trois allèles, ApoE- ϵ 2, ϵ 3, et ϵ 4. L'allèle ApoE- ϵ 4 est associé à un risque accru de développer la MA avec un risque 2 à 3 fois plus élevé si un seul allèle est présent. Ce risque est 5 fois plus élevé si l'individu présente deux copies de l'allèle (*Kuusisto et coll., 1994 ; Liu et coll., 2013*). En revanche, être porteur d'un ou deux allèles ϵ 2 du gène de l'ApoE va réduire le risque de développer la MA de plus de la moitié (*Conejero-Goldberg et coll., 2014*).

D'autres travaux de la littérature laissent également supposer qu'il existe une association entre un niveau bas d'éducation et un risque accru de la MA (*Letenneur et coll., 1999*). Acquérir un haut niveau d'éducation pourrait différer la dégradation des capacités intellectuelles en permettant des phénomènes de compensation mnésique lors du développement des symptômes habituels de la maladie. *Fabrigoule (2002)* a aussi montré que la pratique d'activités comme le jardinage, les voyages, le bricolage est également associée à un risque moindre de MA et de démence en général. En effet, la nécessité de planifier les tâches pourrait constituer un entraînement et permettre au sujet de maintenir ses capacités et de retarder l'apparition de la démence. Ces données rejoignent celles qui ont mis en évidence que la pratique de la marche ou du sport pourrait être associée à un risque moindre de

développer une démence (*Abbott et coll., 2004 ; Podewils et coll., 2005 ; Belarbi et coll., 2011*). Dans ce contexte, l'existence de liens entre risque de démence ou MA et statut matrimonial ou réseau social ont été mis en évidence (*Helmer et coll., 1999*). Les sujets célibataires ou vivants seuls ont un risque double de développer une démence, comparés à ceux qui vivent en couple, et un faible réseau social accroît également le risque de démence de 60 % (*Helmer et coll., 1999 ; Fratiglioni et coll., 2000*). La stimulation cognitive, au sein du couple ou d'un réseau social plus développé, protégerait, ou retarderait la phase clinique de la démence.

Une étude réalisée par l'équipe de *Roriz-Cruz et coll. (2007)* présentée lors de la conférence internationale sur la MA (Chicago 2008) montre que les personnes atteintes du syndrome métabolique (obésité abdominale, hypertension artérielle, hyperglycémie et haut niveau de triglycérides) ont aussi un risque augmenté de 35% de développer une démence. Les patients ayant des antécédents de pathologies cardiovasculaires ont également une plus forte probabilité de développer une démence de type Alzheimer (*Pendlebury et Rothwell, 2009*). Le traitement de l'hypertension artérielle pourrait entraîner une réduction importante de l'incidence de la maladie (*Forette et coll., 1998; Forette et coll., 2002; Tzourio, 2007*). Une forte corrélation entre l'indice de masse corporelle (IMC) et le risque de développer la MA a été mise en évidence : l'obésité ou l'anorexie s'accompagnent d'un risque plus important de MA (*Stewart et coll., 2005 ; Grundman et coll., 1996*). Le diabète majorerait d'un facteur proche de 2 le risque de survenue de la maladie (*Leibson et coll., 1997 ; Knopman et coll., 2001; Xu et coll., 2004 ; Leboucher et coll., 2013; Papon et coll., 2013*). Des données épidémiologiques actuelles sont aussi en faveur d'un rôle protecteur de certains nutriments dans la prévention du déclin cognitif (*Luchsinger et Mayeux, 2004*). Des études ont montré que des apports élevés en vitamine C, vitamine E, flavonoïdes, acides gras polyinsaturés (consommation de poissons de la série n-3) ; des concentrations élevées de vitamine B12 et folates ; et de faibles apports en graisses totales sont associés à une diminution du risque de MA ou de déclin cognitif (*Engelhart et coll., 2002; Morris et coll., 2002*). Une consommation modérée de vin pourrait également avoir un effet neuroprotecteur sur la survenue d'une démence ou de la MA (*Orgogozo et coll., 1997*). Le rôle antioxydant de certains composants du vin, notamment les polyphénols (*Singh et coll., 2008*) comme le resveratrol protégerait de la MA (*Barberger-Gateau et coll., 2002; Luchsinger et coll., 2004; Wang et coll., 2006*). Récemment, l'effet bénéfique de la caféine a été rapporté (*Laurent et coll., 2014*).

Enfin des données récentes de la littérature, tant épidémiologiques que chez l'animal, suggèrent que des dysfonctionnements hormonaux pourraient être impliqués dans l'étiologie de la MA. Les travaux de *Tan et coll. (2008)* ont montré que des taux bas ou élevés de TSH (Thyroid Stimulating Hormone), caractéristiques d'un dysfonctionnement thyroïdien, étaient associés à un risque accru de développer la MA. Un état d'hypothyroïdie a été décrit chez les patients atteints de MA par bon nombre d'auteurs (*Yoshimasu et coll., 1991; Ganguli et coll., 1996; van Boxtel et coll., 2004; Sampaolo et coll., 2005; Tan et coll., 2009; Johansson et coll., 2013*).

Un état d'hypothyroïdie sévère ou subclinique, dont la prévalence augmente avec l'âge, a été caractérisé chez certains patients atteints de MA. Aujourd'hui, plusieurs auteurs s'accordent à penser qu'un dysfonctionnement thyroïdien pourrait être un des facteurs de risque de la MA.

Chapitre II : Les hormones thyroïdiennes

1) Métabolisme des Hormones thyroïdiennes

1.1. Généralités

La thyroïde est une glande endocrine située à la base du cou sur la face ventrale du larynx. Elle est constituée de deux lobes latéralement symétriques, situés contre la trachée et reliés par une partie centrale appelée l'isthme (*Ritchie et Balasubramanian, 2011*). L'unité morpho-fonctionnelle de la glande thyroïde est le follicule, composé d'un épithélium de cellules folliculaires (ou thyrocytes) produisant les hormones thyroïdiennes (HT), disposé autour d'une vésicule appelée colloïde. Le fonctionnement de la glande thyroïde est principalement régulé par l'axe hypothalamo-hypophysaire, qui répond au besoin des tissus périphériques en hormone thyroïdienne, ainsi que par l'apport en iode qui est le substrat essentiel de la synthèse hormonale thyroïdienne (*Schlienger, 1997*).

La thyroïde produit et sécrète les HT, molécules à caractère hydrophobes qui se présentent sous deux formes : la 3,5,3',5'tétra-iodo-L-Thyronine (Thyroxine ou T4) et la 3,3',5'triodo-L-Thyronine (Triiodothyronine ou T3) dont les structures chimiques sont présentées dans la figure 16 (*Schroeder et Privalsky, 2014*). Elles jouent un rôle important dans la différenciation cellulaire, la croissance, les processus de développement et la régulation du métabolisme basal (thermorégulation, balance énergétique, métabolisme du glucose...) (*Silva, 2006 ; Lopez et coll., 2013*).

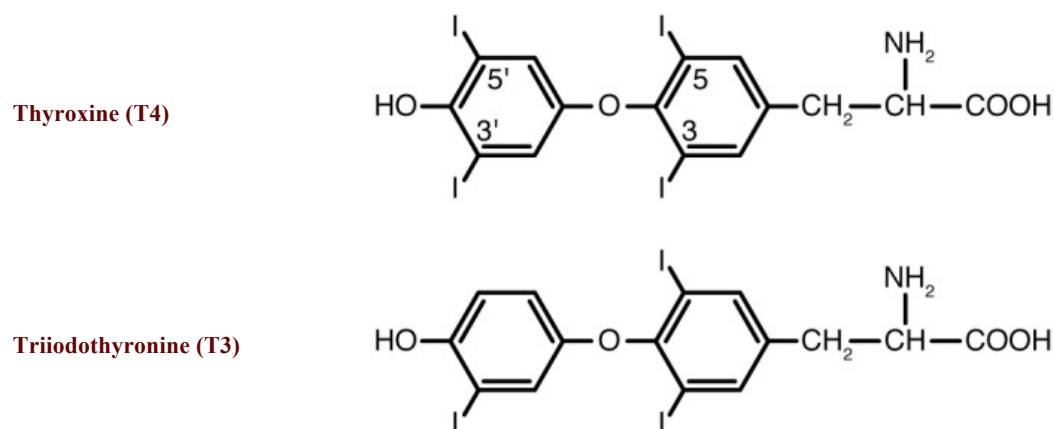


Figure 16 : Structure chimique des hormones thyroïdiennes.

1.2. Synthèse et sécrétion des HT

La synthèse des HT se fait au niveau des cellules folliculaires de la glande thyroïde. Ces cellules possèdent un pôle apical du côté de la colloïde et un pôle basal du côté des vaisseaux sanguins permettant l'échange de molécules du sang vers la colloïde et inversement (*revue dans Berger-Dutrieux, 1992*). La première étape de la synthèse des HT est la capture d'iode circulant par les thyrocytes. Il est apporté par l'alimentation sous forme d'iodure (I^-) ou d'iodate (IO_3^-). Après son absorption par les entérocytes, il est acheminé via la circulation sanguine vers la thyroïde (*Schlienger, 1997*). Le transporteur Na^+/I^- permet son entrée dans les cellules folliculaires et le gradient chimique facilite son passage dans la colloïde (*Dai et coll., 1996 ; Rousset, 2003*).

Le sang fournit également les acides aminés nécessaires à la synthèse d'une macromolécule appelée thyroglobuline (Tg), matrice de synthèse et de stockage des HT. Dans la colloïde, la thyropéroxydase (TPO), enzyme clé de la synthèse des hormones thyroïdiennes, oxyde en présence de peroxyde d'hydrogène les ions iodure (I^-), entraînant l'iodation des résidus tyrosyls de la Tg (*Deshpande et Venkatesh, 1999*) et conduisant à la formation de résidus monoiodothyrosine (MIT) ou diiodothyrosine (DIT) (figure 17) (*Cooper, 2005*). Le couplage de deux résidus de DIT aboutira à la formation de T₄, alors que la condensation d'un résidu MIT et d'un résidu DIT aboutira à la formation de T₃ (*Ruf et Carayon, 2006 ; Igo et coll., 1964 ; Deme et coll., 1977*).

L'ensemble thyroglobuline avec ses molécules T₃, T₄, MIT et DIT est alors mis en réserve dans la colloïde (*revue dans Yen, 2001*). En réponse aux besoins de l'organisme, la Tg couplée au HT peut être réinternalisée dans les thyrocytes. Elle est alors hydrolysée par des enzymes protéolytiques libérant ainsi les HT qui sont ensuite sécrétées dans la circulation sanguine via la membrane basale (*Taurog et coll., 1996*). Les autres constituants de la colloïde (MIT, DIT, thyroglobuline...) sont recyclés ou dégradés dans les lysosomes des cellules de la thyroïde. (*Rousset et coll., 1989*).

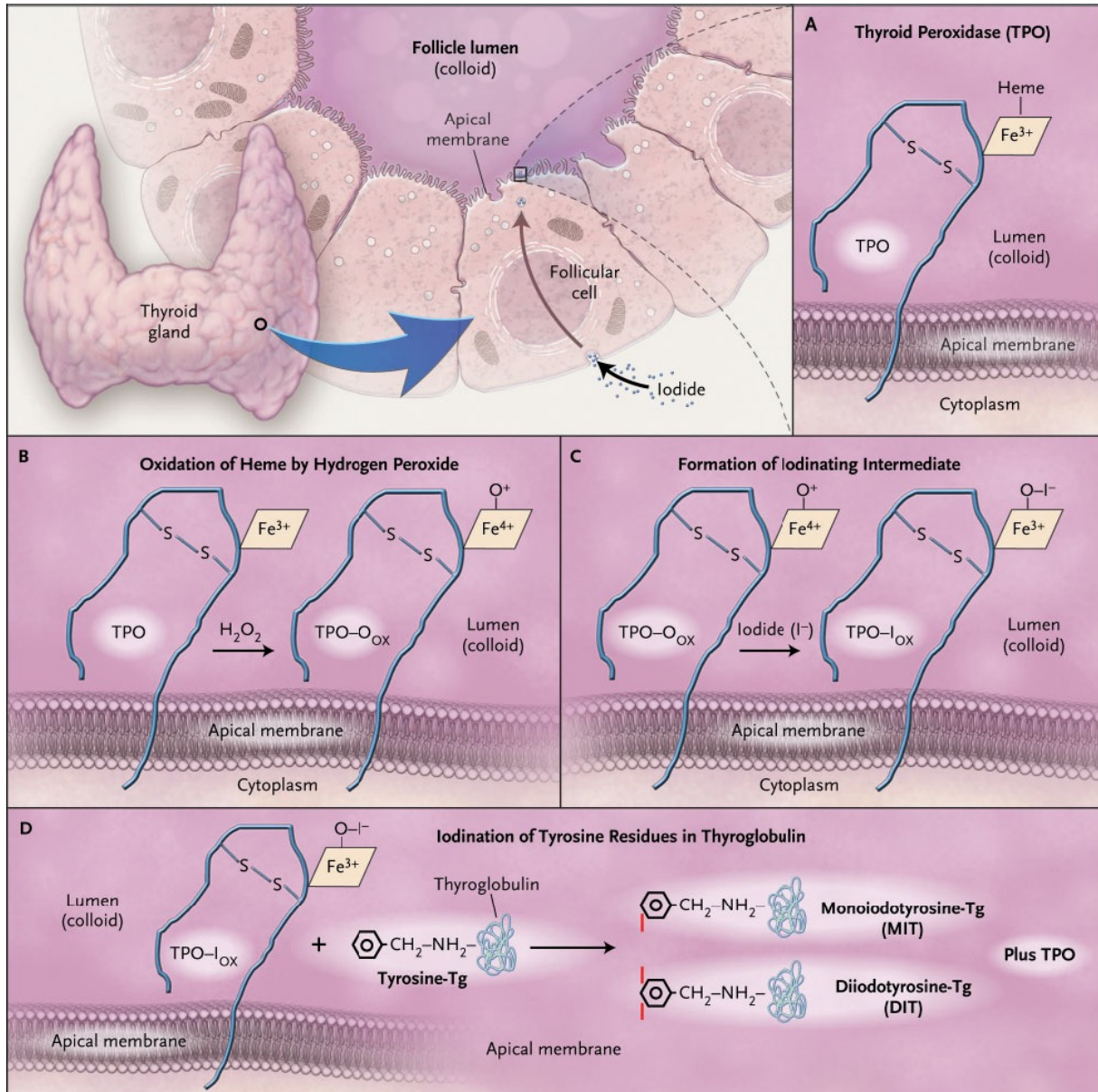


Figure 17 : Synthèse des hormones thyroïdiennes (*D'après Cooper, 2005*)

TPO : Thyropéroxydase ; Tg : Thyroglobuline

1.3. Transport plasmatique et entrée dans les tissus cibles

La forme majoritaire des HT secrétée par la thyroïde est la forme T4, encore appelée “forme circulante” alors que la T3 est considérée comme la “forme active” (90 nM pour T4 contre 2 nM pour T3) (*revu dans Yen, 2001*). En raison de leur caractère hydrophobe, les HT sont transportées dans le sang, liées à des protéines plasmatiques. On retrouve ainsi plus de 99.5% des HT liées à des protéines plasmatiques. Chez l’homme, le principal transporteur des HT est la TBG (thyroxine-binding globulin) qui assure 75% du transport. La transthyrétine (TTR) quant à elle n’assure que 10 à 15% du transport chez l’homme, alors que chez le rongeur elle constitue la protéine majeure de transport des HT (50% du transport) (*revue dans Palha et coll., 2002*). L’albumine contribue également au transport des HT (20%). Enfin il semblerait qu’une faible partie des HT circule dans le sang, liée à des lipoprotéines (*Benvenega et coll., 2001*).

Seules les HT à l’état libre (dissociées de leur protéine de transport) vont pénétrer dans la cellule ; chez l’homme, les fractions libres de T4 et de T3, représentent respectivement 0.03% et 0.3% des hormones totales (*Yen, 2001*). L’hypothèse d’une diffusion passive des HT à travers la membrane plasmique a longtemps été évoquée au vue de leur caractère lipophile. Certains auteurs ont récemment mis en évidence la présence de récepteurs membranaires : les transporteurs d’anions organiques (OATP), les transporteurs d’acides aminés de type L (Lat), les transporteurs de monocarboxylate (MCT) tel que MCT8 très exprimé dans le foie et le cerveau (*Hennemann et coll., 2001 ; Schweizer et Köhrle, 2013 ; van der Deure et coll., 2010*).

2) Mode d’action cellulaire des hormones thyroïdiennes

Des données bibliographiques ont permis d’établir que les HT agissent dans les cellules cibles principalement par l’intermédiaire de récepteurs nucléaires pour réguler la synthèse d’ARN messagers spécifiques (*Bastien et Rochette-Egly, 2004 ; Yen et coll., 2006*). En plus des mécanismes d’action nucléaire des HT s’ajoutent des actions extra-nucléaires de la T3 dont les effets sont non négligeables, particulièrement dans le cerveau.

2.1 Effets génomiques des HT

T3, forme active des HT, régule la transcription de gènes cibles en se liant à des récepteurs nucléaires spécifiques appelés récepteurs des HT ou TR. Les TR appartiennent à la superfamille des récepteurs nucléaires incluant les récepteurs pour différents ligands hydrophobes tels que les stéroïdes, les hormones thyroïdiennes, les dérivés hydroxylés de la vitamine D, l'acide rétinoïque ou encore les acides gras. Ce sont des facteurs de transcription capables de se fixer, généralement sous forme de dimères, au niveau de séquences spécifiques d'ADN, appelées éléments de réponse aux hormones HRE ("Hormone Response Element"). Cette liaison permet aux HT de moduler l'expression de leur gènes cibles (*Mangelsdorf et coll., 1995 ; Brent, 2012*). Une interaction de ce complexe avec des corepresseurs ou des coactivateurs conduit à une activation ou à une répression de la transcription génique du gène cible : on parle de régulation positive ou négative de l'expression par T3 (*Lazar, 2003 ; Vella et coll., 2014*).

2.1.1. Les récepteurs nucléaires TR

Deux gènes différents codent pour les TR : TR α et TR β . La transcription du gène TR α produit trois ARNm, qui sont ensuite traduits en TR α_1 , TR α_2 et TR α_3 (*Mitsubishi et coll., 1988*). La présence de deux promoteurs différents et l'épissage alternatif en 5' du gène TR β génèrent aussi plusieurs protéines: TR β_1 , TR β_2 et TR β_3 (*Hodin et coll., 1989*). Les isotypes TR α_1 et TR β_1 sont exprimés de manière ubiquitaire dans les tissus de rat, tandis que TR β_2 est spécifique du lobe antérieur de l'hypophyse et de certaines zones de l'hypothalamus (*Lazar, 1993 ; Flamant et Samarut, 2003*). TR β_3 est aussi assez largement exprimés dans le foie, les reins, les poumons et la rate (*Harvey et Williams, 2002*). Les isoformes TR α_2 et TR α_3 , qui n'ont pas de domaine de liaison à l'hormone, semblent fonctionner comme des inhibiteurs compétitifs de l'action des HT en se liant à des éléments de réponse aux HT, les TRE (Thyroid hormone Response Element), entraînant la suppression de la transcription (*Lazar et coll., 1989*). Les isotypes TR fonctionnels exprimés dans le SNC sont TR α_1 , TR β_1 et TR β_2 .

2.1.2. Les gènes régulés par la triiodothyronine

Les HT sont connues pour réguler un très grand nombre de gènes dans de nombreux types cellulaires. Ces gènes peuvent être impliqués dans de nombreuses fonctions cellulaires telles que le métabolisme énergétique, la transduction du signal, l'adhésion cellulaire, la migration cellulaire, la transcription, et le cycle cellulaire (figure 18) (*revue dans Huang et coll., 2008*).

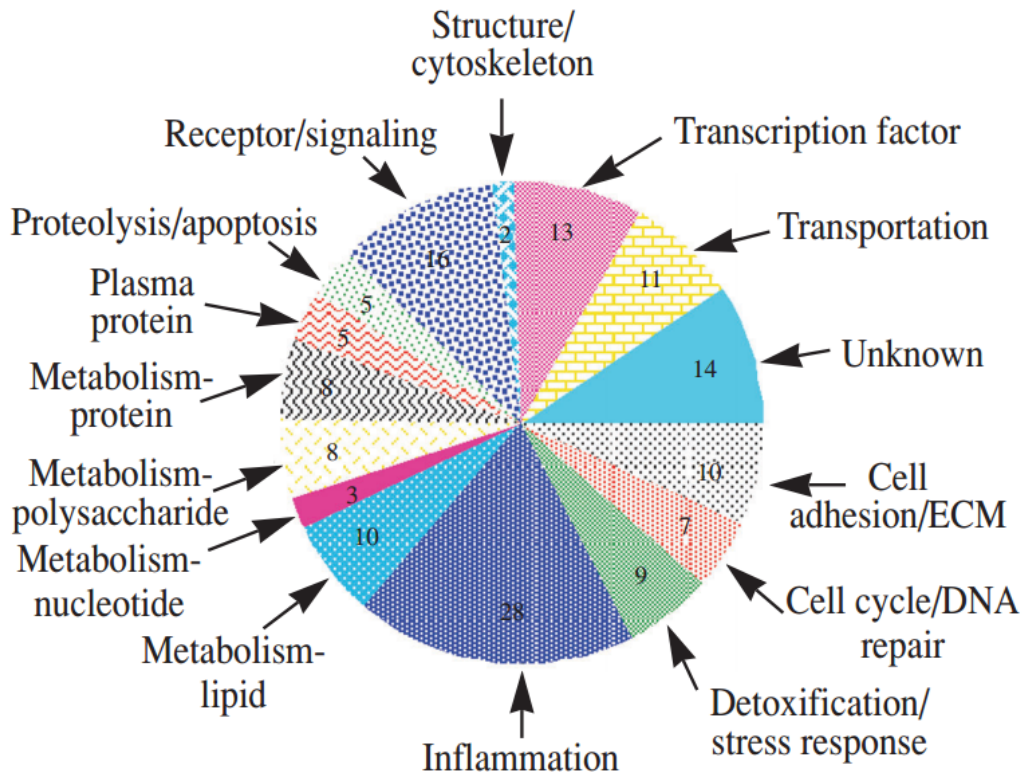


Figure 18 : Diagramme circulaire représentant les fonctions des 149 gènes dont l'expression est régulée positivement par la T3. Ces données ont été obtenues après une expérience de puces à ADN réalisée sur des cellules HepG2 traitées avec 100 nM de TR α 1-T3 pendant 48 h (D'après Huang et coll., 2008).

Dans le cerveau, un TRE a été observé au niveau du promoteur de nombreux gènes (revue dans Chatonnet et coll., 2014). Le tableau III, présente une liste non-exhaustive de gènes dont l'expression est régulée par T3. La plupart des gènes cibles ont été identifiés au cours du développement.

L'expression des TR est régulée par leur propre ligand. L'autorégulation des ARNm codant les différents TR semble dépendante des isoformes et du type cellulaire concerné (Hodin et coll., 1990 ; Lebel et coll., 1993 ; Sadow et coll., 2003). Dans l'hypophyse, la T3 permet une augmentation de l'expression des TR β ₁, et une diminution des TR β ₂ et TR α ₁. Diverses études montrent une régulation positive de l'expression de TR β ₁ par la T3 dans le cerveau, ce qui rend cet isotype déterminant pour la régulation des gènes cibles en accord avec le statut thyroïdien (Strait et coll., 1990 ; Bernal et Nunez, 1995). Le taux d'ARNm codant pour les TR traduit la biodisponibilité cellulaire de leur ligand, la T3.

Tableau III : Exemples de gènes régulés par la triiodothyronine dans le cerveau. (D'après Vallortigara, 2007)

Sigle	Dénomination	Régulation
TR β	Récepteur nuc. β de la triiodothyronine	+
TRH	Thyrolibérine	-
TSH	Thyrotropine (s.u. α et β)	-
DII	5'-désiodase de type II	-
RXR β	Récepteur nuc. β de l'acide 9- <i>cis</i> rétinoïque	+
RXR γ	Récepteur nuc. γ de l'acide 9- <i>cis</i> rétinoïque	-
CRABPI	Protéine cytosolique de liaison de l'AR de type I	-
RC3	Neurogranine	+
DYN	Dynorphine	-
ENK	Enképhaline	-
NGF	Facteur de croissance nerveux	+
BDNF	Facteur de neurotrophine dérivé du cerveau	+
BTEB	Protéine liant les éléments de transcription	+
<i>Srg1</i>	Protéine apparentée à la synaptogamine	+
MAG	Glycoprotéine associée à la myéline	+
hGH	Hormone de croissance de l'homme	-
rGH	Hormone de croissance du rat	+
N-CAM	Molécule d'adhérence cellulaire	-
NT3	Neurotrophine 3	+
PGD2	Prostaglandine D2 synthase	+
MBP	Protéine basique de la myéline	+
PLP	Protéines protéolytiques	+
p58-M1	Pyruvate kinase pituitaire	+
Pcp2	Protéine 2 de cellules de Purkinje	+
	Cycline D2	+
P62	Glycoprotéine de pore nucléaire	+
rhes	Protéine homologue de Ras, enrichie dans le striatum	+
c-myc		-
Reelin	Protéine de la matrice extracellulaire	-
Dab	Protéine de la matrice extracellulaire	+

Dans le cerveau adulte, le gène codant la neurogranine (RC3) est considéré comme un bon indicateur tissulaire du taux d'HT. Un élément de réponse TRE a été mis en évidence dans le premier intron du gène codant pour NGRN, homologue de RC3 chez l'homme

(Martinez de Arrieta et coll., 1999). Plusieurs études *in vivo* et *in vitro* ont montré une régulation positive de l'expression de RC3 par les HT dans le cerveau mature (Iniguez et coll., 1996 ; Piosik et coll., 1996 ; Morte et coll., 1997).

2.2. Effets non-génomiques des HT

Les HT peuvent également agir selon un mode d'action non génomique. En effet, les HT peuvent réguler en partie la transcription du génome mitochondrial par liaison de T3 sur les récepteurs TR, ce qui entraînerait une stimulation du métabolisme énergétique via les oxydations phosphorylantes (Martinez et coll., 2001 ; Bassett et coll., 2003 ; Saelim et coll., 2004). Les récepteurs TR peuvent également médier des effets rapides au niveau de la membrane plasmique sur la phosphatidylinositol-3 kinase (PI3K) et la cascade de signalisation Akt en aval de cette kinase (Hiroi et coll., 2006; Storey et coll., 2006). La présence de T3 stimulerait l'association des TR avec la PI3K.

Les HT exercent également des actions extra-génomiques ne faisant pas intervenir leurs récepteurs spécifiques. Elles agissent au niveau de la membrane plasmique, des organelles cellulaires et du cytosquelette. A titre d'exemple, les HT peuvent influencer sur le transport de divers solutés (Na^+ , Ca^{2+} , glucose) et sur les activités de nombreuses kinases (PKC, kinases AMPc-dépendantes, pyruvate kinase) (Yen, 2001; Leonard 2008).

3) Le statut thyroïdien

Les concentrations sériques et tissulaires des HT sont très finement régulées. Des déséquilibres hormonaux peuvent avoir de multiples causes : l'apport en iode (indispensable à la production des HT), l'âge, une pathologie thyroïdienne auto-immune, un dysfonctionnement de l'axe hypothalamo-hypophysaire, des mutations géniques, un dysfonctionnement de la thyroïde.

Seulement 20% de la T3 est directement synthétisée au niveau de la thyroïde, contrairement à la T4 qui est uniquement produite par la glande. La production quotidienne de T3 est donc principalement réalisée dans d'autres tissus (principalement dans le foie), à partir de la T4, par action d'enzymes, les désiodases. Ces désiodases régulent précisément le taux de T3 au niveau cellulaire.

L'axe neuroendocrinien est également soumis à l'influence de nombreux facteurs modulateurs, comme par exemple la concentration en iode, le froid, le stress. Une augmentation synchrone du taux d'hormones circulantes TSH, T4 et T3, due à un défaut de régulation, donne lieu au syndrome de résistance aux hormones (*Weiss et Refetoff, 2000*).

3.1. La régulation des taux d'HT

3.1.1. Axe hypothalamo-hypophysaire-thyroïdien

La synthèse des HT est finement régulée par l'axe hypothalamo-hypophysaire (*revue dans Costa-e-Sousa et Hollenberg, 2012*) (figure 19). La synthèse de T4 par la thyroïde est activée par l'hormone hypophysaire TSH (Thyroid Stimulating Hormone) qui va agir au niveau des cellules folliculaires de la glande en se liant aux récepteurs TSHR (*Shupnik et coll., 1989*). Ceci va entraîner l'activation de cascades biochimiques, aboutissant à la régulation de l'expression de gènes spécifiques de la glande thyroïdienne tels que le transporteur Na⁺/I⁻, la Tg ou encore la TPO. La production de TSH est elle-même stimulée par la libération de TRH (Thyrotropin Releasing Hormone) d'origine hypothalamique (*Koller et coll., 1987*). Par ailleurs, la T4 et la T3 circulantes vont exercer un rétrocontrôle négatif sur leur propre synthèse en réprimant l'expression des gènes codant pour les deux sous-unités de la TSH, TSH α et TSH β , ainsi que du gène codant pour la TRH (*Fliers et coll., 2006 a et b ; Chiamolera et Wondisford, 2009*). Par conséquent, l'augmentation de la concentration en HT dans le sang inhibe à la fois la synthèse de la TRH et de la TSH menant à un arrêt de la sécrétion de T4 et T3 ; en revanche lorsque la concentration sérique en HT diminue, le signal de rétrocontrôle négatif s'affaiblit et la sécrétion de TRH augmente (*revue dans Yen, 2001 ; Zoeller, 2003*).

3.1.2. Régulation locale par les désiodases

Un groupe de sélénoprotéines appelées désiodases contrôle également l'action des hormones thyroïdiennes par activation ou inactivation des hormones sécrétées par la glande thyroïde. Ces protéines assurent la régulation de la disponibilité en T3. L'ensemble des réactions de désiodation est résumé dans la figure 20. La T4 subit une désiodation périphérique la transformant en une forme hormonale active, la T3 ; la réaction est catalysée par des désiodases de type 1 (D1) et de type 2 (D2), clivant un des atomes d'iode du cycle externe de la T4. La désiodase de type 1, absente du tissu cérébral est localisée dans le foie, la thyroïde et le rein, et est responsable de l'essentiel de la production de T3 circulante. Les

hormones thyroïdiennes peuvent réguler la synthèse de D1 ainsi que son activité (*Bianco et coll., 2002*).

La D2 est exprimée dans le cerveau, l'hypophyse et le tissu adipeux brun ; elle convertit la T4 en T3 pour une utilisation intracellulaire (*Bianco et Kim, 2006*). Dans le cerveau 80% de la T3 provient de la désiodation de la T4 en T3 (*Crantz et coll., 1982*). Son activité augmente avec la baisse des niveaux sériques de T4 pour favoriser la production de T3 (*Obregon et coll., 2005*). Elle n'est cependant exprimée que dans certains types de cellules du SNC : les astrocytes et les tanocytes (*Guadano-Ferraz et coll., 1999*). Actuellement, on pense que, dans le cerveau, ce sont les astrocytes qui génèrent la T3 active à partir de la T4 circulante, libérant ainsi par la suite l'hormone active à proximité des neurones. La désiodase de type 3 localisée essentiellement dans les neurones, pourrait réguler la disponibilité locale en HT dans le cerveau en dégradant aussi bien la T4 que la T3 en leurs métabolites inactifs (*Freitas et coll., 2010*). La D3 permet de réguler la baisse de concentration en HT locales et de protéger les neurones de niveaux élevés d'HT (*Dentice et Salvatore, 2011*).

La désiodation du cycle interne de la T4 et de la T3 génère des métabolites inactifs (rT3 ou 3,3',5' triiodo-L-thyronine et T2 ou 3,3'-diiodothyronine respectivement) (*Goumaz et Burger, 1992*). D'une manière générale, chez l'homme, la monodésiodation de la T4 produisant de la T3 ou rT3 représente 80% de la métabolisation de la thyroxine. Des études ont mis en évidence que lorsque les taux d'HT sont faibles, les taux de désiodase de type 2 sont augmentés dans le cerveau. Réciproquement, lorsque les concentrations en HT sont élevées, on observe une augmentation des niveaux de désiodase de type 3 (*Calvo et coll., 1990 ; Guadano-Ferraz et coll., 1999 ; Heuer, 2007*).

L'activité des désiodases varie selon la spécificité de leur substrat, le produit de réaction, la localisation cellulaire et la cinétique enzymatique (*Lazar, 1993*). Les niveaux intracellulaires de T3 dépendent des activités relatives de chaque désiodase permettant ainsi une régulation fine au niveau de chaque cellule cible (*Bianco et coll., 2002 ; Chassande, 2003*). Cet équilibre protège le cerveau contre les effets néfastes de l'hyper- ou l'hypothyroïdie.

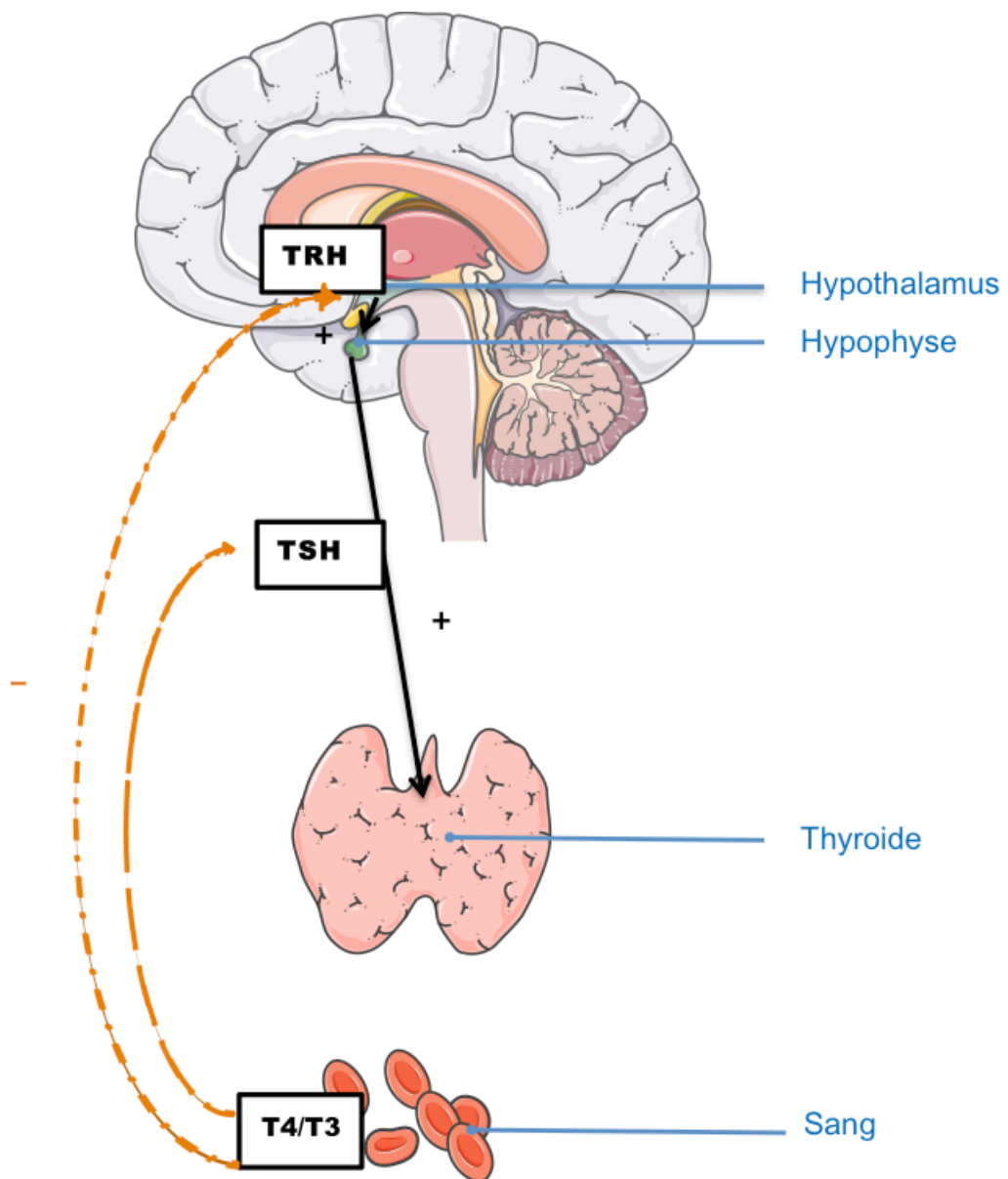


Figure 19 : Régulation de la production des hormones thyroïdiennes par l'axe hypothalamo-hypophysaire

3.1.3. Catabolisme des HT

Chez l'homme, le métabolisme de dégradation de la T4, forme majoritaire, concerne 20% des stocks de thyroxine. Au niveau du foie, les HT peuvent être conjuguées sur leur fonction phénolique selon une glucuroconjugaison pour la T4 et une sulfoconjugaison pour la T3. Ces hormones conjuguées sont ainsi déversées dans la bile à partir du foie, et leur hydrolyse dans l'intestin permet un cycle entérohépatique des iodothyronines d'une importance non négligeable (*DiStefano et coll., 1993*). Cette voie de dégradation est d'une moindre importance chez l'homme comparativement au rat chez lequel elle représente 50% du métabolisme des hormones. Par ailleurs, dans la plupart des tissus cibles des HT, des réactions de désamination et décarboxylation des HT produisent des acides tétra- ou triiodothyroacétiques (TETRAC, TRIAC). Ces acides peuvent être déshalogénés dans les cellules cibles et libérer de l'iode qui va retourner dans la circulation sanguine (*Goumaz et Burger, 1992; Juge-Aubry et coll., 1995*).

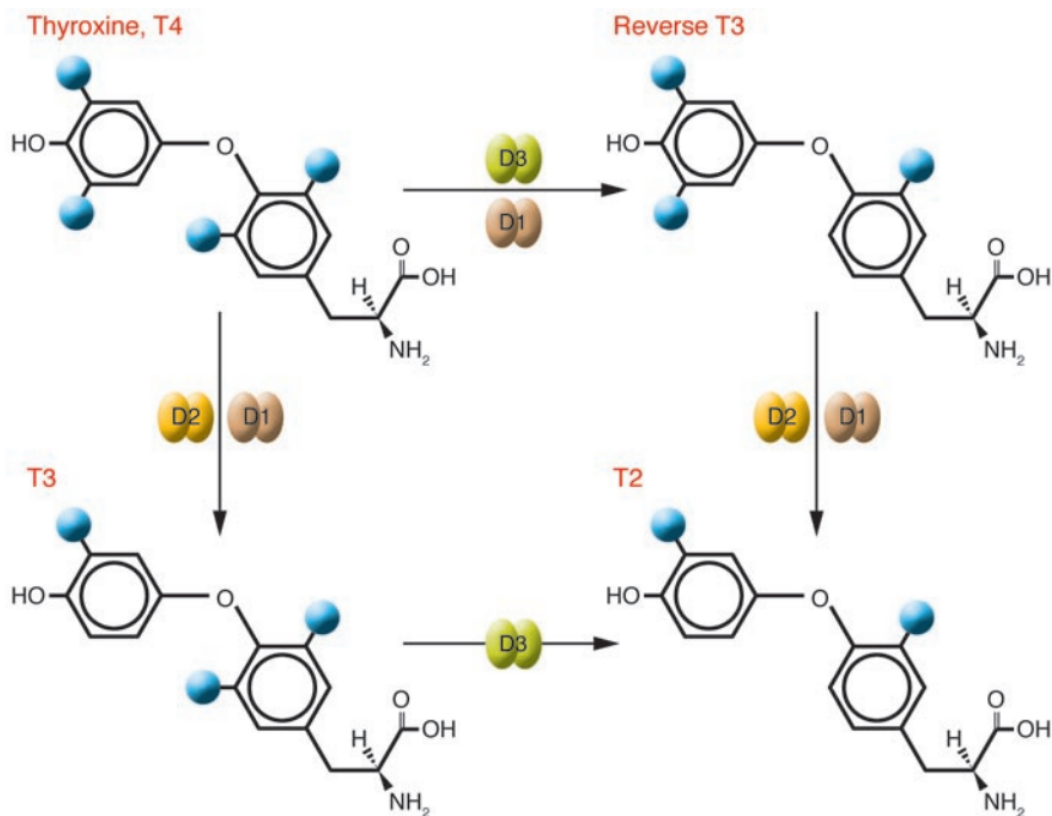


Figure 20 : Principales étapes d'activation et d'inactivation des hormones thyroïdiennes par les désiodases. rT3 : 3,3',5'- triiodothyronine (reverse T3) ; T2 : 3,3'-diiodothyronine (d'après Bianco et Kim, 2006).

3.2. Les déséquilibres hormonaux

Une altération du taux d'HT peut conduire à l'apparition d'un dysfonctionnement thyroïdien, entraînant ainsi une hyperthyroïdie ou une hypothyroïdie. Les symptômes de l'hyperthyroïdie incluent une perte de poids, de l'anxiété ou de la nervosité, une transpiration accrue, des tremblements, de la diarrhée, des palpitations, une faiblesse musculaire, ou encore une intolérance à la chaleur. L'hypothyroïdie se manifeste par des signes typiques qui incluent la fatigue, le gain de poids, la dépression, la léthargie, la peau sèche, l'intolérance au froid, un changement de voix, et des crampes musculaires.

Un dysfonctionnement de la thyroïde représente l'un des principaux troubles endocriniens. Il est cependant assez difficile d'obtenir des données épidémiologiques précises, car il faut tenir compte des populations étudiées, de leurs spécificités génétiques, mais surtout de l'apport en iode de leur environnement. En 2014, *Madariaga et ses collaborateurs*, dans leur méta-analyse, ont évalué la prévalence des désordres thyroïdiens en Europe à environ 3.82%, avec une prévalence de 3.05% et 0.75% respectivement pour l'hypo- et l'hyperthyroïdie. D'une façon générale, il semble que la prévalence la plus forte revient à l'hypothyroïdie, qu'elle soit sévère ou infraclinique.

3.3. L'hypothyroïdie

L'hypothyroïdie est l'une des affections thyroïdiennes les plus communes. Elle implique une grande variété de symptômes et différents degrés de sévérité. Au cours des deux dernières décennies, une série de travaux a mis l'accent sur les mécanismes physiopathologiques et pathogéniques impliqués dans l'atteinte thyroïdienne tandis que les progrès de l'exploration fonctionnelle en permettent un diagnostic plus sûr et surtout plus précoce.

3.3.1. Définitions

L'hypothyroïdie est traditionnellement définie comme un déficit en HT. Il existe différents critères pour définir une hypothyroïdie selon que l'on parle de la période de développement de la maladie, du niveau de dysfonctionnement endocrinien ou de la sévérité (*revue dans Wilmar, 2013*) :

- On parlera d'hypothyroïdie néonatale ou congénitale pour les nouveaux-nés, et d'hypothyroïdie acquise chez l'enfant ou l'adulte.
- L'hypothyroïdie primaire (ou périphérique) se réfère à une diminution de la sécrétion en HT causée par des facteurs affectant la glande thyroïde elle-même. La chute de la

concentration sérique en HT qui en découle provoque une sécrétion accrue de TSH. La diminution de la sécrétion thyroïdienne en HT peut également être causée par une stimulation insuffisante de la glande thyroïde par la TSH, (hypothyroïdie secondaire) ou indirectement par la diminution de la sécrétion hypothalamique en TRH (hypothyroïdie tertiaire). Dans la pratique clinique, il n'est pas toujours possible de discriminer les hypothyroïdies « secondaires » et « tertiaires », qui sont donc souvent regroupées sous le terme d'hypothyroïdie centrale. Dans de rares cas, les symptômes et les signes d'un déficit en HT sont causés par l'incapacité des tissus à répondre à l'hormone thyroïdienne. Ils seraient dus à des mutations au niveau du gène codant les TR et seraient connus sous le nom de résistance aux HT. Au niveau clinique, ces pathologies sont associées à une sécrétion normale des HT. Des mutations dans d'autres gènes impliqués dans le métabolisme extra-thyroïdien et l'action des hormones thyroïdiennes dans les tissus cibles peuvent aussi causer une hypothyroïdie (ex : MCT8). Ces cas pourraient être étiquetés comme hypothyroïdie fonctionnelle.

- Une affection modérée du statut sera qualifiée d'hypothyroïdie infraclinique ou subclinique. Lorsque le statut est fortement altéré, on parle d'hypothyroïdie sévère (*revue dans Roberts et Ladenson, 2004*)

3.3.2. Epidémiologie

L'hypothyroïdie est une maladie fréquente, qui touche environ 3% de la population en Europe (*Madariaga et coll, 2014*). La prévalence augmente avec l'âge, surtout après 50 ans (*Bensenor et coll., 2012*) ; les femmes sont 10 fois plus touchées que les hommes (*Vanderpump, 2011*).

La prévalence de l'hypothyroïdie infraclinique, fréquemment décrite chez les personnes âgées, est supérieure à celle de l'hypothyroïdie sévère (7,5% de la population générale) (*Surks et coll., 2004*).

3.3.3. Signes cliniques

a) Tableau clinique général

Les affections thyroïdiennes sévères sont associées à des symptômes et signes cliniques majeurs, ce qui n'est pas le cas pour les hypothyroïdies infracliniques qui sont dites asymptomatiques.

Chez le nouveau-né, l'hypothyroïdie congénitale est accompagnée d'un défaut de croissance staturo-pondérale et d'une atteinte osseuse. Le plus souvent un développement ectopique de la glande voire une absence de la thyroïde est mis en évidence (*Toublanc, 1992*).

L'hypothyroïdie acquise entraîne diverses manifestations musculaires et cutanées (démarche ataxique, crampes, sècheresse de la peau, dépilation et perte des cheveux). Un syndrome hypométabolique général entraîne un ralentissement global des fonctions vitales, intellectuelles et physiques, avec une diminution de la température corporelle et une certaine frilosité (*revue dans Roberts et Ladenson, 2004*). A cela s'ajoutent des troubles digestifs comme la constipation, une prise de poids, et des manifestations hématologiques telles que l'anémie et des troubles de la coagulation (*Jaffiol, 1992*). Selon la cause de l'hypothyroïdie, on peut observer par échographie une atrophie de la glande ou un goitre. Il est à noter que ces signes et symptômes n'apparaissent pas systématiquement tous en même temps et qu'ils peuvent parfois évoquer d'autres pathologies.

b) Conséquences cérébrales et cognitives

En plus de leur action dans la régulation du métabolisme général, les HT jouent un rôle essentiel dans le développement et la maturation du système nerveux central (*Morreale de Escobar et coll., 2004*) et dans le maintien des fonctions cérébrales chez l'adulte (*Smith et coll., 2002*). De nombreuses études ont mis en évidence les effets nocifs d'un déficit en HT au cours des stades du développement (*Morreale de Escobar et coll., 2004 ; Horn et Heuer, 2010 ; Halpern et coll., 1991*). En effet, un déficit en HT durant la période développementale entraîne chez les enfants un sévère retard mental, une surdité, une diplégie spastique et une rigidité extrapyramidale (*Halpern et coll., 1991*). Ces déficits sous-tendent des altérations de prolifération, de migration et de maturation cellulaire, mais également des défauts de myélinisation et une altération structurale des cellules (*revue dans Chan et Kilby, 2000*). Ces altérations irréversibles sont responsables d'un quotient intellectuel anormalement faible et conduisent au crétinisme.

Chez l'adulte, l'action des HT sur le cerveau et les processus cognitifs n'est pas aussi bien documentée. Cependant des travaux menés chez l'homme, ont révélé qu'une hypothyroïdie sévère ou sub-clinique entraîne des déficits cognitifs, en particulier des troubles de la mémoire spatiale, de la mémoire associative, de la mémoire verbale (*Correia et coll., 2009*), de la mémoire de travail (*Samuels, 2010*). Au niveau comportemental, différentes manifestations sont recensées telles que des déficits d'attention, des troubles de l'humeur comme la dépression voire la manie, l'ataxie (trouble de la coordination des mouvements d'origine neurologique) (*Bauer et coll., 2003 ; Roberts et Ladenson, 2004 ; Gulseren et coll., 2006*). Au niveau cellulaire, les données de *Cortés et coll. (2012)* montrent que l'hypothyroïdie induite par un traitement PTU chez des rats adultes, altère la composition des

densités postsynaptiques et diminue la survie neuronale et astrocytaire. L'hypothyroïdie chez l'adulte altère également la neurogenèse dans le gyrus denté avec une diminution de 30% du nombre de cellules en prolifération (*Montero-Pedrazuela et coll., 2006 ; Zhang et coll., 2009 ; revue dans Remaud et coll., 2014*).

3.3.4. Diagnostic

Le diagnostic de l'hypothyroïdie est basé sur un interrogatoire et un examen clinique ; les dosages hormonaux TSH, T4 et T3 libres effectués confirment le diagnostic. Le dosage des HT libres a remplacé celui des protéines totales permettant ainsi de s'affranchir des variations de protéines de transport plasmatiques (*Jaffiol, 1992 ; Topliss et Eastman, 2004*). Une hypothyroïdie sévère implique, au niveau sérique, l'augmentation de la TSH et la diminution des hormones libres T4 et T3. Si l'affection thyroïdienne est infraclinique, seule une augmentation du taux de TSH plasmatique est détectée.

L'hormone TSH est le premier paramètre modifié en cas de dysthyroïdie. Son dosage permet de diagnostiquer le niveau d'atteinte. Le dosage de la TSH sert également à surveiller le traitement. Le taux sérique normal de la TSH chez l'homme est compris entre 0.4 et 4 mU/L de sang. Lors de l'hypothyroïdie primaire (la plus répandue), on observe une augmentation importante de la TSH (> 10 mU/L) ; elle est accompagnée d'une baisse significative du taux plasmatique de thyroxine libre. Une élévation plus modérée du taux de TSH est caractéristique d'une affection infraclinique du statut thyroïdien avec risque d'évolution en hypothyroïdie sévère.

3.3.5. Traitement

Un traitement est recommandé si le taux sérique de TSH dépasse les 10 mU/L ou augmente progressivement (*Topliss et Eastman, 2004*). Pour les différentes formes d'hypothyroïdie, l'administration d'hormones thyroïdiennes destinée à compenser l'insuffisance hormonale est prescrite généralement à vie. On peut envisager l'utilisation de T4 ou T3 ou une association des deux. Le traitement à la T3 est plutôt rare, et souvent transitoire à cause de la demi-vie courte de la triiodothyronine. Le traitement à la T4 (lévothyroxine ou L-thyroxine) est le plus courant ; sa demi-vie biologique de 7 jours conduisant à une concentration sanguine stable au bout d'un mois. C'est donc le traitement de choix de l'hypothyroïdie car il garantit une concentration constante même si le patient oublie occasionnellement sa prise médicamenteuse (*Jaffiol, 1992*). Le traitement, ajusté selon le degré du déficit hormonal, doit conduire à une normalisation du taux plasmatique de TSH,

bien en dessous de la limite normale supérieure (~1-2mU/L) afin de voir disparaître tous les symptômes associés.

3.3.6. Modèles d'études de l'hypothyroïdie

Afin d'étudier les effets des hormones thyroïdiennes sur les grandes fonctions biologiques, plusieurs modèles d'hypothyroïdie ont été mis en place chez le rongeur (*Iniguez et coll., 1992 ; Weiss et coll., 1997 ; Guadano-Ferraz et coll., 1999 ; Constantinou et coll., 2005 ; Sui et coll., 2006*).

Deux méthodes majeures sont employées pour induire une hypothyroïdie chez un animal : la thyroïdectomie et l'inhibition de la synthèse des HT en utilisant un antithyroïdien de synthèse (ATS). Les ATS sont communément utilisés chez l'homme pour traiter des problèmes d'hyperthyroïdie. Ils sont répartis en deux familles de composés : les dérivés du thiouracile et les dérivés du mercapto-imidazole. Ils ont la capacité de se lier à la thyroïde peroxydase et d'inhiber la formation du complexe de la TPO avec l'iode (figure 21). Ainsi l'iodation des thyroglobulines est impossible, les hormones thyroïdiennes ne sont plus synthétisées. Les ATS peuvent également inhiber la réaction de couplage entre la mono-iodotyrosine et la diiodotyrosine conduisant à la formation des iodothyronines (*Allannic, 1992*). Deux antithyroïdiens sont régulièrement utilisés : le propylthiouracile (PTU) et le méthimazole (MMI). La différence de traitement réside dans le transport plasmatique de ces composés : le MMI circule sous forme libre alors que le PTU est lié à 90% à l'albumine (*Cooper, 2005*). Il semblerait que les taux sériques des patients hyperthyroïdiens soient normalisés plus rapidement après traitement avec le MMI. Néanmoins, le PTU a la propriété supplémentaire d'inhiber de manière compétitive la désiodation périphérique de la T4 assurée par la désiodase de type 1 (*Leclere, 1992 ; Bianco et coll., 2002*). Sachant que la T3 circulante est majoritairement produite par la désiodation de la T4 par la D1 au niveau du foie, le PTU induit chez le rat une forte inhibition (50%) de la production de T3. Cependant chez l'homme, le propylthiouracile ne diminue que partiellement les taux sériques de T3 (*Goumaz et Burger, 1992*), étant donné que la désiodation extrathyroïdienne de la T4 assurée par la D1 ne représenterait que 25% de la production journalière de T3 (*Bianco et coll., 2002*).

Au niveau du traitement de ces animaux rendus hypothyroïdiens par voie chimique, on peut administrer la T4 ou la T3. Il faut noter que la T4 sera moins efficace chez le rat que chez l'homme (*Bianco et coll., 2002*). En effet, la production de T3 assurée par la glande thyroïde est plus importante chez le rat que chez l'homme (40% contre 20%). De ce fait, la synthèse de la T3 en périphérie par désiodation de la T4 représente une fraction moindre chez le rongeur

(60% au lieu de 80% chez l'homme). Un traitement à la T4 chez le rat ne pourra donc pas reconstituer complètement le stock de T3 circulantes. Une administration de T3 semble plus appropriée, à condition d'adapter la dose pour un traitement avec la forme active des HT.

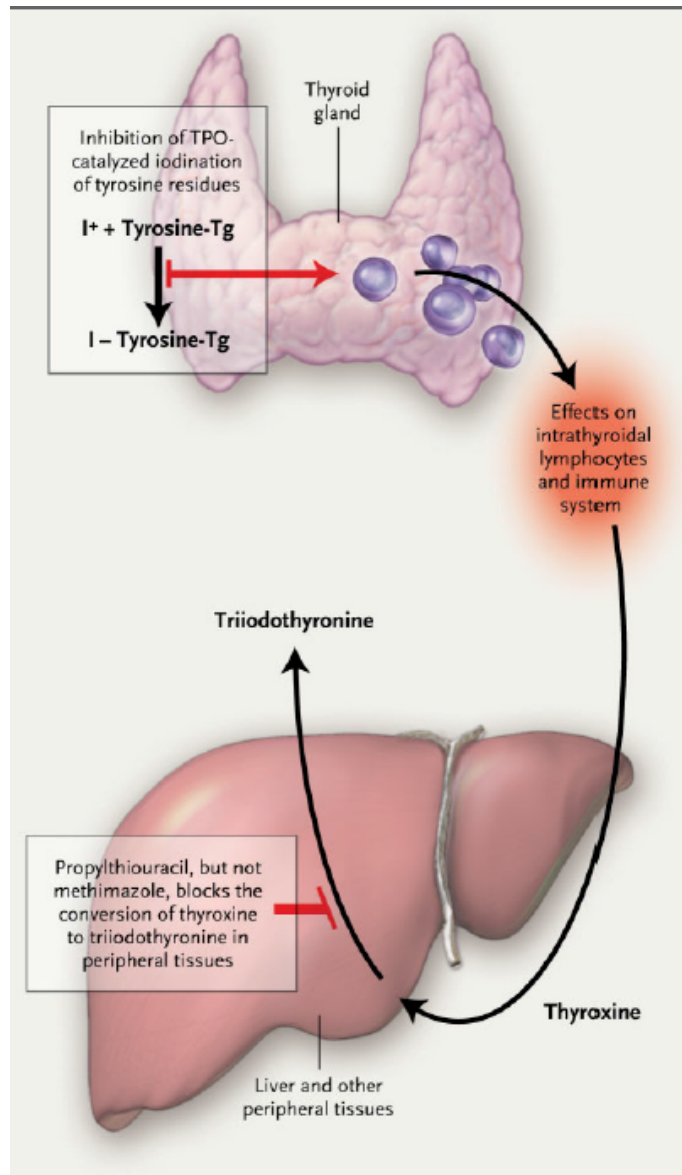


Figure 21 : Effets des antithyroïdiens sur le métabolisme général des hormones thyroïdiennes. (D'après Cooper, 2005)

Chapitre III : Hypothyroïdie et Maladie d'Alzheimer

Contexte et objectifs

Comme nous l'avons brièvement rapporté précédemment, certaines données de la littérature suggèrent que l'hypothyroïdie, dont la prévalence augmente avec l'âge (*Aggarwal et Razvi, 2013*), pourrait être un des facteurs de risque de la MA. Aujourd'hui, il est clairement admis que l'hypothyroïdie chez l'adulte s'accompagne de troubles d'apprentissage et de mémoire (*Alzoubi et collkadhi, 2014*), et de légères variations du taux d'HT peuvent entraîner un dysfonctionnement cognitif et conduire à un syndrome démentiel (*Tan et Vasan, 2009*). En outre, un certain nombre d'études épidémiologiques suggèrent l'existence d'une relation entre l'hypothyroïdie et le risque de démence. C'est notamment le cas des travaux de *Ganguli et de ses collaborateurs (1996)* menés sur une cohorte de 194 personnes âgées de 65 ans ; ils ont mis en évidence qu'il existe une probabilité de trois à quatre fois plus élevée de démence chez les patients hypothyroïdiens. En 2008, *Davis et ses collaborateurs* ont révélé une hypothyroïdie tissulaire chez des patients atteints de MA ; ces auteurs ont précisément mis en évidence une diminution significative du taux de T3 sérique dans le cortex préfrontal de patients Alzheimer. Plus récemment, *Johansson et coll. (2013)* ont mis en évidence chez ces patients (1) une corrélation positive entre les niveaux d'HT et les performances cognitives évaluées dans le MMSE, et (2) une corrélation négative entre ce même taux d'HT et le marqueur de dommages axonaux Tau. Une hypothyroïdie locale a également été décrite en post-mortem dans l'hippocampe de patients atteints de la MA (*Luo et Stopa, 2004; Sampaolo et coll, 2005*).

Des données de la littérature obtenues *in vitro* soulignent également le rôle des HT dans les processus générant des dépôts amyloïdes. Ces études montrent que les HT régulent négativement la transcription de la protéine A β (*Belandia et coll., 1998 ; Contreras-Jurado et coll., 2012*). Ces données sont confortées par des travaux réalisés sur des rongeurs, qui montrent que de faibles niveaux d'HT s'accompagnent d'une augmentation de l'expression du taux d'ARNm codant le gène de l'APP, suggérant que les HT moduleraient ainsi la production d'A β (*O'Barr et coll., 2006*). Enfin, récemment, des études ont montré que l'hypothyroïdie chez des rats adultes favorise la voie amyloïdogénique de dégradation de l'APP dans l'hippocampe (*Ghenimi et coll., 2010*).

L'ensemble de ces résultats suggère que l'hypothyroïdie, et notamment l'hypothyroïdie cellulaire, pourrait être impliquée dans l'étiologie de la MA et contribuer ainsi aux déficits cognitifs associés. Ces données de la littérature restent parcellaires mais ne sont pas à négliger : associées à l'ensemble des connaissances existant sur la MA et sur le rôle des HT, elles ouvrent un champ d'investigation nouveau.

Dans ce contexte, mon travail de thèse avait pour objectif de préciser le lien entre l'hypothyroïdie et l'apparition de certaines lésions neuropathologiques et fonctionnelles observées dans la MA.

La démarche a consisté d'une part à étudier chez des rats adultes l'effet d'une hypothyroïdie, induite par l'administration de PTU dans l'eau de boisson pendant 5 semaines, sur un ensemble de lésions de la MA. La mémoire spatiale des animaux a également été testée sur ces animaux. Dans un second temps, afin de renforcer notre compréhension, nous avons étudié l'effet d'une administration de T3 sur les altérations neuropathologiques et comportementales observées.

Les résultats obtenus dans la première partie de ce travail montrent que l'hypothyroïdie favorise, dans l'hippocampe des rats, le taux de peptides A β -42, l'hyperphosphorylation de Tau et entraîne une augmentation de la libération de molécules proinflammatoires. L'hypoactivité de la voie des HT conduit également à une atrophie cérébrale et à des déficits mnésiques associés à une modification de certaines voies de signalisation connues pour jouer un rôle dans les processus d'apprentissage et de mémoire. L'ensemble des résultats obtenus est présenté dans le chapitre II et a fait l'objet d'une publication acceptée dans *Hippocampus*.

Publication: Chaalal A., Poirier R., Blum D., Gillet B., Le Blanc P., Basquin M., Buée L., Laroche S., Enderlin V. PTU-Induced Hypothyroidism in Rats Leads to Several Early Neuropathological Signs of Alzheimer's Disease in the Hippocampus and Spatial Memory Impairments. Hippocampus (2014)

La seconde partie de mon travail de thèse a consisté à étudier le potentiel de restauration des altérations neuropathologiques et comportementales observées par une administration de T3. Dans cette partie nous montrons qu'une administration de T3, après 5 semaines de traitement au PTU, diminue le taux de peptides A β -42 et de molécules proinflammatoires ; ce même traitement permet de restaurer les capacités mnésiques à court terme mais reste sans effet sur les déficits de mémoire à long terme. Ce travail très avancé fera l'objet d'une seconde publication.

Partie II : Matériels et méthodes

1) Modèle d'étude : animaux et traitements

1.1. Conditions d'élevage

Les expériences ont été réalisées sur des rats mâles de la souche Wistar (Janvier, Le Genest Saint Isle, France) âgés de 8 semaines. Les animaux ont été hébergés dans des cages collectives (2 par cages) dans une animalerie maintenue dans des conditions de température (22°C) et d'hygrométrie (60%) constantes, avec un cycle lumière/obscurité de 12h/12h. Ils ont eu un accès libre à la nourriture et à l'eau de boisson. L'état physique, la température corporelle et la croissance pondérale des animaux ont été suivis pendant toute la durée du protocole expérimental. Les expériences ont été réalisées en accord avec la directive européenne du 24 novembre 1986 (86/609/EEC) sur l'expérimentation animale et les règles en vigueur en France (87/848) EU Directive 2010/63/EU.

1.2. Traitements et protocoles expérimentaux

1.2.1 Mise en place de l'hypothyroïdie

L'hypothyroïdie a été induite chez les animaux par l'administration de propylthiouracile (6-n-propyl-2-thiouracyl ; PTU, Sigma) à une dose de 0,05% dans l'eau de boisson. Ce traitement de 5 semaines a été associé à un régime alimentaire standard (*Coustaut et coll., 1996*). A l'issue de ce traitement une partie des animaux a été soumise à différents tests comportementaux afin d'étudier l'effet de 5 semaines de traitements PTU sur la mémoire, l'anxiété et la locomotion. L'autre partie des animaux a été sacrifiée sans avoir effectué de tests comportementaux. Après décapitation, l'hippocampe a été rapidement prélevé et conservé à -80°C afin de réaliser des analyses biochimiques et moléculaires. Un prélèvement sanguin a été réalisé au moment du sacrifice pour le dosage de la T3 sérique.

1.2.2 Traitement par la T3

Après 5 semaines de traitement, une partie des rats traités au PTU a reçu de la triiodothyroïdine (T3) par injections intra-péritonéale à une dose de 150mg/kg durant 4 jours consécutifs où pendant toute la durée des tests comportementaux.

2) Méthodes

La plupart des méthodes utilisées sont décrites dans la publication figurant dans la première partie des résultats. Seuls le principe et les grandes étapes des méthodes citées dans la publication sont énoncés ici. Les protocoles des méthodes ne figurant pas dans la publication sont davantage détaillés dans cette partie.

2.1. Quantification des ARN par RT-PCR en temps réel

La technique de PCR quantitative en temps réel (Real-time quantitative Polymerase Chain Reaction) est une méthode *in vitro* permettant de quantifier l'expression d'un gène d'intérêt. Elle nécessite, au préalable, l'extraction des ARN des tissus étudiés puis la réalisation d'une transcription inverse des ARNm en ADN complémentaire (ADNc). L'expression de gènes cibles des HT (RC3, TR α , TR β), mais également des gènes codants pour des marqueurs pro-inflammatoires (IL1 β , IL6, TNF α , CRP), ou des indicateurs de la voie ERK-MAPK (EGR1) ainsi que les gènes codants pour différentes isoformes de l'APP (APP695, APP770-751), a été mesurée dans l'hippocampe des animaux hypothyroïdiens administrés ou non par la T3.

2.1.1. Extraction des ARN

Afin d'extraire les ARN de l'hippocampe, les tissus ont dans un premier temps été homogénéisés dans 1 ml de réactif Trizol (Invitrogen, France) à l'aide de billes de verre dans l'homogénéisateur PreCellys®. La vitesse de broyage ainsi que le nombre de cycles ont été optimisés pour obtenir le meilleur rendement d'extraction (5500 rpm pendant 20 sec). Après les 5 minutes d'incubation à température ambiante permettant la dissociation des complexes nucléoprotéiques, l'ARN a été séparé de l'ADN et des protéines par ajout de 0,2 ml de chloroforme suivi d'une centrifugation (15 min, 12000g, 4°C). La phase aqueuse qui contient les ARN a été prélevée, puis de l'isopropanol a été additionné afin de précipiter les acides nucléiques. Après 10 minutes d'incubation à température ambiante, le mélange a été centrifugé à 12000g, à 4°C pendant 10 minutes. Le culot d'ARN ainsi obtenu a été lavé avec de l'éthanol à 70%. Après une nouvelle centrifugation à 7500g pendant 5 minutes à une température de 4°C, le surnageant a été éliminé et le culot séché pendant une 1 h à 4°C. Les ARN ont ensuite été repris dans 25 μ l d'eau milliQ stérile pendant 45 minutes à 4°C.

La pureté et la concentration des ARN obtenus ont été mesurées à l'aide d'un spectrophotomètre:

- $DO_{260\text{ nm}}/DO_{230\text{ nm}} > 2$: absence de contamination par le thiocyanate de guanidium,
- $1,6 < DO_{260\text{ nm}}/DO_{280\text{ nm}} < 2$: absence de contamination protéique,
- $1,27 < DO_{260\text{ nm}}/DO_{270\text{ nm}} < 1,29$: absence de contamination phénolique.

Finalement, les solutions d'ARN ont été diluées pour obtenir une concentration finale de 0,5 µg d'ARN/µL.

2.1.2. Préparation des ADN complémentaires

L'utilisation d'oligonucléotides et d'amorces aléatoires (Invitrogen, France) a permis la rétro-transcription des ARN en ADNc. La transcription inverse (RT) a été réalisée en utilisant comme amorces des hexamères de séquence aléatoire («random primer») mis en présence de la transcriptase reverse Superscript II RT (Invitrogen, France). Après une étape d'activation des enzymes pendant 10 minutes à 25°C, la reverse transcription est réalisée pendant 50 min à 42°C, puis la réaction est arrêtée et l'enzyme résiduelle est détruite en chauffant à 70°C pendant 15 minutes. Les produits de RT ont été conservés à -20°C jusqu'à l'étape de PCR (Polymerase Chain reaction).

2.1.3. Polymérase Chain Reaction (PCR)

La PCR en temps réel est réalisée à l'aide du CFX96 Touch™ (Bio-Rad, France), qui combine le processus d'amplification des brins d'ADNc à la détection en temps réel des produits de PCR. Le principe de la PCR en temps réel est basé sur la détection et la quantification d'un émetteur fluorescent, le SYBR Green. Cet agent intercalant se lie préférentiellement à l'ADN double-brin néosynthétisé. L'augmentation du signal fluorescent est directement proportionnelle à la quantité d'amplicons (produits d'amplification) générés durant la réaction de PCR réalisée en présence de l'enzyme Hot-Start Sso7d-fusion. En mesurant la quantité de fluorescence émise à chaque cycle, il devient possible de suivre la réaction de PCR durant la phase exponentielle.

La réaction d'amplification a été réalisée dans des plaques de 96 puits. Après une étape d'activation de l'enzyme à haute température, la réaction d'amplification comprend 50 cycles de 2 étapes chacun :

- 10 secondes de dénaturation à 95°C ;
- 30 secondes d'hybridation/polymérisation des amorces à 60-64°C

A chaque cycle, la fluorescence du SYBR Green a été mesurée en fin de phase d'élongation. Les séquences des amorces « amonts » et « avales » utilisées pour l'amplification de chaque gène sont présentées dans le tableau IV.

L'étape finale du programme est la fusion qui permet de vérifier la spécificité de l'amplification. Il s'agit d'une montée très rapide en température (95°C) de façon à dénaturer l'ADN double brin, suivie d'une diminution progressive. Lorsque la température de couplage est atteinte, l'ADN double brin se reforme. La présence d'une seule température de fusion indique qu'un seul gène a été amplifié.

Tableau IV: Séquences amont (F) et aval (R) des amorces utilisées pour l'amplification en RT qPCR et taille des amplicons.

Gènes cibles	Séquences des amorces	Taille de l'amplicon	Températures d'hybridations
RC3	F: 5' GCTCCAAGCCAGACGACGATATTC 3' R: 5' CACTCTCCGCTCTTTATCTTCTTC 3'	127pb	62°C
EGR1	F: 5' CCTCAAGGGGAGCCGAGCGA 3' R: 5' GCCACTGTTGGGTGCAGGCT 3'	177pb	62°C
TNFα	F: 5' AAATGGGCTCCCTCTCATCAGTTC 3' R: 5' TCTGCTTGGTGGTTTGCTACGAC 3'	111pb	62°C
CRP	F: 5' TGTCTCTATGCCACGCTGATG 3' R: 5' GGCCACCTACTGCAATACTAAAC 3'	128pb	64°C
IL1β	F: 5' TGAGGCTGACAGACCCCAAAGAT 3' R: 5' GCTCCACGGGCAAGACATAGGTAG 3'	181pb	60°C
IL6	F: 5' AGCCACTGCCTTCCCTACTT 3' R: 5' GCCATTGCACAACCTTTTTCTC 3'	154pb	64°C
TRα	F: 5' GATTCTGTACAAGGGGG 3' R: 5' ACAACATGCATTCCGAGAAG 3'	113pb	62°C
TRβ	F: 5' TCCTGATGAAGGTGACGGACCTGC 3' R: 5' TCAAAGACTTCCAAGAAGAGAGGC 3'	117pb	62°C
APP695	F: 5' TGGAGGAGGTAGTCCGAGTCCC 3' R: 5' CTCTTTGGCTTTCTGAaaatggg 3'	115pb	62°C
APP770-751	F: 5' CTCCCGCTGGTACTTTGATGTCAC 3' R: 5' CTCTTTGGCTTTCTGGAAATGGG 3'	127pb	62°C
PPIB	F: 5' GTTCTGGAAGGCATGGATGT 3' R: 5' TCCCCGAGGCTCTCTCTACT 3'	153pb	62°C

2.1.4. Analyse des produits d'amplification

La quantité d'ADNc, qui reflète la quantité d'ARNm initiale, n'est pas connue en valeur absolue mais sa proportion est déterminée par rapport à l'expression d'un gène de référence, le PPIB (peptidylprolyl isomerase B). Nous avons préalablement vérifié que l'expression de ce gène est stable dans nos conditions expérimentales.

Pour chaque couple d'amorces, des dilutions sérielles réalisées au cinquième, donnant lieu à une gamme de courbes d'amplification, a été réalisée, témoignant de l'augmentation de la quantité de fluorescence à chaque concentration. Ces gammes ont permis au logiciel de tracer une droite standard du Cq (quantification cycle) en fonction du logarithme de la concentration en ADNc. Le Cq est déterminé automatiquement par le logiciel du CFX96 TouchTM comme étant l'interaction entre la tangente de la partie exponentielle de l'amplification et la ligne de base. L'utilisation de gammes standard a aussi permis de corriger les variations potentielles d'efficacité de PCR entre le gène de référence et le gène d'intérêt et d'intégrer cette variation d'efficacité de PCR dans le calcul du ratio gène d'intérêt/ gène de référence.

Une fois les conditions de PCR optimisées pour chaque gène (absence de contaminant dans le contrôle négatif, un seul pic de fusion dans les échantillons, efficacité de PCR > 1,8), les PCR ont été réalisées sur tous les échantillons à une concentration fixe d'ADNc (2,5ng) afin de déterminer le Cq de chaque gène étudié. Le CFX96 TouchTM est équipé d'un logiciel de quantification relative permettant pour chaque échantillon de reporter les Cq du gène de référence et du gène d'intérêt sur les gammes standard préalablement établies afin de calculer le niveau d'expression du gène d'intérêt par rapport au gène de référence.

2.2. Western blot

2.2.1. Principe

Le Western-blot est une méthode permettant la détection de protéines spécifiques sur une membrane. Les protéines sont séparées en fonction de leur poids moléculaire par une électrophorèse en conditions dénaturantes, puis sont transférées sur une membrane de nitrocellulose. L'utilisation d'un anticorps permet de révéler spécifiquement une protéine.

Les niveaux d'expression de différentes protéines impliquées dans des voies de signalisation (CaM, CaN, CaMKII, p-CaMKII, CaMKIV, RC3, p-RC3, CREB, p-CREB,

ERK42, p-ERK42, ERK44, p-ERK44, Egr1), mais également dans les processus inflammatoires (IL1 β , CRP) ont été évalués par western-blot. Les niveaux de phosphorylation de la protéine tau ont également été analysés par Western-blot en collaboration avec le Dr. D. Blum de l'équipe de Luc Bué (Inserm, Lille).

2.2.2. Protocole

a) Séparation électrophorétique et transfert des protéines

Les extraits protéiques d'hippocampe ont été dénaturés, concentrés sur un gel de polyacrylamide de 4 ou 5%, puis séparés sur un gel de polyacrylamide de 9% ou 12%. Une étude préliminaire a permis de déterminer la quantité de protéines à déposer lors de l'électrophorèse (il faut en effet une relation linéaire entre le signal et la quantité de protéines totales déposées pour quantifier).

La migration a été réalisée pendant 40 minutes dans du tampon d'électrophorèse. Le poids moléculaire de la protéine a été déterminé grâce à la co-migration de protéines de référence de poids moléculaires connus. Les protéines ainsi séparées ont été transférées sur la membrane de nitrocellulose.

b) Immunorévélation

Afin de bloquer les sites aspécifiques, la membrane a été incubée dans du tampon contenant du Lait ou de la BSA (Bovine Serum Albumin) 5%. Elle a ensuite été incubée respectivement avec un anticorps primaire puis secondaire. La membrane a ensuite été révélée par chimioluminescence. L'incubation de la membrane dans une solution de « reblot » pendant 10 min permet d'éliminer les anticorps fixés, afin d'effectuer une nouvelle immunorévélation.

2.3. Dosage de la T3 sérique

Le taux d'hormones thyroïdiennes sérique a été évalué par un test ELISA (kit NovaTec Immundiagnostica, Allemagne). Le dosage repose sur une méthode colorimétrique immunoenzymatique compétitive : l'intensité de la coloration est inversement proportionnelle à la quantité de T3 dans l'échantillon. L'absorbance dans les différents puits est alors lue à 450 nm dans un lecteur de plaque. La concentration en T3 des différents échantillons a été déterminée à partir d'une courbe étalon de concentration connue en T3 (0 à 7,5ng/ml).

2.4. Dosage du taux de peptides A β -42 dans l'hippocampe

Nous avons utilisé un kit ELISA (Wako, Etats-Unis) pour quantifier les taux de peptides A β -42. Préalablement au dosage, les hippocampes ont été homogénéisés dans 400 μ l de tampon d'extraction (T-PER, Pierce) en présence d'anti-protéase. Après une centrifugation de 5 min à 15000 rpm, le surnageant a été prélevé. La quantité de protéines totales a été évaluée en utilisant le kit Bio-Rad Assay.

Le dosage a été réalisé sur des homogénats d'hippocampe selon le principe d'un ELISA-sandwich. Des anticorps monoclonaux BNT77 dirigés contre les épitopes A β (11-28) sont fixés sur une plaque 96-puits et vont ainsi pouvoir se lier aux peptides A β -42. Après lavage, les puits sont incubés avec des anticorps monoclonaux BA27 dirigés contre l'extrémité C-terminale du peptide A β -42 et conjugués à la peroxydase de raifort (HRP). Après une incubation à 4°C pendant 60 min les puits sont rincés et l'ajout d'un substrat tétraméthylbenzidine (TMB) va permettre de colorer les échantillons en bleu. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration en peptides A β -42 des échantillons. L'absorbance à 450 nm a été déterminée en utilisant un lecteur de plaque. La concentration des différents échantillons a été déterminée à partir d'une courbe étalon de concentration connue (0 à 100 pmol/L). Les résultats ont été rapportés au taux de protéines totales dans l'hippocampe.

2.5. Test comportementaux

Avant le début des tests comportementaux, les rats ont été manipulés chaque jour pendant une semaine. Toutes les tâches comportementales ont été effectuées entre 8h et 19h avec un bruit de fond (bruit blanc : 60 décibels) dans le but de couvrir d'éventuels bruits extérieurs perturbateurs. A l'exception du test du cyclotron, une caméra reliée à un système de video-tracking (ANY-mazeTM, version 4.5) a été placée au-dessus des dispositifs expérimentaux afin d'enregistrer toutes les séquences comportementales.

2.5.1. Le test du couloir circulaire (ou cyclotron)

L'activité locomotrice basale des rats a été évaluée en utilisant le test du cyclotron. Le dispositif est composé de deux cylindres concentriques avec des parois d'une hauteur de 40 cm. Le cylindre externe possède un diamètre de 40 cm, et le cylindre interne un diamètre de 20 cm, formant ainsi un couloir de 10 cm de largeur (figure 22).

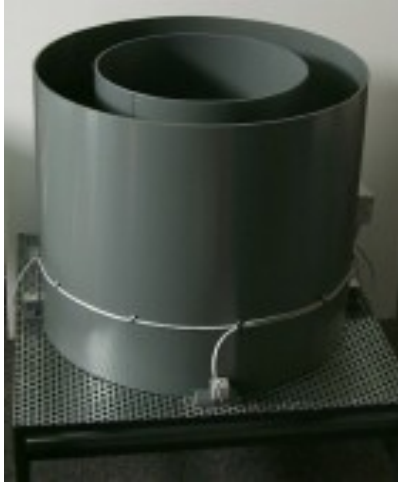


Figure 22 : Dispositif du Cyclotron

Quatre capteurs présents à 2,5 cm du sol dans la circonférence du dispositif permettent de compter chaque passage du rat dans chaque quart du système. Chaque rat est déposé dans le couloir circulaire et est libre d'y circuler pendant 2 h. Le nombre de fois où l'animal passe devant un capteur est enregistré, durant des périodes de 10 min. Plus l'animal parcourt une grande distance dans le couloir, plus les capteurs se déclenchent. Un rat immobile ne produit aucun signal.

2.5.2. Le test du labyrinthe en croix surélevé (Plus-Maze)

Le comportement de type anxieux des animaux a été évalué dans le test du labyrinthe en croix surélevé (figure 23). Le dispositif est un labyrinthe surélevé en plexiglas noir ayant la forme d'une croix avec deux branches opposées ouvertes (50 cm) et deux branches fermées

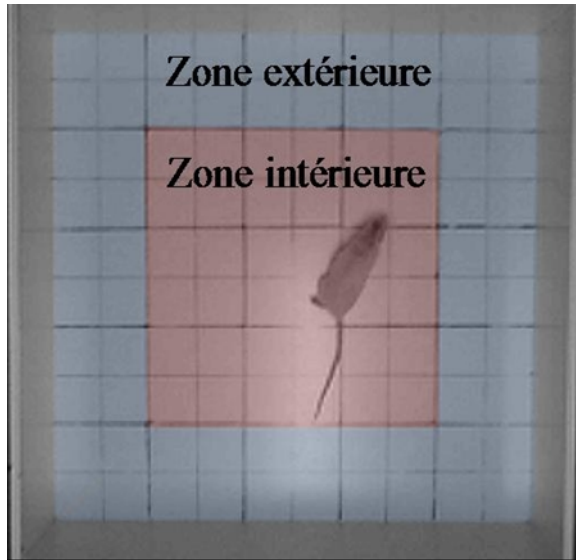


Figure 23 : Dispositif du Plus-Maze

(50 cm). Au centre se trouve une plateforme ouverte (10 cm x 10 cm) sur les quatre bras. Le labyrinthe est situé à 50 cm du sol. Les rats sont placés sur la plateforme centrale, face à un des bras ouverts : ils sont alors libres d'explorer le labyrinthe pendant 10 min. Ce dispositif est naturellement anxiogène pour le rat, qui va spontanément éviter les bras ouverts et préférer les bras fermés. Ce test permet de déterminer l'état d'anxiété du rat. L'activité locomotrice, le nombre d'entrées et le temps passé dans les différentes zones (bras ouverts, bras fermés et centre) sont enregistrés.

2.5.3. Le test de l'open-field

Le test de l'open-field a été utilisé ici pour analyser l'activité exploratoire spontanée des animaux dans un nouvel environnement. Le dispositif est composé d'une plateforme



carrée (1 m x 1 m) à fond noir, éclairée de façon homogène. Ce carré a virtuellement été découpé en 25 carrés (5x5) de 20 cm de côté chacun et deux zones ont été définies : les neuf carrés au centre (en rouge) constituent la zone interne et les seize autres (en bleu) délimitent la zone externe (figure 24). Ce test permet également de mettre en évidence un comportement de type anxieux chez le rat. En effet, la zone centrale où le rat est plus exposé représente une zone potentiellement anxiogène.

Figure 24 : Dispositif de l'open-field

Chaque rat placé dans l'enceinte est libre d'explorer cet environnement pendant 10 min. Plusieurs paramètres ont été enregistrés, comme la distance parcourue dans les différentes zones et le temps passé dans chaque zone.

2.5.4. Le test du labyrinthe aquatique de Morris (Water-Maze)

La tâche du labyrinthe aquatique a été conçue par R.G.M. Morris, afin d'évaluer les capacités d'apprentissage et de mémoire spatiale chez l'animal. Ce test repose sur l'aversion des rats pour l'eau, qui les motive à s'échapper de ce milieu en localisant une plate-forme « refuge » invisible. L'animal va pouvoir retrouver la plate-forme en utilisant différents indices spatiaux. Nous avons choisi ici un protocole expérimental qui met en jeu la mémoire spatiale de référence, dépendante de la formation hippocampique. En effet, la tâche comportementale consistait pour l'animal à localiser un "but" spatial fixe dont la localisation reste constante au cours des différents essais et jours d'apprentissage, en utilisant des indices spatiaux distaux.

a) Le dispositif expérimental

Le dispositif est constitué d'un bassin circulaire de 150 cm de diamètre et de 40 cm de hauteur. Il est rempli d'une eau à 22°C, rendue opaque grâce à un colorant blanc non toxique. Des indices visuels spatiaux sont disposés sur les murs et dans la pièce et ne seront pas déplacés durant toute la durée de l'expérience. Ce bassin est séparé en quatre quadrants virtuels. Une plate-forme de 26 cm de hauteur et de 11 cm de diamètre est disposée aléatoirement au centre d'un des quatre quadrants et est invisible par immersion, à 1 cm sous la surface de l'eau (figure 25). Au cours du test plusieurs paramètres ont été mesurés, tels que la vitesse de nage, le temps nécessaire pour atteindre la plate-forme (latence en secondes), la distance (en centimètres). Enfin le tracé du chemin parcouru par les animaux a été enregistré. Afin de faciliter la détection de l'animal dans la piscine par le vidéo-traceur, la tête des rats blancs a été colorée en noir avec un produit non toxique.

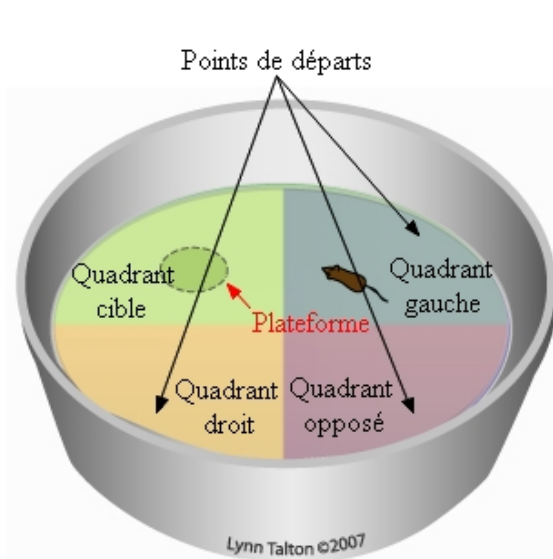


Figure 25 : Labyrinthe aquatique avec la plate-forme située sous l'eau

b) Le protocole expérimental

Le protocole expérimental se déroule en deux phases : une phase d'acquisition et une phase de rétention.

Durant la phase d'acquisition, qui constitue la phase d'apprentissage de la tâche, la plate-forme invisible (immergée) est positionnée dans l'un des quatre quadrants que l'on nommera « quadrant cible » et son emplacement ne sera pas modifié pour un rat donné au cours de la tâche expérimentale. Les trois autres quadrants servent alternativement de point de départ, qui varie d'un essai à l'autre pour un même rat. L'emplacement de la plate-forme, les points de départ et l'ordre de passage varient équitablement entre les différents groupes de rats. Les animaux disposent de 4 essais consécutifs de 90 sec par jour pour retrouver la localisation de la plate-forme immergée. L'essai prend fin lorsque l'animal trouve la plate-forme ou le cas échéant, à l'issue de 90 sec. Si le rat n'a pas trouvé la plate-forme au bout du temps imparti, il est guidé jusqu'à celle-ci par l'expérimentateur. A la fin de chaque essai, que

le rat ait découvert la plate-forme ou non, il doit demeurer 30 sec sur cette dernière avant de débiter un nouvel essai. Cette phase d'apprentissage se déroule pendant une période de 7 jours et se termine par une phase de rétention le 8^{ème} jour.

La phase de rétention permet d'évaluer la mémoire spatiale des animaux 24 h après la phase d'apprentissage. Durant cette phase, la plate-forme est retirée et les animaux ne disposent que d'un essai de 90 sec pour chercher l'emplacement où se trouvait la plate-forme.

Pour chaque animal, différents paramètres ont été enregistrés lors des phases d'acquisition et de rétention : la latence pour atteindre la plate-forme, la vitesse de nage, la distance parcourue, le temps passé dans les différents quadrants et le nombre de passages de l'animal sur l'emplacement de la plateforme au cours de la rétention.

2.5.5. Le test du labyrinthe radial aquatique (Radial Arm Water-Maze)

Lorsque la mémoire implique le traitement d'informations spatiales ainsi qu'une mise à jour constante de ces informations, par exemple lors d'une tâche de navigation où l'emplacement de la cible est modifié chaque jour, on parle de mémoire spatiale de travail. Le RAWM est un paradigme permettant d'évaluer la mémoire spatiale de travail. Il combine la complexité spatiale du labyrinthe radial en s'affranchissant de la contrainte de devoir mettre les animaux en restriction alimentaire ou hydrique étant donné qu'il repose sur une motivation aversive (milieu aquatique). Le test que nous avons utilisé est basé sur les travaux de *Diamond et coll., (1999)*. L'animal doit retrouver une plate-forme immergée dans un labyrinthe radial à 6 branches en utilisant des indices spatiaux placés autour du dispositif expérimental. L'emplacement de la plate-forme varie chaque jour. Ainsi l'animal devra chaque jour réapprendre un nouvel emplacement de plate-forme.

a) Le dispositif expérimental

La piscine circulaire, d'un diamètre de 150 cm et d'une hauteur de 40 cm est sectionnée par la présence de 6 bras de taille égale en plexiglas (longueur : 50 cm ; hauteur : 39 cm). Elle est remplie d'eau chauffée à 22°C jusqu'à une hauteur de 28 cm. Une plateforme de 26 cm de hauteur et de 11 cm de diamètre est disposée aléatoirement au bout d'un des bras, à environ 2 cm sous la surface de l'eau (figure 26). L'eau de la piscine contient un colorant blanc non toxique afin de rendre la plateforme invisible. Des indices spatiaux ont été positionnés autour du dispositif, afin de permettre aux animaux de se repérer dans l'espace.

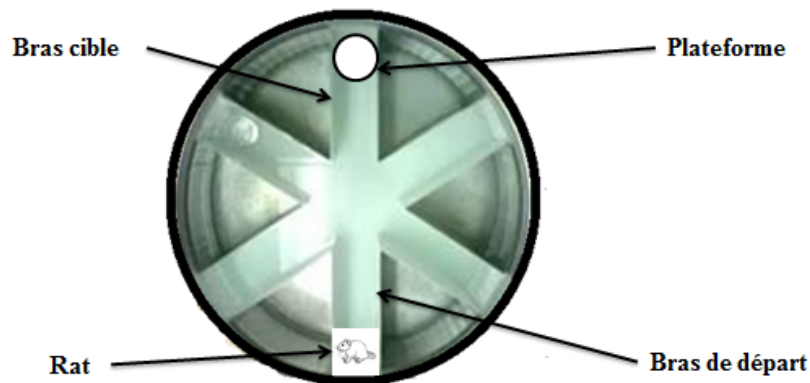


Figure 26 : Dispositif du RAWM

b) Le protocole expérimental

Le test comporte deux phases :

- La phase d'acquisition : Chaque jour, les animaux disposent de 4 essais consécutifs pour apprendre l'emplacement de la plate-forme. Les points de départ varient aléatoirement au cours des différents essais. L'essai se termine lorsque l'animal a trouvé la plate-forme ou le cas échéant au bout de 60 sec. Si le rat n'a pas trouvé la plate-forme au bout du temps imparti, il est guidé jusqu'à celle-ci par l'expérimentateur. A la fin de chaque essai, que le rat ait trouvé la plate-forme tout seul ou non, il doit rester dessus pendant 30 sec avant d'être placé à un nouveau point de départ.
- La phase de rétention : Chaque jour, chaque animal est soumis à 3 tests de rétention, 15 min, 4 h et 24 h après l'acquisition. Au cours de ces tests de rétention, le rat dispose de 60 sec pour retrouver l'emplacement de la plate-forme. A la fin du test, c'est-à-dire si l'animal atteint la plateforme ou à la fin du temps imparti, que l'animal ait trouvé ou non la plate-forme, il est retiré de la piscine.

Pour un rat donné, la plate-forme change d'emplacement chaque jour, à l'issue des 4 essais de la phase d'acquisition et des 3 essais de la phase de rétention. L'emplacement de la plateforme, les points de départ et l'ordre de passage varient équitablement entre les différents groupes de rats.

Le critère mesuré est le nombre d'erreurs effectuées par l'animal qui correspond à chaque fois qu'un animal entre dans un bras, autre que le bras cible contenant la plate-forme, ou lorsqu'il entre dans le bras cible sans trouver la plateforme. La tâche est arrêtée lorsque tous les animaux atteignent le critère d'apprentissage défini comme étant « faire pas plus d'une erreur aux essais 2, 3 et 4 de la phase d'acquisition et à chaque période de rétention pendant trois jours consécutifs ».

2.5.6. Le test du labyrinthe en Y (Y-Maze)

Le test du Y-Maze est basé sur le comportement naturel des animaux à explorer un nouvel environnement. Il permet d'étudier la mémoire de reconnaissance spatiale des animaux (Conrad et coll., 1996) en évaluant leur capacité à discerner un environnement familier, d'un nouvel environnement. Ainsi, durant la première phase du test, les animaux sont contraints d'explorer une zone restreinte du labyrinthe (2 bras sur 3 possibles), puis, dans un second temps, ils ont la possibilité d'explorer les trois bras du labyrinthe. Le test utilisé est celui décrit par Artis et coll., (2012).

a) Le dispositif expérimental

Le dispositif est constitué d'un labyrinthe en Y fabriqué dans un matériau en plexiglas noir. Il est constitué de trois bras de dimensions égales (12 x 60 x 40 cm) disposés en Y (figure 27). Une cloison permet de fermer l'entrée d'un des bras lors de la phase d'acquisition. Des indices spatiaux distaux sont présents dans la pièce, autour du dispositif.

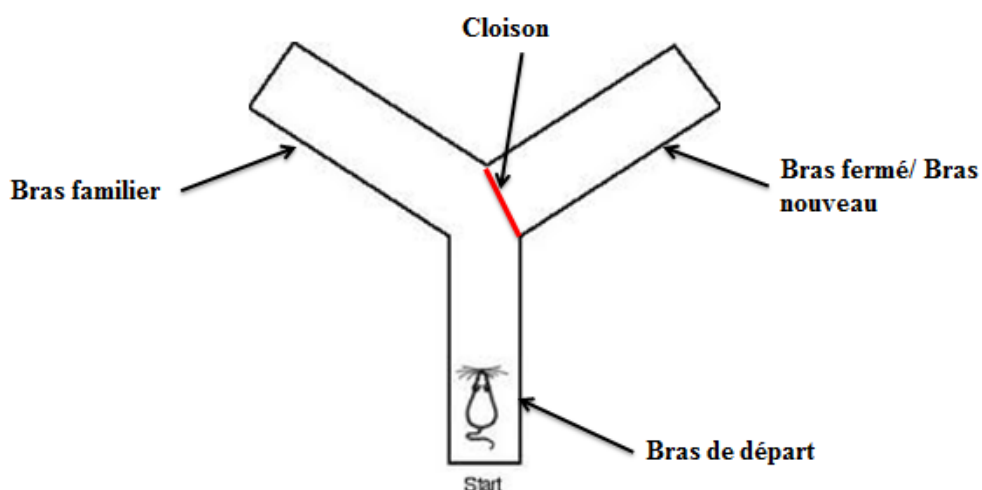


Figure 27 : Dispositif du labyrinthe en Y

b) Le protocole expérimental

Ce test se déroule sur 2 jours consécutifs, avec deux phases principales :

- Une phase d'acquisition durant laquelle l'un des trois bras du labyrinthe est fermé par une cloison opaque de manière aléatoire pour chaque animal. Les animaux sont placés à l'extrémité d'un bras du labyrinthe défini aléatoirement et appelé bras de départ. Ils ont alors la possibilité pendant 15 min d'explorer librement le bras de départ et le bras ouvert.
- Une phase de rétention, durant laquelle les animaux de chaque groupe sont divisés en deux sous-groupes. Ainsi une partie des animaux seront évalués en rétention 4h après la phase d'acquisition et l'autre partie sera testée 24 h après cette même phase. Durant cette phase tous les bras du labyrinthe sont ouverts : les rats peuvent ainsi explorer le nouveau bras (NB) qui était fermé à l'acquisition et/ou revisiter le bras familier (BF) pendant 5 min.

Le pourcentage de première visite dans chaque bras est alors évalué afin de déterminer le pourcentage de rats qui alterne durant la phase de rétention et vont donc visiter spontanément le nouveau bras en premier.

2.6. Etude du volume cérébral et du volume de l'hippocampe

Le volume cérébral total des animaux ainsi que le volume de l'hippocampe ont été évalués par imagerie par résonance magnétique (IRM) en collaboration avec Brigitte Gillet (IR4M, Orsay). Une étude longitudinale a permis d'évaluer le volume des cerveaux des rats hypothyroïdiens (n=7) et des rats contrôle (n=7) chaque semaine, pendant toute la durée du traitement par le PTU. A l'issue de ces 7 semaines de traitements, les animaux ont été sacrifiés et les cerveaux ont été récupérés pour des études histologiques.

2.6.1. Conditions d'examen IRM des animaux

Pour l'IRM, les animaux sont anesthésiés avec de l'isoflurane (Forene®, Abbott, Wiesbaden, Germany) 1,5% pour l'induction dans un mélange oxygène/air 40/60. Tout au long de l'examen IRM, les conditions d'anesthésie sont ajustées en fonction du rythme respiratoire de l'animal. De plus, un système de chauffage à matelas d'eau est utilisé afin de maintenir la température corporelle des animaux à 37°C. Les paramètres physiologiques des animaux ont été contrôlés et maintenus pendant la durée du protocole.

2.6.2. Dispositif expérimental

L'ensemble des acquisitions IRM a été effectué, à 7 Teslas, sur un spectromètre imageur dédié au petit animal constitué d'un aimant horizontal (Oxford, Royaume-Uni) interfacé à une console Avance II (Bruker, Allemagne). Le système de gradient (Resonance Research Inc., MA, USA) utilisé est activement blindé et présente un diamètre interne utile de 9 cm, une intensité maximale de 360mT/m et un temps de montée de 100 μ s (Bruker, Allemagne). L'imageur est piloté à partir du logiciel Paravision (version 5.1, Bruker, Allemagne). Le berceau utilisé pour l'examen des animaux est équipé d'une antenne émission-réception de type « cage d'oiseau » de 38 mm de diamètre interne.

2.6.3. Choix des paramètres généraux d'imagerie

Les animaux étant soumis toutes les semaines à un examen d'IRM et donc à une anesthésie hebdomadaire, nous avons optimisé les paramètres d'imagerie afin d'obtenir la meilleure qualité d'image possible tout en limitant les temps d'acquisition. Un examen IRM comprend une étape de réglage incompressible : vérification de la position de la tête de l'animal dans l'antenne de mesure, homogénéité du champ magnétique au niveau du cerveau, et une étape d'acquisition d'un ensemble d'images anatomiques utilisées pour les mesures volumétriques. C'est au niveau de cette étape que nous avons optimisé les conditions d'acquisition pour réduire le temps d'examen IRM. Nous avons choisi de faire l'acquisition d'images anatomiques à l'aide d'une séquence TurboRARE 2D, en utilisant un champ de vue (FOV pour field-of-view) de 35x35 mm correspondant au diamètre de l'antenne et à la taille de la tête du rat. La taille de la matrice d'acquisition et l'épaisseur des coupes utilisées sont un compromis entre la résolution de l'image et le rapport signal sur bruit (SNR). La taille de la matrice d'acquisition est de 256*256 points, et l'épaisseur de coupe de 1,0 mm pour l'étude du volume total du cerveau et 0,5 mm pour l'hippocampe. La pondération T2 optimale a été obtenue en utilisant un temps de répétition de 4000 ms ; un temps d'écho effectif de 50 ms; un facteur "rare" de 8 ; et un nombre de répétition de 4. L'ensemble du cerveau est imagé à l'aide de 30 coupes et l'hippocampe à l'aide de 16 coupes. Dans ces conditions, le temps d'acquisition de la série d'images anatomiques est de 8 minutes pour le cerveau entier et 30 min pour l'hippocampe.

Le logiciel commercial (AMIRA®) a été utilisé ensuite pour effectuer, sur chaque animal, la mesure du volume global du cerveau et du volume de l'hippocampe.

2.6.4. Sacrifice des animaux et études histologiques

A la fin de l'étude d'imagerie, les animaux ont été sacrifiés par décapitation et un hémisphère de chaque cerveau a été post-fixé dans une solution de paraformaldéhyde (PFA) à 4% pendant 24 heures. Les cerveaux ont ensuite été cryoprotégés par 3 bains successifs d'environ 12 heures, de sucrose à concentrations croissantes 10, 20 et 30%. Ils sont ensuite congelés dans du 2-méthylbutane refroidi avec de la carboglace à une température comprise entre -20 et -30°C puis conservés à -20°C avant d'être coupés.

Les cerveaux des rats ont ensuite été coupés, suivant le plan coronal, à une épaisseur de 50 µm au cryostat à -20°C. Les coupes d'hippocampes ont été conservées à -20°C dans une solution cryoprotectante avant d'être colorées à la thionine (0.1%).

La mesure du volume de l'hippocampe a été possible grâce à l'utilisation de la microscopie optique (microscope Olympus BX60) et du logiciel d'acquisition et d'analyses d'images Image J (National Institute of Health).

3. Analyses statistiques

Les résultats ont été exprimés en moyenne \pm erreur standard (SEM). La comparaison des moyennes des valeurs de deux groupes expérimentaux a été effectuée par un test de Student. Concernant les analyses impliquant trois groupes expérimentaux, une analyse de variance (ANOVA) a été effectuée suivi d'un test post hoc de Scheffe. Certaines données ont également été analysées par une ANOVA mesures répétées (poids, apprentissage...). Les valeurs de $p < 0.05$ ont été considérées comme statistiquement significatives. Les analyses ont été effectuées via le logiciel StatView.

Partie III : Résultats

Chapitre I : Hypothyroïdie et processus neuropathologiques et fonctionnels associés à la Maladie d'Alzheimer

1. Contexte et objectifs du travail

Divers arguments bibliographiques rapportés précédemment suggèrent l'existence d'un lien entre l'hypothyroïdie et les processus neurodégénératifs associés à la maladie d'Alzheimer. L'hypothyroïdie est peu étudiée chez l'animal adulte et les modèles couramment utilisés sont des modèles d'animaux thyroïdectomisés. Des résultats obtenus sur un modèle de rat ayant reçu du propylthiouracile (PTU) dans l'eau de boisson (0.05%) pendant 5 semaines ont mis en évidence, dans l'hippocampe, une augmentation du rapport APP770-751/APP695, de l'activité des β - et γ -sécrétases et du peptide A β -42 (*Ghenimi et coll., 2010*). Ces données, qui plaident en faveur d'une intervention de l'hypothyroïdie dans les mécanismes biochimiques à l'origine de la formation des dépôts amyloïdes, sont d'autant plus intéressantes que ce modèle animal est totalement en adéquation avec l'hypothèse avancée par *Davis et coll., (2008)* suggérant une altération de la formation de T3 à partir de son précurseur T4 dans la MA. Afin de préciser le lien entre l'hypothyroïdie et les lésions associées à la MA, une première partie de ce travail de thèse a consisté à étudier les conséquences de l'administration de PTU sur d'autres lésions de la MA : la phosphorylation de la protéine Tau, le volume cérébral total et hippocampique et la neuroinflammation. Par ailleurs, les conséquences fonctionnelles de ce traitement ont été évaluées par la mise en œuvre de tests de comportements d'anxiété et de mémoire. Enfin, des marqueurs de plasticité synaptique ont été mesurés.

2. Méthodologie

L'hypothyroïdie a été induite chez des rats mâles Wistar âgés de 8 semaines par l'administration de PTU (0.05%) dans leur eau de boisson selon le protocole décrit dans *Ghenimi et coll., (2010)*. Une étude longitudinale, a été menée sur une partie des rats administrés au PTU, afin de suivre l'évolution du volume cérébral total pendant 7 semaines. Les animaux ont ensuite été sacrifiés et des analyses histologiques ont permis d'évaluer chez ces mêmes rats le volume de l'hippocampe par cette autre méthode (figure 28).

Une autre partie des rats hypothyroïdiens a été sacrifiée après 5 semaines de traitement. Certaines formes phosphorylées de tau ont été mesurées sur ces animaux ainsi que certains marqueurs d'inflammation (IL1 β , IL6, TNF α , CRP). L'expression de molécules impliquées dans des voies de signalisation jouant un rôle important dans les processus de plasticité synaptique et de mémoire a également été quantifiée sur ces mêmes animaux.

Enfin un troisième groupe d'animaux a été soumis à différents tests comportementaux à l'issue de 5 semaines de traitements PTU. Des tests de mémoire spatiale (Water Maze et RAWM), de locomotion (cyclotron), d'exploration (Open-field) et de comportement de type anxieux (Plus-Maze) ont été mis en œuvre sur ces animaux.

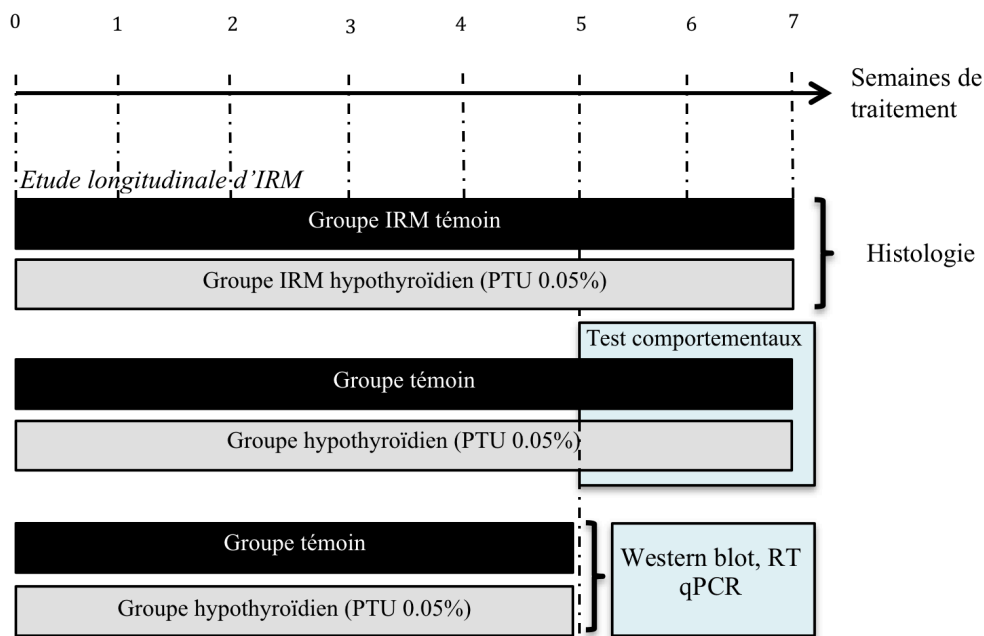


Figure 28: Design expérimental

3. Principaux résultats

L'administration de PTU (0.05%) pendant 5 semaines s'accompagne, chez le rat, d'une diminution de 49% des taux de T3 sériques, ainsi que d'une diminution de 28% du taux d'ARNm codant pour RC3, marqueur tissulaire du statut thyroïdien, dans l'hippocampe. Ces résultats rendent compte de la mise en place d'une hypothyroïdie systémique, et tissulaire au niveau de l'hippocampe. Un ralentissement de la croissance pondérale des animaux, couramment décrit dans la littérature lors de l'utilisation de PTU, a été observé dès la première semaine de traitement. Des tests de locomotion et d'anxiété n'ont pas mis en évidence de problème locomoteur ou de trouble de type anxieux.

L'étude longitudinale menée sur une partie des animaux a permis d'identifier, par IRM, un ralentissement de la croissance du volume cérébral significatif dès la 5^{ème} semaine de traitement, conduisant à une atrophie de 6% du volume cérébral total chez les animaux hypothyroïdiens. Le volume hippocampique, évalué en IRM puis en histologie après le sacrifice, diminue de manière semblable (6%) mais non significativement.

Après 5 semaines de traitement PTU, les résultats mettent en évidence une hyperphosphorylation au niveau de certains sites anormaux de phosphorylation de la protéine Tau. L'étude de certaines kinases (GSK3 β , p38-MAPK, CaMKII, ERK42) et phosphatases, (PP2A et PP2B) connues pour jouer un rôle clé dans la modulation de l'état de phosphorylation de Tau laisse supposer que l'administration de PTU induit un déséquilibre entre les différentes kinases/phosphatases : une augmentation de l'activité de p38-MAPK et une diminution de l'expression protéique de PP2B participeraient à l'hyperphosphorylation de la protéine Tau au niveau de ces sites.

Nos résultats montrent également une augmentation de certains marqueurs d'inflammation (IL1 β , IL6, TNF α , CRP) dans l'hippocampe des animaux ayant reçu du PTU pendant 5 semaines.

Sur le plan fonctionnel, un retard d'apprentissage et une altération de la mémoire spatiale de travail à court et long terme ont été observés dans la tâche du RAWM. Une hypoactivité des voies de signalisation (voie calcique et ERK-MAPK et) connues pour jouer un rôle clé dans les processus de mémorisation a également été observée chez les animaux hypothyroïdiens.

4. Publication

PTU-induced hypothyroidism in rats leads to several early neuropathological signs of Alzheimer's disease in the hippocampus and spatial memory impairments

PTU-Induced Hypothyroidism in Rats Leads to Several Early Neuropathological Signs of Alzheimer's Disease in the Hippocampus and Spatial Memory Impairments

Amina Chaalal,^{1,2} Roseline Poirier,^{1,2} David Blum,^{3,4,5} Brigitte Gillet,^{2,6} Pascale Le Blanc,^{1,2} Marie Basquin,^{3,4} Luc Buée,^{3,4,5} Serge Laroche,^{1,2} and Valérie Enderlin^{1,2*}

ABSTRACT: The multifactorial causes impacting the risk of developing sporadic forms of Alzheimer's disease (AD) remain to date poorly understood. Epidemiologic studies in humans and research in rodents have suggested that hypothyroidism could participate in the etiology of AD. Recently, we reported that adult-onset hypothyroidism in rats favors β -amyloid peptide production in the hippocampus. Here, using the same hypothyroidism model with the antithyroid molecule propylthiouracyl (PTU), we further explored AD-related features, dysfunctional cell-signaling mechanisms and hippocampal-dependent learning and memory. *In vivo* MRI revealed a progressive decrease in cerebral volume of PTU-treated rats. In the hippocampus, hypothyroidism resulted in tau hyperphosphorylation and increases in several proinflammatory cytokines. These modifications were associated with impaired spatial memory and reduced hippocampal expression of signaling molecules important for synaptic plasticity and memory, including neurogranin, CaMKII, ERK, GSK3 β , CREB, and expression of the transcription factor EGR1/Zif268. These data strengthen the idea that hypothyroidism represents an important factor influencing the risk of developing sporadic forms of AD. © 2014 Wiley Periodicals, Inc.

KEY WORDS: risk factor; tau; inflammation; behavior; signaling pathways

INTRODUCTION

Alzheimer's disease (AD), the most common cause of dementia in the elderly, is a neurodegenerative disease clinically characterized by progressive deterioration of cognitive functions (Albert, 1996). Neuropathological hallmarks of AD include brain atrophy, initially in the entorhinal and transentorhinal cortices and progressing to the whole hippocampus (Laakso et al., 2000; Raji et al., 2009; Evans et al., 2010), increased β -amyloid peptide (A β) load and the presence of amyloid plaques (Hyman et al., 2012), intraneuronal accumulation of hyperphosphorylated/aggregated tau proteins (Sergeant et al., 2008), and neuroinflammation (Wyss-Coray and Rogers, 2012). Synaptic dysfunction, which occurs early in AD, is generally believed to be an essential event underlying the cognitive deficits associated with the disease (Coleman et al., 2004).

Whereas AD so far is not curable, there is a crucial need for developing and characterizing relevant animal models to facilitate translational research. To date, the most widely used models are transgenic mouse strains based on identified genetic mutations associated with familial forms of AD, which represents less than 1% of AD cases. These models have contributed significantly to our understanding of the development of the pathology and of some of the cellular mechanisms underlying cognitive dysfunction (LaFerla and Green, 2012). However, the multifactorial causes and factors impacting the risk of developing sporadic forms of AD, which accounts for over 99% of the cases, remain as yet poorly understood. Different nongenetic risk factors have been identified in sporadic or late-onset AD, including aging, education, lifestyle, obesity, or cardiovascular risk (Chu, 2012). Recently, several reports have highlighted a link between AD and thyroid dysfunction, a condition that becomes prevalent with age (Aggarwal and Razvi, 2013). Adult hypothyroidism in both humans and animals is associated with impaired learning and memory (Alzoubi and Alkadhi, 2014). Further, a number of epidemiological studies have suggested a relationship between both hypo- and hyperthyroidism and the risk of

¹ Centre de Neurosciences Paris-Sud, CNRS, UMR 8195, F-91405 Orsay, France; ² Université Paris-Sud, UMR 8195, F-91405 Orsay, France; ³ Université Lille-Nord de France, UDSL, F-59000 Lille, France; ⁴ Inserm U837, Centre de recherche Jean-Pierre Aubert, IMPRT, F-59000 Lille, France; ⁵ CHRU-Lille, F-59000 Lille, France; ⁶ Imagerie par Résonance Magnétique Médicale et MultiModalité, CNRS-UMR8081, F-91405 Orsay, France

Grant sponsor: France Alzheimer/Fédération Française sur le Cerveau; Grant sponsor: LECMA/Alzheimer Forschung Initiative; Grant number: #12701; Grant sponsors: DISTALZ (Development of Innovative Strategies for a Transdisciplinary approach to Alzheimer's disease), ANR (ADORA-TAU), FUI MEDIALZ, DN2M, and LabEx (excellence laboratory); Grant sponsor: CNRS; Grant number: INSERM; Grant sponsors: University Paris Sud, Université Lille 2, Région Nord/Pas-de-Calais, and French Ministry of Research..

*Correspondence to: Valérie Enderlin, Centre de Neurosciences Paris-Sud, CNRS UMR 8195, Université Paris-Sud, F-91405 Orsay, France.

E-mail: valerie.enderlin@u-psud.fr

Accepted for publication 16 June 2014.

DOI 10.1002/hipo.22319

Published online 00 Month 2014 in Wiley Online Library (wileyonlinelibrary.com).

dementia. For example, Ganguli et al. (1996) showed that there is a three to fourfold higher probability of dementia in an elderly cohort of 194 patients aged 65 yr or over with hypothyroidism. van Osch et al. (2004) reported that hyperthyroidism is associated with an over two-fold increase in risk of AD. As thyroid hormones (THs), particularly the main cellular active form triiodothyronine (T3), are powerful neuromodulators of brain functions, slight variations from the normal/homeostatic range of TH levels may result in cognitive dysfunction and dementia (Tan and Vasani, 2009). In 2008, Davis et al. provided preliminary evidence supporting the idea that patients with advanced AD are in a state of “tissue-hypothyroidism” that may be related to some of the clinical features of AD. Recently, Johansson et al. (2013) showed a positive correlation between levels of TH in cerebrospinal fluid of AD patients (a sign of brain hypothyroidism) and cognitive performance (Mini-Mental State Examination score), and a negative correlation with the axonal damage marker tau. Localized hypothyroidism has also been reported in the hippocampus of postmortem AD patients (Luo and Stopa, 2004; Sampaolo et al., 2005). In rodents, low levels of TH increase expression of the amyloid β precursor protein (APP) gene, suggesting TH may impact A β production (O’Barr et al., 2006). Recently, we reported that adult-onset hypothyroidism in rats favors the amyloidogenic pathway of APP processing in the rat hippocampus (Ghenimi et al., 2010). Altogether, these findings suggest that hypothyroidism, and particularly cellular hypothyroidism, may be involved in AD pathogenesis and thus contribute to the associated cognitive deficits.

In the present study, our aim was to explore the link between AD pathogenesis related cognitive decline and hypothyroidism. To this end, we induced hypothyroidism in rats and explored its consequences on several neuropathological/biochemical features of AD as well as on hippocampal-dependent learning and memory. Thyroid status was disrupted in rats using the antithyroid molecule propylthiouracil (PTU) as described before (Ghenimi et al., 2010). First, we evaluated cerebral volume in a longitudinal study. After 5 weeks of PTU treatment, we then investigated in the hippocampus tau phosphorylation, neuroinflammatory markers and the expression of key components of several cell-signaling cascades known to be involved in synaptic plasticity and memory function, together with exploratory behavior, anxiety and spatial memory performance.

METHODS

Animals and Treatment

The experiments were performed with 8-week-old male Wistar rats (Janvier, Le Genest Saint Isle, France). Animals were housed two per cage in a colony room with a constant airflow system, controlled temperature (21–23°C) and light (12:12 h light/dark cycle) with food and water *ad libitum*. Rats were randomly assigned to one of four groups: the hypothyroid group, the con-

trol group, the MRI hypothyroid group and the MRI control group. Hypothyroidism was induced by adding 0.05% PTU (6-n-propyl-2-thiouracil; Sigma Chemicals, St. Louis, MO) to their drinking water for a period of 5 weeks as described by Ghenimi et al. (2010). Body weight was monitored twice a week. All efforts were made to minimize the number of animals and their suffering throughout the experiments. Experiments were performed in accordance with the European Communities Council Directive of 24 November 1986 (86/609/EEC), EU Directive 2010/63/EU, and the French National Committee (87/848).

T3 Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

Blood (control rats: $n = 7$; hypothyroid rats: $n = 7$) was collected and serum was separated by centrifugation and stored at -20°C until analysis. Serum total T3 was measured using an ELISA Complete Kit (NovaTec Immundiagnostica, Germany) according to the manufacturer’s instruction sheet.

MRI Measurements

Cerebral volumes of MRI hypothyroid ($n = 7$) and control rats ($n = 7$) were monitored during PTU treatment. Each week, MRI experiments were performed on a 7T horizontal magnet (Oxford, UK) interfaced to a Bruker Avance console (Bruker, Germany), and equipped with a 360 mT/m actively shielded gradient device (I.D. 9 cm; Resonance Research, MA). A 38-mm-diameter birdcage coil was used for excitation and reception. Animals were examined under isoflurane (Forene[®]; Abbott, Wiesbaden, Germany) anesthesia (induction 1.5%; flow rate 0.8% in 40% O₂, 60% air), controlled on the basis of respiratory parameters. Body temperature was maintained at 37°C using heated mattress. For each animal, T2-weighted anatomical images were recorded, using a 2D TurboRARE sequence using the following parameters: field of view, 35 mm \times 35 mm; matrix 256 \times 256; repetition time, 4,000 ms; effective echo time 50 ms; rare factor 8; number of averages, 4; slice thickness, 1.0 mm, number of slices, 30. Volumetric analysis of total brain volume and hippocampal volume were performed using commercial software (AMIRA[®]).

Histology

One hemisphere of each brain (control rats: $n = 7$; hypothyroid rats: $n = 7$) was postfixed with 4% paraformaldehyde for 24 h and cryoprotected with a 10–20–30% sucrose/PBS gradient over 3 days. Coronal sections (50 μm) were serially cut using a cryostat and stored in cryoprotectant at -20°C until processed for thionin staining (0.1% in distilled water) before microscopic acquisition (Olympus, BX60). A computer software program (Image J; National Institutes of Health) was used for analysis of hippocampal volume.

Real-Time Quantitative PCR

RNA extraction of hippocampal tissue samples (control rats: $n = 7$; hypothyroid rats: $n = 7$) was conducted using an extraction kit (Trizol reagent, Invitrogen, France) according to the

manufacturer's instructions. The quality and the concentration of RNA were determined by spectrophotometry. Using OligodT and random primers (Promega, France), cDNA were synthesized with SuperScript II reverse transcriptase (Invitrogen, France). The real-time polymerase chain reaction (RT-PCR) was performed in a LightCycler system (Step One; Applied Biosystems, France) using a quantitative PCR (qPCR) Master Mix for Fast SYBR[®] Green (Applied Biosystems, France). Forward and reverse primer sequences were designed in accordance with published sequences available in Lin et al. (2009) for TNF- α , CRP, IL-1 β , IL-6, and in Ghenimi et al. (2010) for cyclophilin B (PPIB, the housekeeping gene) and RC3. Quantification was monitored by measuring the increase in the fluorescent signal from the samples due to SYBR[®] Green dye binding to double stranded DNA at the end of elongation step. The threshold cycle (Ct), defined as the cycle at which an increase in fluorescence above a defined baseline is first detected, was determined for each sample. The results were expressed as the ratio of the concentration of the target to that of PPIB within the same sample. We have verified that the expression level of PPIB was unaffected by PTU treatment.

Western Blot

Hippocampal tissue samples (control rats: $n = 7$; hypothyroid rats: $n = 7$) were prepared for Western blotting as described previously (Kelly et al., 2003). Each sample was loaded onto sodium dodecyl sulfate-acrylamide gels (8–12%) and transferred onto a nitrocellulose membrane (0.2–0.45 μm) by electroblotting. Membranes were preblocked with TBST-milk (5%) and incubated overnight at 4°C with primary antibody. The next day membranes were washed and incubated in a horseradish peroxidase-conjugated anti-rabbit immunoglobulin G (IgG; Amersham, GE Healthcare, France) or anti-mouse IgG (Amersham, GE Healthcare, France) or anti-goat IgG (Santa Cruz Biotechnology, France) for 1h at room temperature. Membranes were washed with TBST buffer and proteins were visualized using the enhanced chemiluminescence (ECL) solution (Amersham, GE Healthcare, France). After development and fixation, the films were scanned. Staining intensity of the protein bands was determined using Totallab software (Nonlinear dynamics, UK). Membranes were then subsequently stripped of antibodies and re-probed with others antibodies using the same procedure. Antibodies used are against β -actin (Sigma-Aldrich, 1:10,000), Calmodulin (Millipore, 1:5,000), CaMKII (Santa Cruz Biotechnology, 1:750), phospho-CaMKII α (Santa Cruz Biotechnology, 1:1,000), CaMKIV (Millipore, 1:2,000), CREB (Cell signaling Technology, 1:1,000), phospho-CREB (Cell signaling Technology, 1:1,000), CRP (R&D Systems, 1:1,000), EGR1 (Cell signaling Technology, 1:500), ERK (Cell signaling Technology, 1:4,000), phospho-ERK (Cell signaling Technology, 1:2,000), GSK3 β (Cell signaling Technology, 1:5,000), phospho-GSK3 β Ser9 (Cell signaling Technology, 1:1,000), phospho-GSK3 β Y216 (Millipore, 1:1,000), IL-1 β (R&D Systems, 1:1,000), p38-MAPK (Cell signaling Technology, 1:1,000), phospho-p38-

MAPK (Cell signaling Technology, 1:1,000), PP2A (Millipore, 1:1,000), PP2B (Millipore, 1:1,000), RC3 (Chemicon, 1:3,000), and phospho-RC3 (Merck Millipore, 1:3,000). The constant level of β -actin was verified in the two experimental groups (data not shown). The ratio of protein bands intensity to β -actin band intensity was compared among the different groups. The relative levels in proteins in hypothyroid rats were expressed as a percentage of the same proteins in control rats. For p-ERK, p-CREB, p-RC3, p-CaMKII, and p-GSK3 β , data are presented as the ratio of phosphoprotein to total protein, after being normalized to β -actin.

Tau Phosphorylation

Hippocampal tissues (control rats: $n = 7$; hypothyroid rats: $n = 7$) were homogenized in Tris buffer (pH 7.4) containing 10% sucrose and protease inhibitors (Complete; Roche Diagnostics GmbH), sonicated and kept at -80°C until use as previously described (Le Freche et al., 2012; Leboucher et al., 2013). Protein amounts were evaluated using the BCA assay (Pierce), subsequently diluted with LDS 2X supplemented with reducing agents (Invitrogen) and then separated on 4–12% NuPage Novex gels (Invitrogen). Proteins were transferred to nitrocellulose membranes, saturated (5% non-fat dry milk or 5% BSA) in TNT (Tris 15 mM pH8, NaCl 140 mM, 0.05% Tween) and incubated with primary and secondary antibodies. Five phospho-dependent antitau antibodies were used: anti-pSer396 (Invitrogen, France, 1:1,000), anti-pSer404 (Invitrogen, France, 1:10,000), anti-pSer262 (Invitrogen, France, 1:1,000), anti-pThr181 (Thermoscientific, France, 1:1,000), and tau1 (recognizing dephosphorylated tau at Ser195/198/199/202; Millipore, France, 1:2,000). We used antibodies recognizing total tau protein: tau Cter (home-made antibody recognizing the 11 amino-acids in C-terminal part of tau, 1:2,000) and tau5 (Lifre Sciences, France, 1:1,000). Signals were visualized using chemiluminescence kits (ECL[™]; Amersham Bioscience) and a LAS3000 imaging system (Fujifilm). Results were normalized to GAPDH and quantifications were performed using ImageJ software (Scion Software).

Behavioral Tasks

Behavioral testing was undertaken between 9 am and 7 pm after daily handling for 1 week. Except in the circular corridor task, a video camera was mounted on the ceiling above each testing apparatus and rats' behavior was monitored and analyzed using the ANY-maze[™] video-tracking system and software (version 4.5; Stoelting Co.).

Circular corridor

The circular corridor consisted of a gray circular arena (40 cm diameter \times 40 cm high) with an inside cylinder (20 cm diameter), thus forming a 10-cm wide circular corridor. Four infrared photocells were placed 2.5 cm above the floor at equidistant locations within the circumference. Each rat (control rats: $n = 7$; hypothyroid rats: $n = 7$) was placed inside the

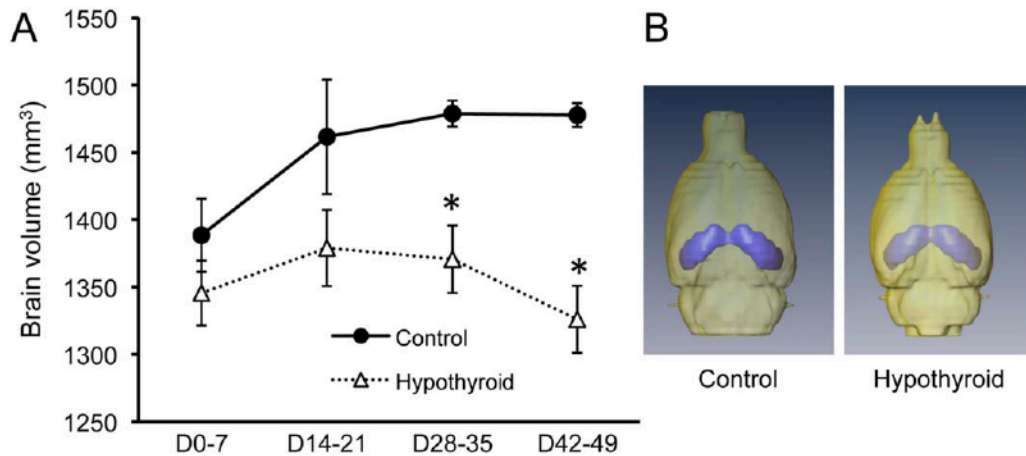


FIGURE 1. (A) *In vivo* MRI analyses of longitudinal change (mm^3) of whole brain volumes along the course of PTU treatment in control and hypothyroid rats. (B) Three-dimensional views of global brain atrophy after 5 weeks of PTU treatment. Data are expressed as mean \pm SEM. * $P < 0.05$, hypothyroid ($n = 7$) versus control ($n = 7$) rats.

corridor and could move around the circular track for 2 h. The number of photocell interruptions was registered during successive 10-min periods to quantify locomotor activity.

Elevated plus-maze

To assess anxiety, rats (control rats: $n = 7$; hypothyroid rats: $n = 7$) were tested in an elevated plus-maze (black opaque Plexiglas, 50 cm above the floor) that consisted of four arms (50 cm \times 10 cm) connected by a common 10 cm \times 10 cm center area. Two opposite facing arms were open, while the other two facing arms were enclosed by high walls (40 cm height). Each rat was placed onto the central area facing an open arm and observed for 10 min. The maze was cleaned with 100% ethanol between each animal. Total number of entries and time spent in open and enclosed arms were recorded to evaluate anxiety-like behavior.

Radial arm water maze

Spatial learning and memory performance were tested in a radial arm water maze (RAWM) as described by Diamond et al. (1999). The RAWM is a navigational paradigm in which rats learn to find a submerged platform to escape from swimming. Several large extra-maze visual cues were placed on the walls of the room. The apparatus consisted of a white circular tank (150 cm in diameter, 40 cm height) filled with water (22°C) made opaque by adding a white, nontoxic opacifier (Acusol OP301 Opacifier; Rohm and Haas). Six V-shaped plexiglass inserts (39 cm height and 50 cm length) placed into the tank produced a six swim arms that radiated from an open central area. A hidden platform (11 cm in diameter) was located 2 cm below the water surface at the far end of one arm (designated as the "goal arm"). For each rat, the platform remained in the same arm during all learning and memory tri-

als of a given day, but was moved to a new arm each day. Rats (control rats: $n = 8$; hypothyroid rats: $n = 8$) were given four consecutive learning trials (max 60 s) per day. For each trial, the rat was placed into one arm (designated as the "start arm") facing the wall of the water tank, with the start locations varying pseudorandomly. After reaching the platform, rats were allowed to remain on it for 30 s. If a rat did not locate the hidden platform within 1 min, it was gently guided to the platform. Each day, three probe tests (memory trials) were performed, 15 min, 4 h, and 24 h after the last learning trial. These probe tests consisted of a 60-s single trial. Using the video tracking system, we registered arm entry errors, described as every time a rat entered an arm other than the goal arm or entered the goal arm without reaching the platform. The task was continued until all animals reached the criterion of no more than one error during the last three learning trials and in all memory tests. The number of days required to reach criterion was recorded.

Statistical Analyses

Values are given as mean \pm standard error of the mean (SEM). The statistical significance of differences between means was calculated by Student's *t*-tests or two-way repeated measures analysis of variance (ANOVA) using Statview 5.0. *P* values of less than 0.05 were considered statistically significant.

RESULTS

Hypothyroid Status

Hypothyroidism, analyzed in 5-week PTU-treated animals, was evidenced by a significant reduction in serum T3 levels

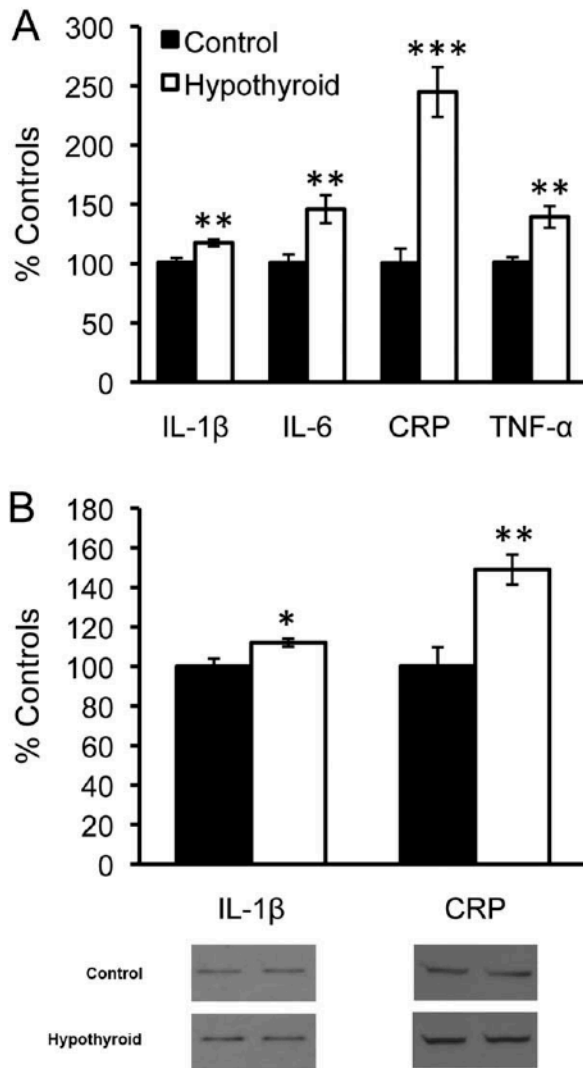


FIGURE 2. Expression of proinflammatory cytokines in the hippocampus. (A) IL-1 β , IL-6, CRP and TNF- α mRNA levels and (B) IL-1 β and CRP protein levels (B) in the hippocampus of control and PTU-treated rats. Each bar represents the mean \pm SEM. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, hypothyroid ($n = 7$) versus control ($n = 7$) rats.

compared to controls rats (control rats: 0.69 ± 0.02 ng/ml; hypothyroid rats: 0.35 ± 0.05 ng/ml; $t = -5.56$, $P < 0.0001$). Body weights were not significantly different at the beginning of the experiment (control rats: 303.35 ± 1.52 g; hypothyroid rats: 296.08 ± 1.1 g; $t = 0.57$, $P = 0.57$), but were reduced by 28% in hypothyroid rats by completion of the treatment (control rats: 505.26 ± 10.08 g; hypothyroid rats: 361.26 ± 10.40 g; $t = 9.94$, $P < 0.0001$). In adult brains, the expression of neurogranin (RC3) is tightly regulated by TH, and RC3 messenger RNA (mRNA) level is considered a good marker of TH tissue status (Iniguez et al., 1993; Piosik et al., 1996; Husson et al., 2004). We therefore measured RC3 expression in hippocampal tissue, and found a reduced amount of RC3 mRNA in the hippocampus of hypothyroid rats, compared to controls (control group: $100 \pm 8.9\%$; hypothyroid

group: $71.6 \pm 2.9\%$; -28% ; $t = 3.02$, $P < 0.01$). Together, these data indicate that 0.05% PTU in the drinking water for 5 weeks generated a hypothyroid status in rats associated with a decreased cellular action of T3 in the hippocampus.

Hypothyroidism Is Associated With Brain Volumetric Changes

We first assessed brain volume of control and hypothyroid rats using *in vivo* MRI in a longitudinal study. At the beginning of the experiment, brain volumes were not statistically different between groups (control group: 1388.52 ± 27.07 mm³; hypothyroid group: 1345.55 ± 24.02 mm³; $t = 1.16$, $P = 0.27$; Fig. 1A). Brain volume increased slightly over time in control rats, however, that of hypothyroid rats did not, slowing down after 3 weeks of PTU treatment (group \times time interaction: $F_{(3;15)} = 6.37$, $P = 0.005$; Fig. 1A). After 5 weeks of PTU treatment, brains of hypothyroid rats were significantly atrophied by 6% compared to controls ($t = 4.9$; $P < 0.001$; Fig. 1A,B). Concerning MRI analysis of hippocampal volume, a similar trend was noted with a 5.6% decrease in hypothyroid group (control group: 109.09 ± 1.60 mm³; hypothyroid group: 102.95 ± 2.70 mm³), however this did not reach statistical significance ($t = 1.96$, $P = 0.07$). Histological investigation of hippocampal volume in the same rats after 5 weeks of PTU treatment also showed a similar decrease in hippocampal volume of 6.5% in hypothyroid rats that did not reach statistical significance (control group: 1230301.07 ± 23105.60 pixels; hypothyroid group: 1150507.00 ± 38781.80 pixels; $t = -1.76$, $P = 0.10$).

Effect of Hypothyroidism on Hippocampal Inflammatory Response

Five weeks after PTU treatment, RT-qPCR analyses of several proinflammatory molecules in hippocampal tissue revealed significant increases in IL-1 β (+16%; $t = 3.4$, $P = 0.01$), IL-6 (+45%; $t = 3.28$, $P < 0.01$), CRP (+143%; $t = 5.91$, $P < 0.0001$), and TNF- α (+157%; $t = 3.75$, $P < 0.01$) mRNA levels in the hippocampus of hypothyroid rats compared to controls (Fig. 2A). Similarly, proteins levels of IL-1 β and CRP were significantly higher in hypothyroid rats than in controls (+12%, $t = 2.80$, $P < 0.05$; +48%, $t = -4.04$, $P < 0.001$, respectively; Fig. 2B). This suggests an inflammatory response in the hippocampus of hypothyroid rats.

Hypothyroidism Leads to Hippocampal Tau Hyperphosphorylation

Using Sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis and immunoblot analyses, we found a significant increase in tau phosphorylation at Ser396 (+95%; $t = -3.88$, $P < 0.01$) and Ser404 (+53%; $t = -4.32$, $P < 0.01$) epitopes (Fig. 3A). Finally, to study the possible impact of PTU treatment on tau aggregation, biochemical fractionations were performed and sarkosyl-soluble and insoluble fractions were analyzed. We did not find difference in sarkosyl-insoluble tau

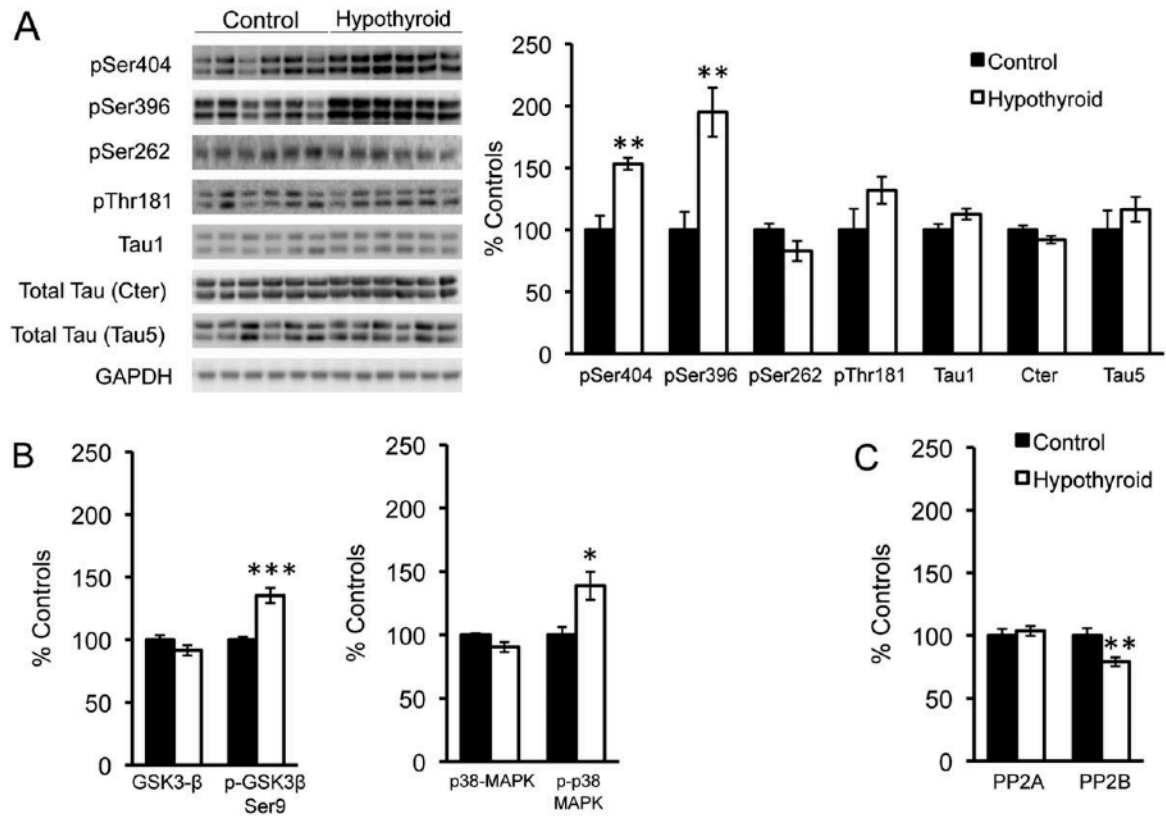


FIGURE 3. Western blot analyses of tau and upstream kinases and phosphatases expression in hypothyroid rats. (A) Protein levels of pSer404, pSer396, pSer262, pThr181, tau1, Cter and tau 5, (B) tau protein kinases GSK3 β and p38-MAPK, (C) tau protein phosphatases PP2A and PP2B after 5 weeks of PTU treatment. Each bar represents the mean \pm SEM. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, hypothyroid ($n = 7$) versus control ($n = 7$) rats.

between groups, suggesting that PTU does not lead to tau aggregation (not shown).

Tau phosphorylation is under the tight control of several protein kinases and phosphatases including those of the PI3K/AKT/GSK3 and MAPK/ERK pathways (Sergeant et al., 2008). Here, we assessed the effects of hypothyroidism on the expres-

sion or activation of major tau protein kinases, such as GSK3 β , p38-MAPK, CaMKII and ERK. Total expression of these kinases remained similar between groups (Figs. 3B, 4C, and 5A). However, we found an increase in GSK3 β Ser9 phosphorylation (+35%; $t = -4.95$, $P < 0.001$) and unchanged Y216 phosphorylation ($t = 1.32$, $P = 0.21$), suggesting reduced

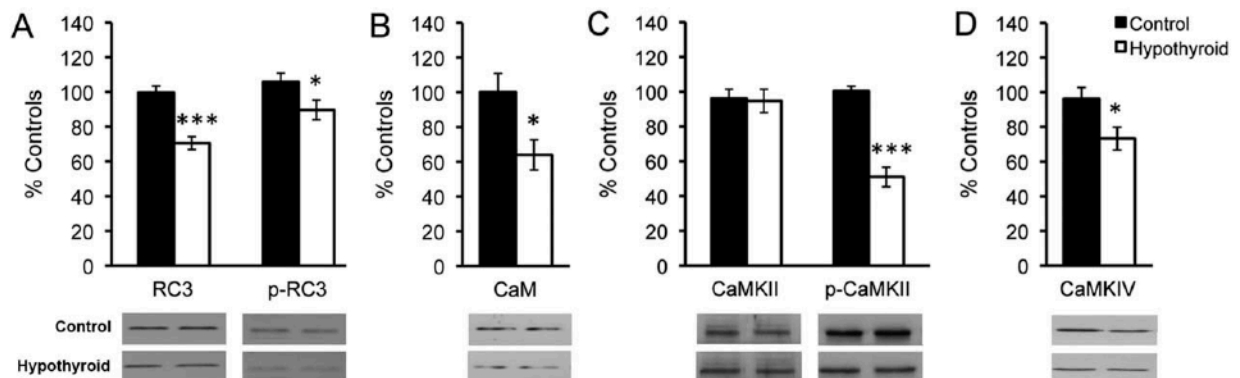


FIGURE 4. Protein levels of RC3, p-RC3 (A), CaM (B), CaMKII, p-CaMKII (C), and CaMKIV (D) after 5 weeks of PTU treatment. Values represent mean \pm SEM. * $P < 0.05$, *** $P < 0.001$, hypothyroid ($n = 7$) versus control ($n = 7$) rats.

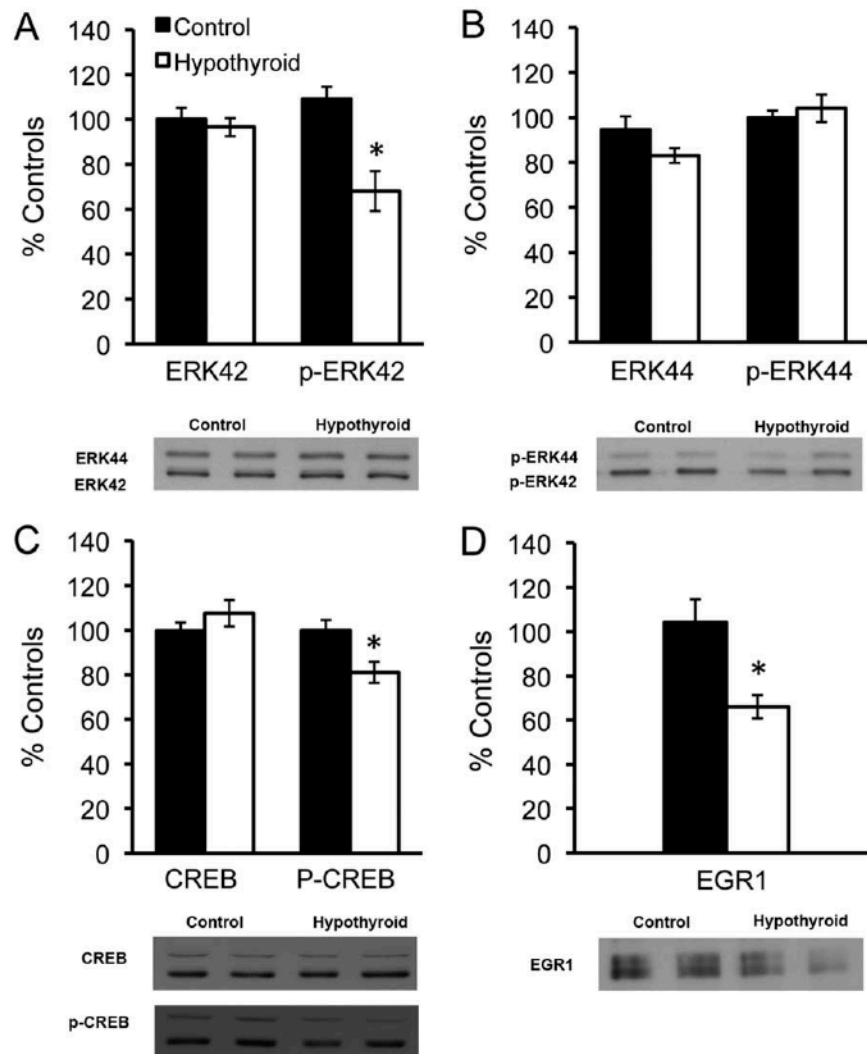


FIGURE 5. Protein levels of ERK42, p-ERK42 (A), ERK44, p-ERK44 (B), CREB, p-CREB (C), and EGR1 (D) after 5 weeks of PTU treatment. Values represent mean \pm SEM. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, hypothyroid ($n = 7$) versus control ($n = 7$) rats.

activity of GSK3 β . As described below, ERK42 and CaMKII phosphorylation were also reduced in hypothyroid rats. Conversely, we found an increased activation of p38-MAPK (+38%; $t = -3.04$, $P < 0.01$), another known tau kinase (Goedert et al., 1997; Buee-Scherrer and Goedert, 2002). Further, we next assessed the expression levels of two tau protein phosphatases, PP2A and PP2B (Tian and Wang, 2002) and found that hypothyroidism was associated with a significant reduction of PP2B expression (-21%; $t = -3.13$, $P < 0.01$) (Fig. 3C). Together, these results indicate that tau hyperphosphorylation is ascribed to a kinase/phosphatase imbalance, specifically involving p38-MAPK and PP2B.

Effect of Hypothyroidism on Cell-Signaling Pathways

Hippocampal levels of several proteins involved in calcium signaling pathways were analyzed (Marambaud et al., 2009).

We first screened the expression of total and phosphorylated RC3 proteins, which participates in synaptic signaling via the regulation of calmodulin (CaM) availability (Diez-Guerra, 2010). In line with the decrease in RC3 mRNA expression mentioned above, the level of hippocampal total RC3 and p-RC3 proteins was decreased by 29% ($t = -5.51$, $P < 0.0001$) and 15% ($t = -2.15$, $P < 0.05$), respectively, in hypothyroid rats compared to controls (Fig. 4A). Hypothyroidism was also associated with a significant decrease in hippocampal expression of both CaM and CaMKIV proteins (-36%; $t = 2.5$, $P < 0.05$; -23%; $t = -2.45$, $P < 0.05$, respectively; Fig. 4B,D). Five weeks of PTU treatment also resulted in a decrease in p-CaMKII levels (-49%; $t = -0.16$, $P < 0.0001$), without affecting total CaMKII protein levels (Fig. 4C). We then examined expression of several components of the MAPK/ERK pathway, known to play a key role in learning and memory processes (Bozon et al., 2003; Sweatt, 2001, 2004; Davis and Laroche, 2006). Quantitative immunoblot analyses revealed

that hypothyroidism significantly decreased the level of p-ERK42 in the hippocampus of PTU-treated rats compared to controls (-37% ; $t = -0.56$, $P < 0.01$; Fig. 5A). No significant modifications of p-ERK44 and total forms of ERK42 and ERK44 were observed. Finally, our analyses also revealed significant decreases in the expression of p-CREB and EGR1/Zif268 (-19% , $t = -2.8$, $P < 0.05$ and -36% , $t = -3.27$, $P < 0.01$, respectively; Fig. 5C,D) in hypothyroid rats, while total CREB was unchanged.

Functional Consequences of Adult-Onset Hypothyroidism

Exploratory and locomotor activity

Exploratory and locomotor activities were measured in the circular corridor during a 120-min session. The activity level in both groups significantly decreased across the first hour to reach a plateau (time effect: $F_{(11,132)} = 19.146$, $P < 0.0001$), with no significant effect of PTU treatment ($F_{(1,132)} = 0.035$, $P = 0.85$) or interaction between treatment and time ($F_{(11,132)} = 1.287$, $P = 0.24$). This suggests that, in our experimental conditions, control and hypothyroid rats do not differ in their exploratory behavior and locomotor activity. These effects were confirmed in an open-field arena where similar path-lengths traveled were observed in both groups (data not shown).

Anxiety-like behavior

In the elevated plus-maze, no difference was observed between controls and hypothyroid rats in the percentage of time spent in open arms (control group: $5.21 \pm 0.95\%$; hypothyroid group: $7.56 \pm 2.16\%$; $t = 0.99$, $P = 0.34$) or in the number of entries into open arms (control group: 3.42 ± 0.81 ; hypothyroid group: 3.14 ± 0.88 ; $t = 0.23$, $P = 0.81$), indicating no effect of hypothyroidism on anxiety-related responses. These effects were confirmed in an open-field arena with a similar percent of time spent in the center by both groups (data not shown).

Spatial memory

Spatial memory was assessed in the RAWM task with the escape platform placed in different arms on each training day. On Days 1–4, although PTU-treated rats made less errors on the first trial, all groups learned the platform location at the same rate, as indicated by the decrease in the number of errors made between Trials 1 and 4 of the acquisition phase (Fig. 6A; group difference: $F_{(1,42)} = 0.878$, $P = 0.36$). However, performance during the long-term memory test showed that hypothyroid rats made significantly more errors than controls (24 h: $t = -2.28$, $P < 0.05$; trend at 5 h: $t = -2.05$, $P = 0.06$). Over the next five days, hypothyroid rats showed a significant delay in learning compared to controls, as indicated by the higher number of error on Trial 2 ($t = -5.57$, $P < 0.0001$; Fig. 6B). This difference was not observed at the end of the acquisition phase (Trials 3 and 4; respectively, $t = -1.14$, $P = 0.34$ and

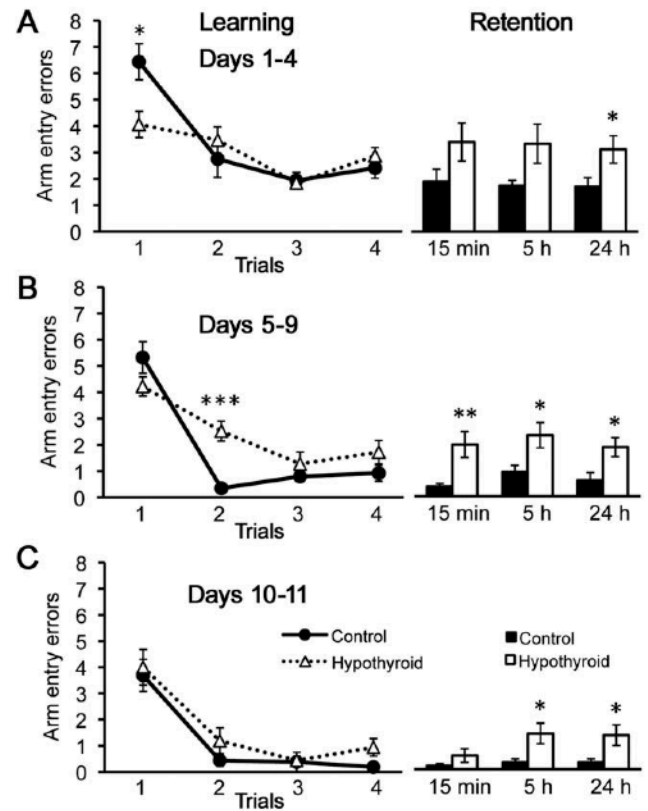


FIGURE 6. Performance in the radial arm water maze task after 5 weeks of PTU treatment. Each panel represents the number of error made during learning (left) and memory retention tests (right) at short-term (15 min) and long-term (5 h, 24 h) retention intervals for learning Days 1–4 (A), 5–9 (B), and 10–11 (C). Values represent mean \pm SEM. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, hypothyroid ($n = 8$) versus control ($n = 8$) rats.

$t = -1.49$, $P = 0.15$). Despite this, probe tests at different delays showed that both short-term and long-term memory were impaired in hypothyroid rats (15 min: $t = -3.16$, $P < 0.01$; 5 h: $t = -2.57$, $P < 0.05$; 24 h: $t = -2.72$, $P < 0.05$; Fig. 6B). Notably, with further training (Days 10–11), even though the two groups showed a similar learning rate ($F_{(1,14)} = 2.84$, $P = 0.11$), a long-term, but not short-term memory impairment was observed in the hypothyroid group (5 h: $t = -2.65$, $P < 0.05$; 24 h: $t = -2.49$, $P < 0.05$; Fig. 6C). Analysis of the number of days to reach criterion (DTC) across testing sessions confirmed these results (Table 1). Hypothyroid rats required significantly more days to reach criterion on Trial 2 of the learning phase ($t = -3.20$; $P < 0.01$), and although no difference in the DTC index was observed for the last two trials of the learning phase (Trial 3: $t = -1.02$, $P = 0.32$; Trial 4: $t = -1.57$, $P = 0.13$), indicating that all rats learned the task, significant differences in the DTC index during probe tests were observed (15 min: $t = -2.68$, $P = 0.02$; 5 h: $t = -3.30$, $P = 0.01$; 24 h: $t = -2.68$, $P = 0.02$). In summary, these results indicate that hypothyroid rats have difficulty adapting to a task in which successful learning requires flexibility to adapt to the every-day changing position of the goal arm

TABLE 1.

Effect of 5 Weeks of PTU Treatment on the Number of Days to Criterion (DTC) During Learning Trials and Memory Retention Tests.

		Control	Hypothyroid
Learning trials	Trial 2	5,25 ± 0,41	9,25 ± 1,16**
	Trial 3	6,50 ± 0,68	8,13 ± 1,43
	Trial 4	8,38 ± 0,56	9,88 ± 0,77
Memory tests	15min	6,25 ± 0,92	9,88 ± 0,99*
	5hrs	8,13 ± 0,79	11,88 ± 0,81*
	24hrs	6,50 ± 0,73	9,88 ± 1,03*

The criterion is reached for a particular trial when an animal has made no more than one error in three consecutive days. Values represent mean ± SEM. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, hypothyroid versus control rats.

containing the escape platform. This may account for the delay in learning observed on Sessions 5–9, with a consequential deficit in short-term memory at this phase of the experiment. Although hypothyroid rats learned as well as controls in the early phase of training as well as with overtraining in the later phase (Sessions 10–11), long-term memory at both 5 and 24 h was impaired.

DISCUSSION

Several studies have suggested a possible association between thyroid dysfunctions and AD. We have previously reported that adult onset hypothyroidism induced by PTU treatment favors APP processing via the amyloidogenic, over the non-amyloidogenic pathway, leading to an increased A β production and vulnerability to the formation of amyloid deposits in the hippocampus (Ghenimi et al., 2010). Although these data support the idea that hypothyroidism, which becomes more prevalent with advancing age, could participate in the etiology of AD, supporting observations still remain fragmentary. In this context, the aim of the present study was to assess whether TH hyposignaling could promote others features of AD such as cerebral atrophy, neuroinflammation and tau hyperphosphorylation, and result in deficits in hippocampal-dependent spatial memory and altered plasticity-related signaling pathways. We induced hypothyroidism in rats by using 0.05% PTU treatment as described previously (Ghenimi et al., 2010). Five-week of this treatment induced a significant reduction in serum T3 concentrations characteristic of hypothyroidism, associated with a reduced amount of RC3 transcript levels in the hippocampus. These results are in line with our previous data in adult hypothyroid mice (Vallortigara et al., 2008) and indicate that a hypothyroidism status was induced in this key brain structure involved in memory function. A recent study revealed that 1-month daily treatment (oral gavage) of euthyroid rats with higher PTU doses (1, 20, and 200 mg/kg/day daily for 1 month) results in hypothyroidism without any evidence of

adverse effects as reported in humans, including liver injury (Nambiar et al., 2013). Therefore, we feel that our results in the hippocampus are unlikely to be related to such peripheral effects.

Hypothyroidism and Pathological Hallmarks of AD

One of the characteristic AD macroscopic hallmarks is brain atrophy. MRI studies in AD patients reported a loss of 2% of brain volume per year, compared to a 0.5% loss in subjects aged 65–75 yr (Evans et al., 2010). In humans, a recent study reported a decrease in volume of the right hippocampus in adult patients with untreated overt hypothyroidism (Cooke et al., 2014). In our model of hypothyroid rats, we observed a loss of cerebral volume growth resulting in a small, but significant decrease in cerebral volume compared to controls after 28–35 days of PTU treatment. In line with our previous data, the aim of the present study was to focus our investigation on the hippocampal area and thus we investigated the effect of 5 weeks of PTU treatment on hippocampal volume. MRI and postmortem histological investigations showed a trend toward a reduction of hippocampal volume in hypothyroid rats. Similarly, perinatal hypothyroidism tends to reduce brain volume as a whole, but does not seem to affect the hippocampus (Hasegawa et al., 2010), whereas some authors reported that congenital hypothyroidism alters ERK1/2 and p38(MAPK) phosphorylation pathways, causing an important molecular alteration in the hippocampus. Together these findings suggest that effect of PTU-induced hypothyroidism in hippocampus is not associated with a major atrophy of this area (Calloni et al., 2005). In other AD animal models such as transgenic mouse lines carrying familial AD mutations with developing brain amyloidosis, hippocampal atrophy appears prematurely, contrasting with the slow and gradual atrophy depicted in AD patients (Delatour et al., 2010), which only increases with disease severity (Evans et al., 2010). To date, it remains unclear whether developmental abnormalities, rather than strictly age-dependent AD-like brain atrophy, is a major determinant of the early atrophy observed in transgenic mice. Progressive brain atrophy in our hypothyroid model may more closely mimic the physiological sequence of events that occurs with aging and may suggest that hypothyroidism induced by PTU is associated with early features of AD.

Brain inflammation contributes to AD pathogenesis (Wyss-Coray and Rogers, 2012). Patients with hypothyroidism also present a significantly higher level of the inflammatory marker C-reactive protein, CRP (Dizdarevic-Bostandic et al., 2013). Here, following a 5-week PTU treatment, we found elevated mRNA levels for TNF- α and IL-6, together with higher mRNA and protein levels of IL-1 β and CRP compared to control rats. Overexpression of IL-1 β has been reported in AD and can lead to excessive expression of APP and induction of plaque formation (Griffin et al., 2000; Laye, 2010). Upregulation of CRP has also been observed in brains of AD patients (Lin et al., 2009). Interestingly, a significant negative

correlation has been reported between circulating TH concentrations and serum IL-6 and CRP concentrations in premature infants with nonthyroidal illness (Dilli and Dilmen, 2012) and similar results were reported in rats administrated with CRP or A β 25–35 peptides, a highly toxic core fragment of the full-length A β peptide (Lin et al., 2009). Thus, the elevated levels of proinflammatory molecules observed after PTU treatment could be one key factor promoting the amyloidogenic processing of APP we reported previously in this model (Ghenimi et al., 2010), therefore contributing to the overall AD-like phenotype we observed.

Another hallmark of AD is intraneuronal neurofibrillary tangles composed of hyperphosphorylated tau, the level and spreading of which correlates with memory impairments in several animal models of AD (Duyckaerts and Hauw, 1997; Dujardin et al., 2014). Tau proteins were identified as a factor promoting microtubules assembly and stabilization. Phosphorylation affects the ability of tau protein to promote microtubule assembly (Sergeant et al., 2008). Tyrotropin-releasing hormone (TRH) concentration, a neuropeptide primarily known for its role as central regulator of the hypothalamic–pituitary–thyroid axis, was shown to be decreased in the hippocampus of AD patients compared to elderly controls. In *in vitro* neuronal cell cultures, depletion of TRH was shown to enhance tau phosphorylation via changes in the activity of several kinases (Luo et al., 2002; Luo and Stopa, 2004; Daimon et al., 2013). Moreover, there is evidence to suggest that THs are required during early development for high rates of microtubule assembly (Fellous et al., 1979). Here, we demonstrate that hypothyroidism induced by PTU-treatment promotes tau hyperphosphorylation *in vivo*. Tau hyperphosphorylation was associated with an increased activation of p38-MAPK and a decrease in the expression of PP2B. Involvement of p38-MAPK in tau phosphorylation was previously demonstrated (Buee-Scherrer and Goedert, 2002). PP2B was found able to dephosphorylate tau at multiple epitopes including those evaluated here (Liu et al., 2005). Interestingly, PP2B protein levels were shown to correlate inversely with dementia severity and Braak tangle stages in AD brains, and PP2B activity was found globally reduced in AD brains (Karch et al., 2013). Consistent with these data, our results thus suggest that increased p38-MAPK phosphorylation together with decreased expression of PP2B is likely to contribute to tau hyperphosphorylation in our hypothyroid model. A surge of proinflammatory markers found in PTU-treated animals may also contribute to tau hyperphosphorylation (Li et al., 2003; Kitazawa et al., 2005). This view is in line with previous observations demonstrating p38-MAPK activation in proinflammatory conditions in the brain (Chaves de Souza et al., 2013).

Hypothyroidism Affects Hippocampal-Dependent Memory Function

Previous studies of cognitive functions in mouse or rat models of AD have consistently reported spatial memory deficits (Sipos et al., 2007; Blanchard et al., 2009; Fu et al., 2010;

Burnouf et al., 2013). In this study, we used the radial-arm water maze task, a hippocampal-dependent spatial memory task (Park et al., 2008; Alzoubi et al., 2009), to examine memory performance of PTU-treated rats. Our results showed that hypothyroid rats had difficulty in coping with the everyday change in the goal arm spatial location. This adaptation difficulty, which did not include procedural aspects of the task, likely reflects an alteration in behavioral flexibility, leading to a delay in learning. With repeated practice, however, hypothyroid rats could learn to the same extent as controls, but still showed severe deficits in long-term spatial memory. These results, which are comparable to those observed in thyroidectomized rats (Gerges et al., 2004), are unlikely to result from anxiety or motor impairments since PTU-treated rats showed a similar behavioral profile to that of controls in the circular corridor, open-field arena and elevated plus-maze.

The cellular mechanisms underlying spatial memory impairments in hypothyroid rats are presumably multifactorial. First, one likely candidate mechanism is an alteration of RC3 signaling in neurons. TH availability in the adult brain plays a central role in the control of RC3 expression (Iniguez et al., 1993; Piosik et al., 1996; Husson et al., 2004), a brain-specific gene involved in synaptic plasticity and memory via the modulation of Ca²⁺/calmodulin-dependent signaling (Marambaud et al., 2009). RC3 protein is a reservoir for CaM controlling its availability and CaM itself acts as a signaling hub, feeding in and distributing Ca²⁺ signals through a variety of different kinases and phosphatases (Koromilas et al., 2010). We found a conspicuous decrease in total and phosphorylated RC3 protein levels in the hippocampus associated with a decrease in the expression of CaM, p-CaMKII, CaMKIV, and PP2B proteins. Given the role of RC3-mediated CaMK signaling in synaptic plasticity and spatial learning (Pak et al., 2000), alteration of this pathway is a likely mechanism contributing to the observed memory deficits. Moreover, there is extensive crosstalk between Ca²⁺ and CaMK signaling and several other kinases cascades involved in synaptic plasticity and hippocampal functions, in particular the MAPK/ERK-CREB cascade. This pathway controls activity-dependent regulation of gene programs via the regulated expression of inducible transcription factors such as EGR1/Zif268, which is required for synaptic plasticity and hippocampal-dependent memories (Bozon et al., 2002; Davis et al., 2003; Besnard et al., 2014). Moreover, p-CREB levels are reduced in RC3 knockout mice that also present deficits in spatial learning and memory (Wu et al., 2002). The present findings show that PTU-treatment resulted in a decrease in major components of this pathway, including p-ERK42, which was also observed in thyroidectomized rats in association with impairment in RAWM performance (Alzoubi et al., 2009), p-CREB and EGR1, suggesting alteration of this cell-signaling pathway is also likely to contribute to the observed deficits.

Second, as described above, brain atrophy, tau hyperphosphorylation, increased levels of A β 42 as well as neuroinflammation, features of AD modified in hypothyroid rats, may also

contribute to the impairment of memory processes (Lin et al., 2009; Laye, 2010). For example, elevated A β 42 may trigger some of the early-onset morphological and functional synaptic plasticity deficits that lead to memory dysfunction in mouse models of AD (Jacobsen et al., 2006; Brouillette et al., 2012). Spatiotemporal progression of tau aggregates has been shown to correlate with cognitive deficits (Duyckaerts and Hauw, 1997; Grober et al., 1999). Further, tau hyperphosphorylation associated with detrimental metabolic conditions such as obesity and diabetes or with chronic anesthesia, lead to impaired memory function (Papon et al., 2013). Notably, these post-translational tau modifications were found associated with impaired memory abilities (Le Freche et al., 2012; Burnouf et al., 2013; Leboucher et al., 2013). However, an *in vitro* study suggested that kinase activation or phosphatase inhibition can induce tau phosphorylation, but is not sufficient to result in microtubules destruction and subsequent neurodegeneration (Miyasaka et al., 2010).

CONCLUSION

The present findings provide evidence that PTU-induced hypothyroidism in rats lead to several early neuropathological signs of AD, characterized by reduction of cerebral volume, abnormal tau phosphorylation and neuroinflammation associated with cognitive deficits. Together with our previous data showing enhanced amyloidogenic processing of APP and increased A β peptide production in the hippocampus in the same model, we conclude that hypothyroidism leads to AD-related pathological hallmarks associated with reduced behavioral flexibility and impaired long-term spatial memory. Mechanistically, TH availability in the adult brain plays a central role in the control of RC3 expression, and our biochemical analyses provide evidence that hypothyroidism results in a decrease in hippocampal expression of RC3 associated with the downregulation of many molecular components of cell-signaling cascades involved in synaptic plasticity. These alterations, that are also found in AD (Saura, 2012; Zeiger et al., 2013; Lin et al., 2014), are likely to be at least in part responsible for the resulting memory deficits. Interestingly, a decrease in RC3 expression has been reported in brains of patients suffering early and late stage AD (Reddy et al., 2005) and a decrease in CaMKII in the hippocampus of AD patients was shown to correlate with cognitive assessment scores (Reese et al., 2011). Mirroring this, Thorsell et al. (2010) reported elevated levels of RC3 in cerebrospinal fluid of AD patients that correlate with tau phosphorylation, and is likely due to synaptic degeneration and decreased RC3 brain expression. To conclude, these data strengthen the interest in considering hypothyroidism as a potential factor impacting the risk of developing sporadic forms of AD with aging and place TH and RC3 as potentially interesting therapeutic candidates for certain forms of AD.

REFERENCES

- Aggarwal N, Razvi S. 2013. Thyroid and aging or the aging thyroid? An evidence-based analysis of the literature. *J Thyroid Res* 2013:1–8.
- Albert MS. 1996. Cognitive and neurobiologic markers of early Alzheimer disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 93:13547–13551.
- Alzoubi KH, Alkadhi KA. 2014. Levothyroxin replacement therapy restores hypothyroidism induced impairment of L-LTP induction: Critical role of CREB. *Brain Res Bull* 100:29–37.
- Alzoubi KH, Gerges NZ, Aleisa AM, Alkadhi KA. 2009. Levothyroxin restores hypothyroidism-induced impairment of hippocampus-dependent learning and memory: Behavioral, electrophysiological, and molecular studies. *Hippocampus* 19:66–78.
- Besnard A, Laroche S, Caboche J. 2014. Comparative dynamics of MAPK/ERK signalling components and immediate early genes in the hippocampus and amygdala following contextual fear conditioning and retrieval. *Brain Struct Funct* 219:415–430.
- Blanchard J, Decorte L, Nogues X, Micheau J. 2009. Characterization of cognition alteration across the course of the disease in APP751SL mice with parallel estimation of cerebral Abeta deposition. *Behav Brain Res* 201:147–157.
- Bozon B, Davis S, Laroche S. 2002. Regulated transcription of the immediate-early gene *Zif268*: Mechanisms and gene dosage-dependent function in synaptic plasticity and memory formation. *Hippocampus* 12:570–577.
- Bozon B, Kelly A, Josselyn SA, Silva AJ, Davis S, Laroche S. 2003. MAPK, CREB and *zif268* are all required for the consolidation of recognition memory. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 358:805–814.
- Brouillette J, Caillierez R, Zommer N, Alves-Pires C, Benilova I, Blum D, De Strooper B, Buee L. 2012. Neurotoxicity and memory deficits induced by soluble low-molecular-weight amyloid-beta1–42 oligomers are revealed *in vivo* by using a novel animal model. *J Neurosci* 32:7852–7861.
- Buee-Scherrer V, Goedert M. 2002. Phosphorylation of microtubule-associated protein tau by stress-activated protein kinases in intact cells. *FEBS Lett* 515:151–154.
- Burnouf S, Martire A, Derisbourg M, Laurent C, Belarbi K, Leboucher A, Fernandez-Gomez FJ, Troquier L, Eddarkaoui S, Grosjean ME, Demeyer D, Muhr-Tailleux A, Buisson A, Sergeant N, Hamdane M, Humez S, Popoli P, Buee L, Blum D. 2013. NMDA receptor dysfunction contributes to impaired brain-derived neurotrophic factor-induced facilitation of hippocampal synaptic transmission in a Tau transgenic model. *Aging Cell* 12:11–23.
- Calloni GW, Penno CA, Cordova FM, Trentin AG, Neto VM, Leal RB. 2005. Congenital hypothyroidism alters the phosphorylation of ERK1/2 and p38MAPK in the hippocampus of neonatal rats. *Brain Res Dev* 154:141–145.
- Chaves de Souza JA, Nogueira AV, Chaves de Souza PP, Kim YJ, Silva Lobo C, Pimentel Lopes de Oliveira GJ, Cirelli JA, Garlet GP, Rossa C. 2013. SOCS3 expression correlates with severity of inflammation, expression of proinflammatory cytokines, and activation of STAT3 and p38 MAPK in LPS-induced inflammation *in vivo*. *Mediators Inflamm* 650812:1–10.
- Chu LW. 2012. Alzheimer's disease: Early diagnosis and treatment. *Hong Kong Med J* 18:228–37.
- Coleman, P, Federoff, H., Kurlan, R., 2004. A focus on the synapse for neuroprotection in Alzheimer disease and other dementias. *Neurology* 63:1155–1162.
- Cooke GE, Mullally S, Correia N, O'Mara SM, Gibney J. 2014. Hippocampal volume is decreased in adults with hypothyroidism. *Thyroid* 24:433–440.
- Daimon CM, Chirdon P, Maudsley S, Martin B. 2013. The role of thyrotropin releasing hormone in aging and neurodegenerative diseases. *Am J Alzheimers Dis (Columbia)* 1:1–25.

- Davis S, Bozon B, Laroche S. 2003. How necessary is the activation of the immediate early gene *zif268* in synaptic plasticity and learning? *Behav Brain Res* 142:17–30.
- Davis S, Laroche S. 2006. Mitogen-activated protein kinase/extracellular regulated kinase signalling and memory stabilization: A review. *Genes Brain Behav* 5:61–72.
- Davis JD, Podolanczuk A, Donahue JE, Stopa E, Hennessey JV, Luo LG, Lim YP, Stern RA. 2008. Thyroid hormone levels in the prefrontal cortex of post-mortem brains of Alzheimer's disease patients. *Curr Aging Sci* 1:175–181.
- Delatour B, Epelbaum S, Petiet A, Dhenain M. 2010. In vivo imaging biomarkers in mouse models of Alzheimer's disease: Are we lost in translation or breaking through? *Int J Alzheimers Dis* 2010:1–11.
- Diamond DM, Park CR, Heman KL, Rose GM. 1999. Exposing rats to a predator impairs spatial working memory in the radial arm water maze. *Hippocampus* 9:542–552.
- Diez-Guerra FJ. 2010. Neurogranin, a link between calcium/calmodulin and protein kinase C signaling in synaptic plasticity. *IUBMB Life* 62:597–606.
- Dilli D, Dilmen U. 2012. The role of interleukin-6 and C-reactive protein in non-thyroidal illness in premature infants followed in neonatal intensive care unit. *J Clin Res Pediatr Endocrinol* 4:66–71.
- Dizdarevic-Bostandic A, Burekovic A, Velija-Asimi Z, Godinjak A. 2013. Inflammatory markers in patients with hypothyroidism and diabetes mellitus type 1. *Med Arh* 67:160–161.
- Dujardin S, Lecolle K, Caillierez R, Begard S, Zommer N, Lachaud C, Carrier S, Dufour N, Auregan G, Winderickx J, Hantraye P, Deglon N, Colin M, Buee L. 2014. Neuron-to-neuron wild-type tau protein transfer through a trans-synaptic mechanism: Relevance to sporadic tauopathies. *Acta Neuropathol Commun* 2:1–14.
- Duyckaerts C, Hauw JJ. 1997. Diagnosis and staging of Alzheimer disease. *Neurobiol Aging* 18:33–42.
- Evans MC, Barnes J, Nielsen C, Kim LG, Clegg SL, Blair M, Leung KK, Douiri A, Boyes RG, Ourselin S, Fox NC. 2010. Volume changes in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment: Cognitive associations. *Eur Radiol* 20:674–682.
- Fellous A, Lennon AM, Francon J, Nunez J. 1979. Thyroid Hormones and Neurotubule Assembly in vitro during Brain Development. *Eur J Biochem* 101:365–376.
- Fu AL, Zhou CY, Chen X. 2010. Thyroid hormone prevents cognitive deficit in a mouse model of Alzheimer's disease. *Neuropharmacology* 58:722–729.
- Ganguli M, Burmeister LA, Seaberg EC, Belle S, DeKosky ST. 1996. Association between dementia and elevated TSH: A community-based study. *Biol Psychiatry* 40:714–725.
- Gerges NZ, Alzoubi KH, Park CR, Diamond DM, Alkadhi KA. 2004. Adverse effect of the combination of hypothyroidism and chronic psychosocial stress on hippocampus-dependent memory in rats. *Behav Brain Res* 155:77–84.
- Ghenimi N, Alfoss S, Redonnet A, Higuieret P, Pallet V, Enderlin V. 2010. Adult-onset hypothyroidism induces the amyloidogenic pathway of amyloid precursor protein processing in the rat hippocampus. *J Neuroendocrinol* 22:951–959.
- Goedert M, Hasegawa M, Jakes R, Lawler S, Cuenda A, Cohen P. 1997. Phosphorylation of microtubule-associated protein tau by stress-activated protein kinases. *FEBS Lett* 409:57–62.
- Griffin WS, Nicoll JA, Grimaldi LM, Sheng JG, Mrak RE. 2000. The pervasiveness of interleukin-1 in Alzheimer pathogenesis: A role for specific polymorphisms in disease risk. *Exp Gerontol* 35:481–487.
- Grober E, Dickson D, Sliwinski MJ, Buschke H, Katz M, Crystal H, Lipton RB. 1999. Memory and mental status correlates of modified Braak staging. *Neurobiol Aging* 20:573–579.
- Hasegawa M, Kida I, Wada H. 2010. A volumetric analysis of the brain and hippocampus of rats rendered perinatal hypothyroid. *Sci Lett* 479:3240–3244.
- Husson M, Enderlin V, Alfoss S, Boucheron C, Pallet V, Higuieret P. 2004. Expression of neurogranin and neuromodulin is affected in the striatum of vitamin A-deprived rats. *Brain Res Mol Brain Res* 123:7–17.
- Hyman BT, Phelps CH, Beach TG, Bigio EH, Cairns NJ, Carrillo MC, Dickson DW, Duyckaerts C, Frosch MP, Masliah E, Mirra SS, Nelson PT, Schneider JA, Thal DR, Thies B, Trojanowski JQ, Vinters HV, Montine TJ. 2012. National Institute on Aging-Alzheimer's Association guidelines for the neuropathologic assessment of Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement* 8:1–3.
- Iniguez MA, Rodriguez-Pena A, Ibarrola N, Aguilera M, Munoz A, Bernal J. 1993. Thyroid hormone regulation of RC3, a brain-specific gene encoding a protein kinase-C substrate. *Endocrinology* 133:467–473.
- Jacobsen JS, Wu CC, Redwine JM, Comery TA, Arias R, Bowlby M, Martone R, Morrison JH, Pangalos MN, Reinhart PH, Bloom FE. 2006. Early-onset behavioral and synaptic deficits in a mouse model of Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 103:5161–5166.
- Johansson P, Almqvist EG, Johansson JO, Mattsson N, Hansson O, Wallin A, Blennow K, Zetterberg H, Svensson J. 2013. Reduced cerebrospinal fluid level of thyroxine in patients with Alzheimer's disease. *Psychoneuroendocrinology* 38:1058–1066.
- Karch CM, Jeng AT, Goate AM. 2013. Calcium phosphatase calcineurin influences tau metabolism. *Neurobiol Aging* 34:374–386.
- Kelly A, Laroche S, Davis S. 2003. Activation of mitogen-activated protein kinase/extracellular signal-regulated kinase in hippocampal circuitry is required for consolidation and reconsolidation of recognition memory. *J Neurosci* 23:5354–5360.
- Kitazawa M, Oddo S, Yamasaki TR, Green KN, LaFerla FM. 2005. Lipopolysaccharide-induced inflammation exacerbates tau pathology by a cyclin-dependent kinase 5-mediated pathway in a transgenic model of Alzheimer's disease. *J Neurosci* 25:8843–8853.
- Koromilas C, Liapi C, Schulpis KH, Kalafatakis K, Zarros A, Tsakiris S. 2010. Structural and functional alterations in the hippocampus due to hypothyroidism. *Metab Brain Dis* 25:339–354.
- Laakso MP, Frisoni GB, Kononen M, Mikkonen M, Beltramello A, Geroldi C, Bianchetti A, Trabucchi M, Soininen H, Aronen HJ. 2000. Hippocampus and entorhinal cortex in frontotemporal dementia and Alzheimer's disease: A morphometric MRI study. *Biol Psychiatry* 47:1056–1063.
- LaFerla FM, Green KN. 2012. Animal models of Alzheimer disease. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2:1–13.
- Laye S. 2010. Polyunsaturated fatty acids, neuroinflammation and well being. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 82:295–303.
- Le Freche H, Brouillette J, Fernandez-Gomez FJ, Patin P, Caillierez R, Zommer N, Sergeant N, Buee-Scherrer V, Lebuffe G, Blum D, Buee L. 2012. Tau phosphorylation and sevoflurane anesthesia: An association to postoperative cognitive impairment. *Anesthesiology* 116:779–87.
- Leboucher A, Laurent C, Fernandez-Gomez FJ, Burnouf S, Troquier L, Eddarkaoui S, Demeyer D, Caillierez R, Zommer N, Vallez E, Bantubungi K, Breton C, Pigny P, Buee-Scherrer V, Staels B, Hamdane M, Tailleux A, Buee L, Blum D. 2013. Detrimental effects of diet-induced obesity on tau pathology are independent of insulin resistance in tau transgenic mice. *Diabetes* 62:1681–8.
- Li Y, Liu L, Barger SW, Griffin WS. 2003. Interleukin-1 mediates pathological effects of microglia on tau phosphorylation and on synaptophysin synthesis in cortical neurons through a p38-MAPK pathway. *J Neurosci* 23:1605–1611.
- Lin HB, Yang XM, Li TJ, Cheng YF, Zhang HT, Xu JP. 2009. Memory deficits and neurochemical changes induced by C-reactive protein in rats: Implication in Alzheimer's disease. *Psychopharmacology (Berl)* 204:705–714.
- Lin N, Pan XD, Chen AQ, Zhu YG, Wu M, Zhang J, Chen XC. 2014. Triphenylolide improves age-associated cognitive deficits by reversing hippocampal synaptic plasticity impairment and NMDA receptor dysfunction in SAMP8 mice. *Behav Brain Res* 258:8–18.

- Liu F, Grundke-Iqbal I, Iqbal K, Gong CX. 2005. Contributions of protein phosphatases PP1, PP2A, PP2B and PP5 to the regulation of tau phosphorylation. *Eur J Neurosci* 22:1942–1950.
- Luo L, Stopa EG. 2004. Thyrotropin releasing hormone inhibits tau phosphorylation by dual signaling pathways in hippocampal neurons. *J Alzheimers Dis* 6:527–536.
- Luo L, Yano N, Mao Q, Jackson IM, Stopa EG. 2002. Thyrotropin releasing hormone (TRH) in the hippocampus of Alzheimer patients. *J Alzheimers Dis* 4:97–103.
- Marambaud P, Dreses-Werringloer U, Vingtdoux V. 2009. Calcium signaling in neurodegeneration. *Mol Neurodegener* 4:1–15.
- Miyasaka T, Sato S, Tatebayashi Y, Takashima A. 2010. Microtubule destruction induces tau liberation and its subsequent phosphorylation. *FEBS Lett* 584:3227–3232.
- Nambiar PR, Palanisamy GS, Okerberg GC, Wolford A, Walters K, Buckbinder L, Reagan WJ. 2013. Toxicities associated with 1-month treatment with propylthiouracil (PTU) and methimazole (MMI) in male rats. *Toxicologic Pathol* 00: 1–14.
- O'Barr SA, Oh JS, Ma C, Brent GA, Schultz JJ. 2006. Thyroid hormone regulates endogenous amyloid-beta precursor protein gene expression and processing in both in vitro and in vivo models. *Thyroid* 16:1207–1213.
- Pak JH, Huang FL, Li J, Balschun D, Reymann KG, Chiang C, Westphal H, Huang KP. 2000. Involvement of neurogranin in the modulation of calcium/calmodulin-dependent protein kinase II, synaptic plasticity, and spatial learning: A study with knockout mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 97:11232–11237.
- Papon MA, El Khoury NB, Marcouiller F, Julien C, Morin F, Bretteville A, Petry FR, Gaudreau S, Amrani A, Mathews PM, Hebert SS, Planel E. 2013. Deregulation of protein phosphatase 2A and hyperphosphorylation of tau protein following onset of diabetes in NOD mice. *Diabetes* 62:609–617.
- Park CR, Zoladz PR, Conrad CD, Fleshner M, Diamond DM. 2008. Acute predator stress impairs the consolidation and retrieval of hippocampus-dependent memory in male and female rats. *Learn Mem* 15:271–280.
- Piosik PA, van Groenigen M, Baas F. 1996. Effect of thyroid hormone deficiency on RC3/neurogranin mRNA expression in the prenatal and adult caprine brain. *Brain Res Mol Brain Res* 42:227–235.
- Raji CA, Lopez OL, Kuller LH, Carmichael OT, Becker JT. 2009. Age, Alzheimer disease, and brain structure. *Neurology* 73:1899–1905.
- Reddy PH, Mani G, Park BS, Jacques J, Murdoch G, Whetsell W, Kaye J, Manczak M. 2005. Differential loss of synaptic proteins in Alzheimer's disease: Implications for synaptic dysfunction. *J Alzheimers Dis* 7:103–117.
- Reese LC, Laezza F, Woltjer R, Tagliavola G. 2011. Dysregulated phosphorylation of Ca(2+) /calmodulin-dependent protein kinase II-alpha in the hippocampus of subjects with mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *J Neurochem* 119:791–804.
- Sampaolo S, Campos-Barros A, Mazziotti G, Carlomagno S, Sannino V, Amato G, Carella C, Di Iorio G. 2005. Increased cerebrospinal fluid levels of 3,3',5'-triiodothyronine in patients with Alzheimer's disease. *J Clin Endocrinol Metab* 90:198–202.
- Saura CA. 2012. CREB-regulated transcription coactivator 1-dependent transcription in Alzheimer's disease mice. *Neurodegener Dis* 10:250–252.
- Sergeant N, Bretteville A, Hamdane M, Caillet-Boudin ML, Grognet P, Bombois S, Blum D, Delacourte A, Pasquier F, Vanmechelen E, Schraen-Maschke S, Buee L. 2008. Biochemistry of Tau in Alzheimer's disease and related neurological disorders. *Expert Rev Proteomics* 5:207–224.
- Sipos E, Kurunczi A, Kasza A, Horvath J, Felszeghy K, Laroche S, Toldi J, Parducz A, Penke B, Penke Z. 2007. Beta-amyloid pathology in the entorhinal cortex of rats induces memory deficits: Implications for Alzheimer's disease. *Neuroscience* 147:28–36.
- Sweatt JD. 2001. The neuronal MAP kinase cascade: A biochemical signal integration system subserving synaptic plasticity and memory. *J Neurochem* 76:1–10.
- Sweatt JD. 2004. Mitogen-activated protein kinases in synaptic plasticity and memory. *Curr Opin Neurobiol* 14:311–317.
- Tan ZS, Vasan RS. 2009. Thyroid function and Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis* 16: 503–507.
- Thorsell A, Bjerke M, Gobom J, Brunhage E, Vanmechelen E, Andreassen N, Hansson O, Minthon L, Zetterberg H, Blennow K. 2010. Neurogranin in cerebrospinal fluid as a marker of synaptic degeneration in Alzheimer's disease. *Brain Res* 1362:13–22.
- Tian Q, Wang J. 2002. Role of serine/threonine protein phosphatase in Alzheimer's disease. *Neurosignals* 11:262–269.
- Vallortigara J, Alfios S, Micheau J, Higuere P, Enderlin V. 2008. T3 administration in adult hypothyroid mice modulates expression of proteins involved in striatal synaptic plasticity and improves motor behavior. *Neurobiol Dis* 31:378–385.
- van Osch LA, Hogervorst E, Combrinck M, Smith AD. 2004. Low thyroid-stimulating hormone as an independent risk factor for Alzheimer disease. *Neurology* 62:1967–1971.
- Wu J, Li J, Huang KP, Huang FL. 2002. Attenuation of protein kinase C and cAMP-dependent protein kinase signal transduction in the neurogranin knockout mouse. *J Biol Chem* 277:19498–19505.
- Wyss-Coray T, Rogers J. 2012. Inflammation in Alzheimer disease—a brief review of the basic science and clinical literature. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2:1–23.
- Zeiger W, Vetrivel KS, Buggia-Prevot V, Nguyen PD, Wagner SL, Villereal ML, Thinakaran G. 2013. Ca²⁺ influx through store-operated Ca²⁺ channels reduces Alzheimer disease beta-amyloid peptide secretion. *J Biol Chem* 288:26955–26966.

5. Résultats complémentaires

5.1. Effet de l'hypothyroïdie sur l'activité locomotrice

L'activité locomotrice des animaux a été évaluée par le test du cyclotron sur une période de 120 min. La figure 29 montre l'évolution de l'activité locomotrice des animaux par tranche de 10 min.

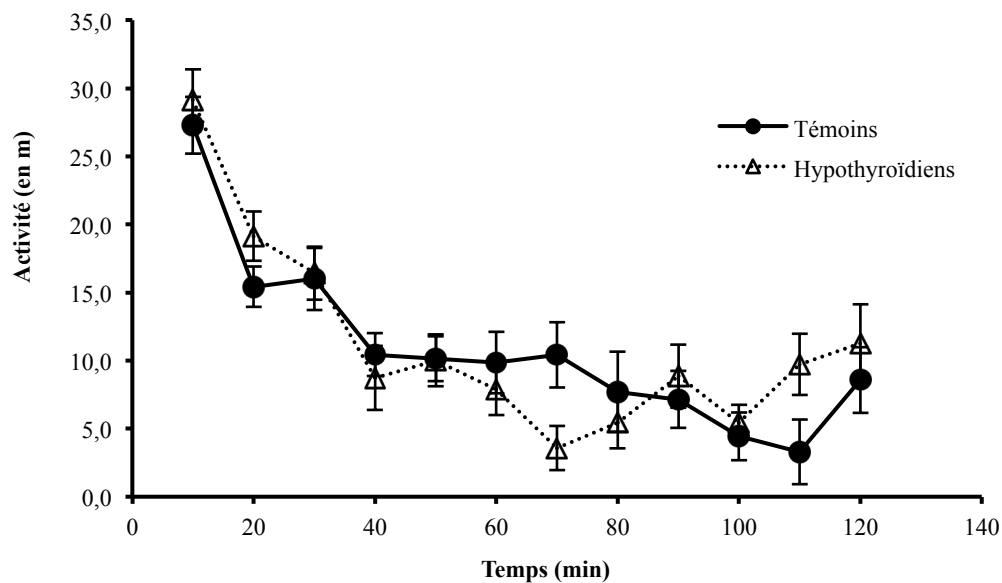


Figure 29 : Evolution de l'activité locomotrice des rats témoins (n=7) et hypothyroïdiens (n=7) soumis au test du cyclotron par tranche de 10 min sur une période de 120 min.

Aucune différence d'activité locomotrice globale n'a été observée entre les deux groupes suite aux 5 semaines de traitement (ANOVA mesures répétées, effet traitement : $F_{(11,132)} = 0.035$, $p = 0.85$). Les résultats font apparaître que l'activité locomotrice des animaux témoins et hypothyroïdiens diminue significativement au cours des 40 premières minutes, pour se stabiliser par la suite (ANOVA mesures répétées, effet temps : $F_{(11,132)} = 19.14$, $p < 0.0001$). Nous avons également réalisé une ANOVA mesures répétées sur la distance parcourue au cours du temps : aucune différence statistique n'a été mise en évidence concernant l'interaction traitement x temps ($F_{(11,132)} = 1.28$, $p = 0.24$). Ces résultats montrent donc que dans nos conditions expérimentales, les rats hypothyroïdiens ne présentent pas de déficits locomoteurs.

5.2. Effet de l'hypothyroïdie sur l'activité exploratoire dans l'open-field

L'activité locomotrice et exploratoire des animaux ayant reçus du PTU a été évaluée dans le test de l'open-field.

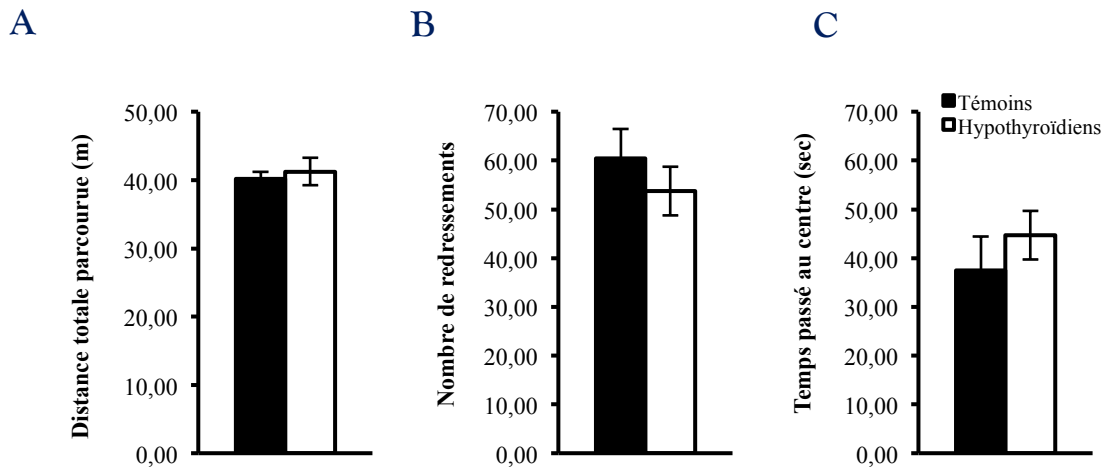


Figure 30 : Effet de 5 semaines de traitement PTU sur (A) l'activité locomotrice totale, (B) le nombre de redressement et (C) le temps passé dans la zone centrale dans le test de l'Open-field (n=10).

La figure 30-A représente la distance totale parcourue sur une période de 10 min dans l'open-field par les rats témoins et hypothyroïdiens : les analyses statistiques n'ont pas mis en évidence de différence significative entre les deux groupes d'animaux ($t=0.32$; $p=0.74$). Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus dans le test du cyclotron puisqu'ils ne mettent pas en évidence de déficits locomoteurs. Les mesures du temps passé au centre (figure 30-B) et du nombre de redressements (figure 30-C) n'ont également pas permis de différencier les deux groupes (respectivement, $t=0.77$; $p=0.45$ et $t=0.79$; $p=0.43$). L'ensemble de ces résultats révèle donc une activité exploratoire identique entre les deux groupes.

5.3. Effet de l'hypothyroïdie sur le comportement de type anxieux

Le comportement de type anxieux des animaux a été évalué dans le labyrinthe en croix surélevé.

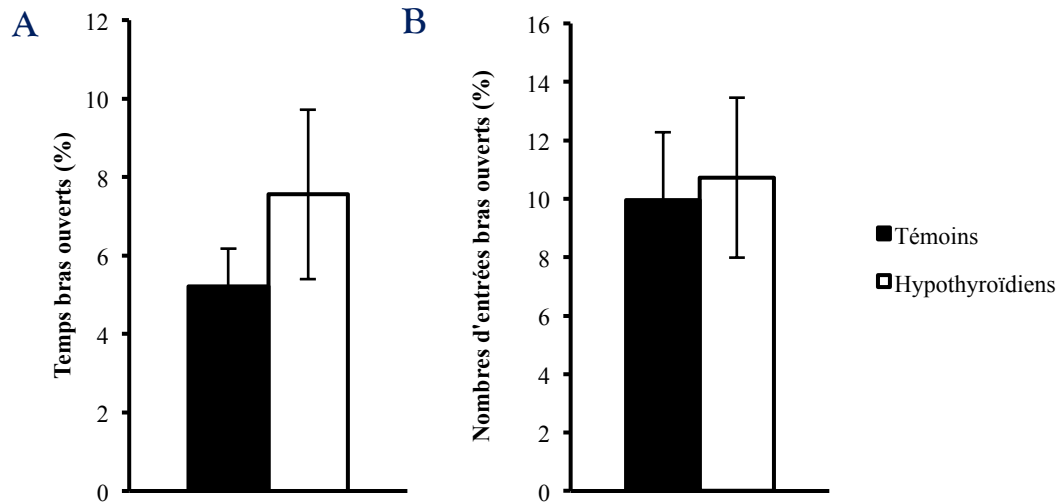


Figure 31 : Effet de 5 semaines de traitement PTU sur (A) le temps passé et (B) le nombre d'entrées dans les bras ouverts du labyrinthe en croix surélevé (n=7).

Aucune différence significative n'a été mise en évidence entre les deux groupes d'animaux concernant le temps passé dans les bras ouverts ($t=0.99$; $p=0.34$) ainsi que le nombre d'entrées dans ces mêmes bras ($t=0.21$; $p=0.83$) (figure 31). Ces résultats, en accord avec ceux obtenus dans l'open-field (temps passé au centre), montrent qu'une hypothyroïdie induite par un traitement de 5 semaines au PTU, ne conduit pas à un comportement de type anxieux.

5.4. Effet de l'hypothyroïdie sur l'apprentissage et la mémoire spatiale, évalués dans le labyrinthe aquatique de Morris

Afin d'analyser les effets de l'hypothyroïdie sur l'apprentissage et la mémoire spatiale, nous avons soumis les rats à une tâche d'apprentissage et de mémoire spatiale en piscine de Morris pendant 8 jours.

Avant de débiter l'analyse de l'apprentissage et la mémoire, nous avons dans un premier temps comparé la vitesse de nage des différents groupes afin d'écartier un éventuel biais. La figure 32 montre que les vitesses de nage ne diffèrent pas en fonction du traitement (ANOVA mesures répétées, effet traitement : $F_{(1,108)}=1.58$, $p=0.22$). Une augmentation de la vitesse de nage a été observée au cours du temps, pour tous les animaux (ANOVA mesures répétées, effet temps : $F_{(6,108)}=4.2$, $p<0.001$) et aucune interaction entre le traitement et le temps n'a été mise en évidence ($F_{(6,108)}=0.38$, $p=0.88$).

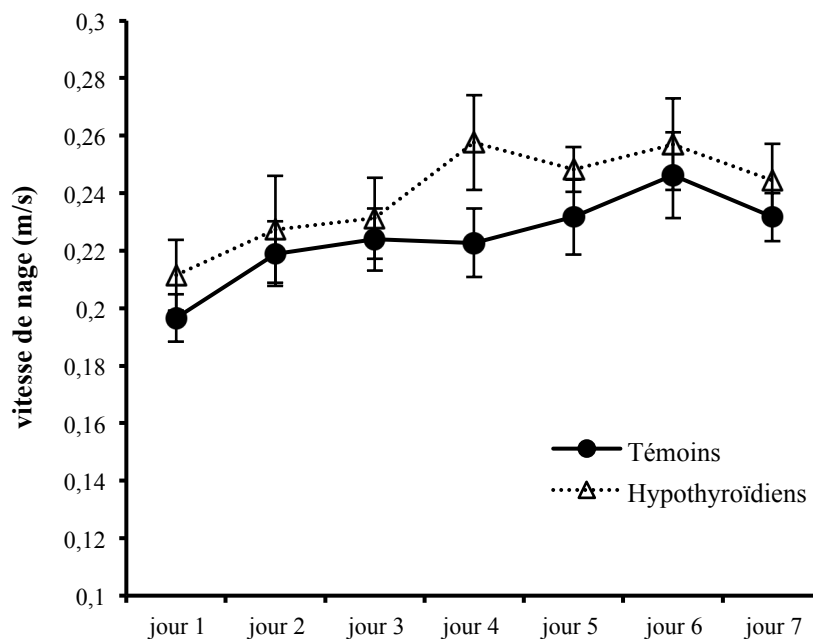


Figure 32 : Effet de 5 semaines de traitement PTU sur la vitesse de nage des rats (n=10) dans le labyrinthe aquatique de Morris.

5.4.1. Apprentissage spatial

La première phase du test consiste en un apprentissage de la localisation de la plateforme immergée. Durant cette phase de 7 jours, nous pouvons évaluer l'évolution de l'apprentissage en regardant la distance parcourue ou le temps mis pour atteindre la plateforme.

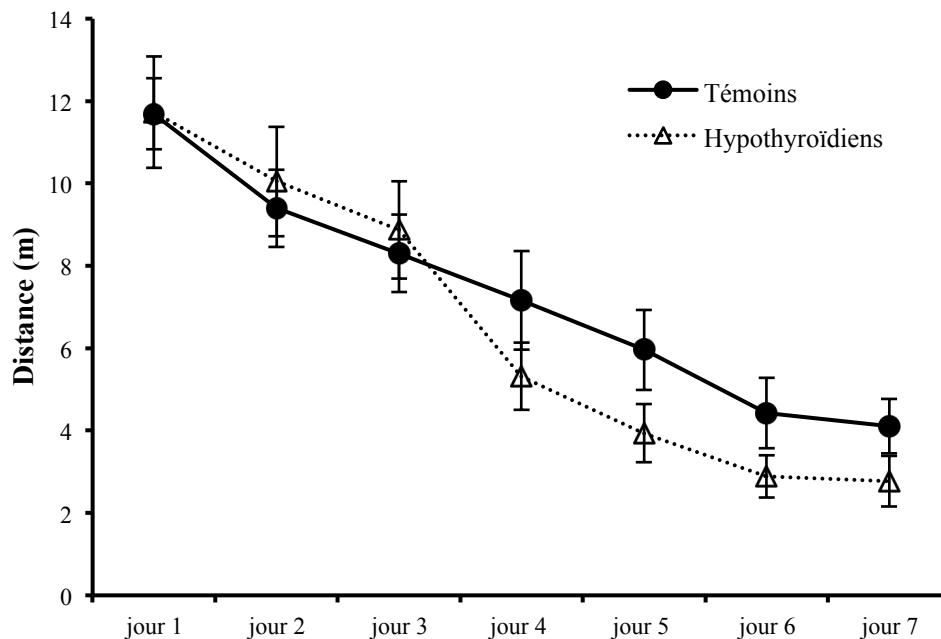


Figure 33 : Effet de 5 semaines de traitement PTU sur les capacités d'apprentissage spatial des rats (n=10) dans le labyrinthe aquatique de Morris.

Globalement, la distance parcourue pour atteindre la plateforme diminue pour les deux groupes d'animaux au cours de l'apprentissage (ANOVA mesures répétées, effet temps : $F_{(6,108)}=24.41$, $p<0.0001$). Enfin, aucun effet du traitement PTU n'a été mis en évidence sur la cinétique d'apprentissage de la tâche spatiale (ANOVA mesures répétées, interaction traitement x temps : $F_{(6,108)}=0.81$, $p=0.56$) (figure 33).

5.4.2. Mémoire spatiale

Dans le but d'évaluer la mémoire spatiale des animaux, la phase d'apprentissage s'est poursuivie par un test de rétention après un délai de 24 h. La figure 34 montre la distance parcourue (en pourcentage) par les animaux dans le quadrant cible ainsi que dans les autres quadrants de la piscine au cours de ce test de rétention.

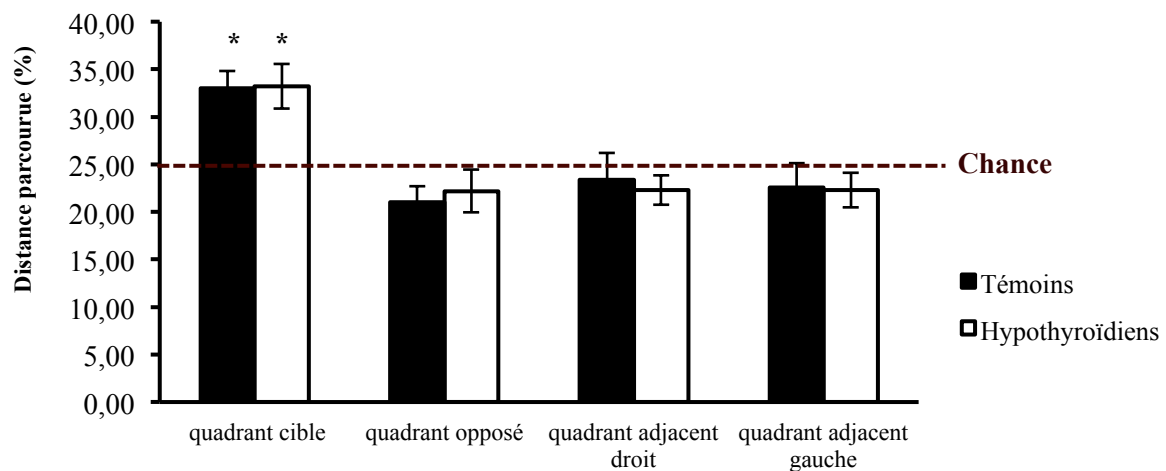


Figure 34 : Effet de 5 semaines de traitement PTU sur les performances mnésiques des animaux (n=10) évaluées dans le labyrinthe aquatique de Morris. * $p < 0.05$ comparativement à la chance (25%).

L'analyse de la distance parcourue dans chaque quadrant ne révèle aucune différence entre nos deux groupes. Les rats témoins et hypothyroïdiens parcourent significativement plus de 25% de leur distance totale dans le quadrant cible (respectivement, $t=4.38$; $p < 0.05$ et $t=3.49$; $p < 0.05$) ; la distance parcourue dans le quadrant cible est comparable pour les deux groupes d'animaux (Témoins : 3.93 ± 0.93 , Hypothyroïdiens : 5.46 ± 1.38 , $t=0.75$; $p=0.94$).

Les résultats concernant la latence d'entrée dans le quadrant cible ne révèlent aucune différence entre les rats témoins et hypothyroïdiens ($t=0.92$; $p=0.37$). Enfin, afin d'analyser la précision de recherche de la plateforme nous avons comptabilisé le nombre de passages sur l'emplacement de la plateforme (« crossing »). Ce dernier paramètre est également identique pour tous les animaux (Témoins : 1.90 ± 0.45 , Hypothyroïdiens : 2.5 ± 0.26 , $t=1.12$; $p=0.27$).

L'ensemble de ces données, met en évidence que l'hypothyroïdie générée par une administration de PTU pendant 5 semaines s'accompagne, dans l'hippocampe des rats, d'un ensemble de lésions spécifiques et associées à la MA. Ces résultats, complémentaires aux résultats montrant qu'un même traitement favoriserait la voie amyloïdogénique (Ghenimi et coll., 2010,) renforcent l'idée selon laquelle l'hypothyroïdie, pourrait être impliquée dans l'étiologie de la MA et contribuerait ainsi aux déficits cognitifs associés. Nos résultats mettent en évidence un effet du PTU sur la mémoire spatiale de travail.

Chapitre II : Effet d'une administration de T3 sur les altérations neuropathologiques et fonctionnelles associées à l'hypothyroïdie

1. Contexte et objectifs du travail

Dans le chapitre précédent nous avons montré que l'hypothyroïdie, induite par un traitement de 5 semaines au PTU, favorisait la mise en place de certaines lésions observées au cours de la MA. Nos résultats révèlent une hyperphosphorylation de Tau, ainsi qu'une augmentation de certains marqueurs d'inflammation dans l'hippocampe des animaux ayant reçu du PTU pendant 5 semaines. Au plan fonctionnel, une altération de la mémoire spatiale à court et long terme a été observée. Cette modification s'accompagne d'une hypoactivité des voies de signalisation (dont la voie sollicitant RC3) connues pour jouer un rôle clé dans les processus de mémorisation.

Dans ce contexte, il nous a alors paru important de tester, sur notre modèle expérimental, le potentiel de réversion par la T3, forme active des HT, sur l'ensemble des altérations moléculaires, biochimiques et fonctionnelles observées chez les animaux traités au PTU. L'effet de l'administration de T3 à des rats traités au PTU a été évalué sur les marqueurs pathologiques de la MA (phosphorylation de la protéine Tau, taux de peptides A β -42, neuroinflammation) et les dysfonctionnements qui y sont associés (plasticité synaptique, altérations mnésiques).

2. Méthodologie

L'hypothyroïdie a été mise en place chez des rats mâles Wistar âgés de 8 semaines, selon le protocole décrit dans le chapitre II. Après 5 semaines de traitement PTU, une partie des rats hypothyroïdiens a reçu, par injections intra-péritonéales, 150 μ g/kg de T3 quotidiennement pendant 4 jours avant d'être sacrifié ou avant le début des tests comportementaux. Les injections se sont poursuivies pendant toute la durée des tests comportementaux. L'ensemble des expériences a été réalisé sur trois groupes d'animaux : témoins, hypothyroïdiens, hypothyroïdiens administrés par la T3 (hypo+T3). Une partie des rats témoins et hypothyroïdiens a également été injectée par la solution de dissolution de la T3.

Nous avons mesuré, chez ces animaux, les formes phosphorylées de tau ainsi que les marqueurs d'inflammation et des voies de signalisation dont l'expression a été modifiée par le traitement PTU. Une quantification du taux de peptides A β -42 au niveau de l'hippocampe a également été réalisée. Les outils de biologie moléculaire (qPCR), de biochimie (Western Blot, Elisa) et de comportement (plus-Maze, RAWM) décrits précédemment ont été mis en œuvre dans ce travail. Enfin, le comportement de type anxieux ainsi que la mémoire spatiale ont été étudiés chez ces animaux. Afin de mieux caractériser le profil mnésique des animaux hypothyroïdiens et d'étudier l'effet de la restauration par la T3, les animaux ont également été soumis à un autre test de mémoire spatiale : le Y-Maze.

3. Résultats

3.1. Le modèle

La croissance pondérale de l'ensemble des animaux a été suivie pendant toute la durée du traitement (figure 35). Une ANOVA mesures répétées a permis de révéler un effet du traitement sur la croissance pondérale des animaux ($F_{(2,325)} = 148.72$; $p < 0.0001$) : les analyses post hoc ont mis en évidence, comme précédemment, un effet du traitement PTU sur la croissance pondérale des animaux ($p < 0.0001$). En revanche, l'administration de T3 n'a aucun effet sur le poids des animaux.

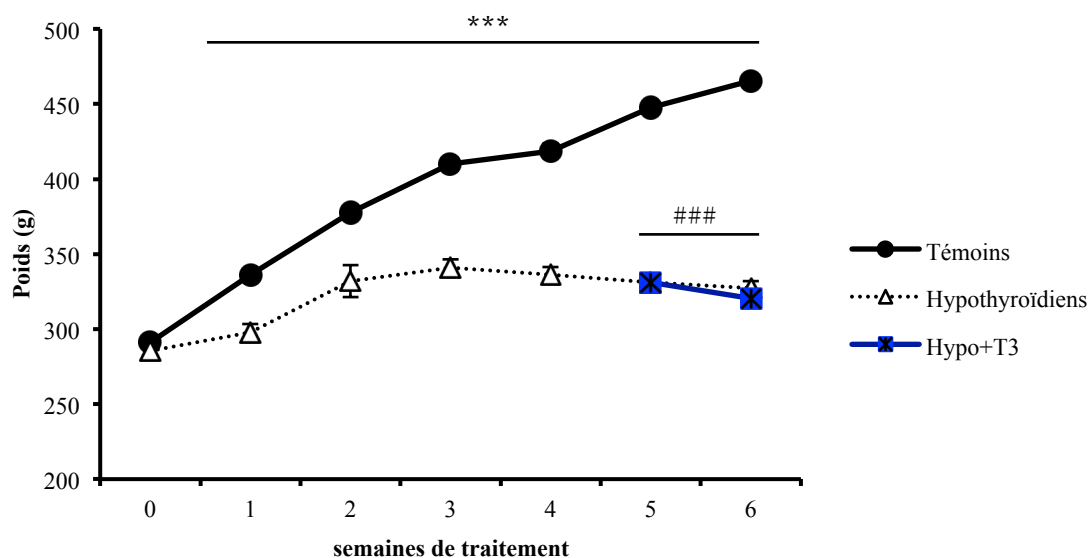


Figure 35 : Effet du traitement sur la croissance pondérale des animaux (n=12). *** $p < 0,0001$ différence significative des rats hypothyroïdiens vs témoins, ### $p < 0,0001$ différence significative des rats témoins vs hypo+T3.

Une diminution de 49% du taux de T3 sérique, a été observée chez les rats traités au PTU, comparé aux rats témoins ($t=0.34$; $p<0.0001$). L'administration de T3 pendant 4 jours augmente de façon très significative le taux sérique de T3 (hypo+T3 vs Hypothyroïdiens : $t=2.85$; $p<0.0001$) (tableau V).

Tableau V : Effet du statut thyroïdien sur les taux de T3 sérique.

	Témoins	Hypothyroïdiens	Hypo + T3
Concentration T3 sérique (ng/ml)	0.69 ±0.02	0.35 ± 0.05***	3.54 ± 0.35*** ###

Les valeurs correspondent à la moyenne ± SEM obtenues sur $n = 10$ animaux par groupe. *** $P<0.0001$ différence significative comparée aux rats témoins, ### $p<0.0001$ différence significative comparée aux rats hypothyroïdiens.

Nous avons également évalué le taux d'ARNm codant pour les récepteurs $TR\alpha$ et $TR\beta$, dont l'expression est régulée par leur propre ligand. L'hypothyroïdie entraîne une diminution de l'expression de $TR\alpha$ et $TR\beta$ respectivement de 32% et 25% ($p<0.05$). Le traitement par la T3 permet de restaurer le taux d'ARNm codant pour $TR\alpha$ à un niveau comparable à celui des rats témoins (*post hoc* hypo+T3 vs témoins : $p=NS$). En revanche, ce même traitement ne permet pas de restaurer celui de $TR\beta$ (*post hoc* hypo+T3 vs hypothyroïdiens : $p=0.57$).

Les résultats font également apparaitre que l'administration de T3 permet de restaurer le taux d'ARNm codant pour RC3 à un niveau comparable à celui des témoins ($p<0.05$) (figure 36).

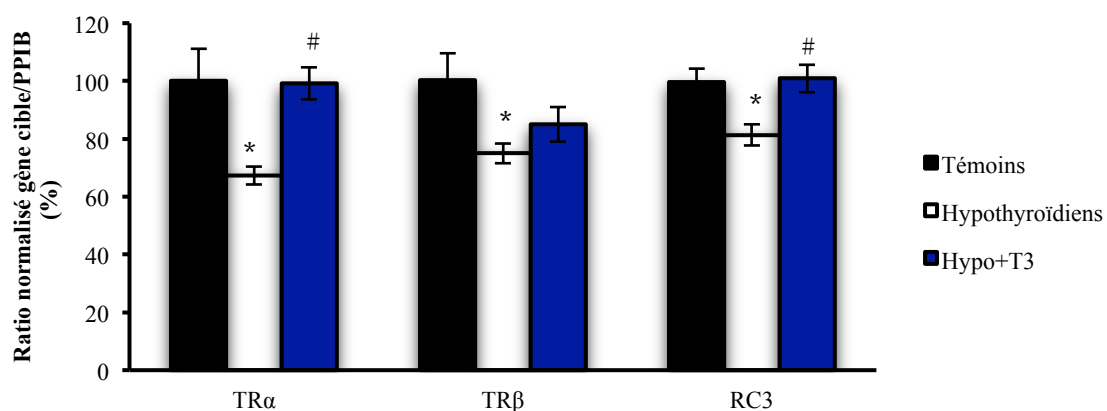


Figure 36 : Effet du statut thyroïdien sur les taux d'ARNm codant pour $TR\alpha$, $TR\beta$ et RC3 ($n=6$). Les résultats sont présentés en pourcentage par rapport aux rats témoins. * $p<0.05$ différence significative comparée aux rats témoins, # $p<0.05$ différence significative comparée aux rats hypothyroïdiens.

L'ensemble de ces résultats met en évidence qu'une administration de T3 pendant 4 jours permet de restaurer l'hypothyroïdie systémique et tissulaire associée au traitement PTU. Dans l'hippocampe, ce traitement permet effectivement de restaurer les taux d'ARNm codant pour RC3, protéine considérée comme un très bon indicateur du statut thyroïdien cellulaire, à un niveau comparable à celui des témoins.

3.2. Effet du statut thyroïdien sur la voie amyloïdogénique

Aucune modification significative des taux d'ARNm codant pour les protéines APP770-751 n'a été observée dans l'hippocampe des rats, en réponse à la modification du statut thyroïdien (ANOVA : $F_{(2,15)} = 2.956$; $p=NS$). En revanche, une modification du statut thyroïdien s'accompagne d'une modulation du taux d'ARNm codant pour APP695 (ANOVA : $F_{(2,15)} = 6.22$; $p<0.05$). En effet, l'hypothyroïdie entraîne une augmentation du taux d'ARNm codant pour APP695 (témoins : 0.93 ± 0.09 , hypothyroïdiens : 1.12 ± 0.12 ; *post hoc* hypothyroïdiens vs témoins : $p<0.05$), qui est reversée par l'administration de T3 (hypo+T3 : 0.95 ± 0.07 ; *post hoc* hypo+T3 vs hypothyroïdiens : $p<0.05$, *post hoc* hypo+T3 vs témoins : $p=NS$).

Les résultats ont également mis en évidence, dans l'hippocampe des animaux, un effet du traitement sur le taux de peptides A β -42 (ANOVA : $F_{(2,30)} = 29.97$; $p<0.0001$). L'analyse *post hoc* montre une augmentation significative des taux de peptides A β -42 chez les rats hypothyroïdiens comparés aux témoins (+23%, $p<0.001$). L'administration de T3 diminue de manière significative le taux d'A β -42 (hypo+T3 vs hypothyroïdiens : $p<0.0001$) (tableau VI).

Tableau VI : Effet du statut thyroïdien sur le taux de peptides A β -42 dans l'hippocampe.

	Témoins	Hypothyroïdiens	Hypo + T3
A β -42	0.71 ± 0.06	$0.88 \pm 0.10^{***}$	$0.61 \pm 0.10^{*###}$

*Les valeurs, rapportées à la quantité de protéines totales, correspondent à la moyenne \pm SEM obtenues sur $n = 11$ animaux par groupe. * $p<0.05$, *** $p<0.001$ différence significative comparée aux témoins, ### $p<0.001$ différence significative comparée aux hypothyroïdiens.*

Ces résultats confirment et renforcent les données obtenues par Ghenimi et coll. (2010) montrant une augmentation du taux de peptides A β -42 dans l'hippocampe des animaux traités par le PTU. Nous montrons ici qu'un traitement par la T3 pendant 4 jours, chez ces mêmes rats, permet de réduire les taux de peptides A β -42 dans l'hippocampe.

3.3. Effet du traitement sur l'hyperphosphorylation de Tau

Les résultats présentés ici sont des données préliminaires (témoins : n=2 ; hypothyroïdiens : n=6 ; hypo+T3 : n=6). Ces premiers résultats mettent en évidence un effet significatif du traitement sur l'état de phosphorylation de Tau au niveau de la Ser404 (ANOVA : $F_{(2,11)} = 7.36$; $p < 0.01$) mais pas au niveau de la Ser396 (ANOVA : $F_{(2,11)} = 2.49$; $p = \text{NS}$). L'hypothyroïdie s'accompagne d'une augmentation de la phosphorylation de Tau au niveau de la Ser404 (*post hoc* hypothyroïdiens vs témoins: $p < 0.05$) ; cet effet n'est pas restauré par la T3 (*post hoc* hypo+T3 vs hypothyroïdiens : $p = \text{NS}$) (figure 37).

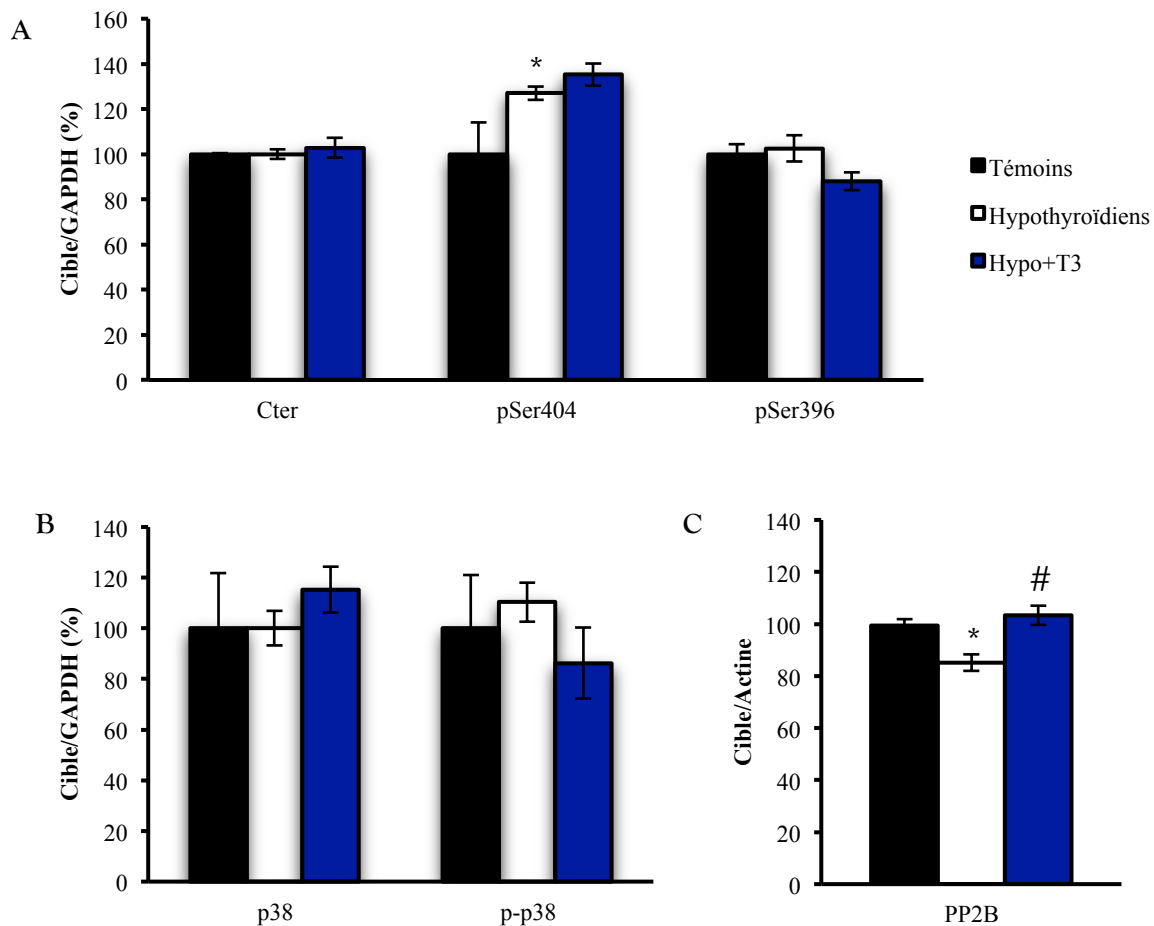


Figure 37 : Effet du statut thyroïdien sur (A) l'état de phosphorylation de la protéine Tau, (B) l'expression et l'activation de la kinase p38-MAPK, (C) l'expression protéique de la phosphatase PP2B. Les résultats sont présentés en pourcentage par rapport aux rats témoins. * $p < 0.05$, différence significative comparée aux rats témoins ; # $p < 0.05$, différence significative comparée aux rats hypothyroïdiens.

Nous avons également évalué les effets de l'hypothyroïdie sur l'expression et l'activation de la kinase p38-MAPK et sur l'expression la phosphatase PP2B. Ces données préliminaires ne révèlent aucun effet du traitement sur l'expression et l'activation de la kinase p38-MAPK (respectivement ANOVA : $F_{(2,11)} = 0.91$; $p=NS$; $F_{(2,11)} = 1.12$; $p=NS$). En revanche, le statut thyroïdien module l'expression de PP2B (ANOVA : $F_{(2,15)} = 2.21$; $p<0.01$). L'hypothyroïdie est associée à une réduction significative de l'expression PP2B (*post hoc* témoins vs hypothyroïdiens : $p<0.05$) et le traitement par la T3 permet de restaurer les niveaux d'expression de la phosphatase (*post hoc* hypo+T3 vs hypothyroïdiens : $p<0.01$; témoins vs hypo+T3 : $p=NS$) (figure 37).

Les résultats présentés ci-dessus sont des données préliminaires effectués sur un nombre réduit d'animaux témoins (n=2). Cela pourrait expliquer pourquoi nous ne retrouvons pas l'effet de l'hypothyroïdie sur la phosphorylation de Tau, mais également sur l'expression et l'activation de la kinase p38-MAPK. Il semble cependant que le traitement par la T3 ne permette pas de moduler l'état de phosphorylation de la protéine Tau. Des analyses complémentaires sont en cours.

3.4. Effet du statut thyroïdien sur la neuroinflammation

La quantification de l'expression des marqueurs de la réponse inflammatoire a révélé une modulation de cette dernière en fonction du statut thyroïdien (figure 38 et 39). Nous avons effectivement observé un effet du traitement sur l'expression des ARNm codant pour IL1 β ($F_{(2,15)} = 6.41$; $p<0.01$), IL6 ($F_{(2,15)} = 13.00$; $p<0.001$) et TNF α ($F_{(2,15)} = 7.42$; $p<0.01$) ainsi que sur les taux protéiques d'IL1 β ($F_{(2,15)} = 9.46$; $p<0.01$) et de CRP ($F_{(2,15)} = 23.04$; $p<0.0001$) dans l'hippocampe des rats. Les tests *post hoc* montrent une hypoexpression des ARNm codant pour IL1 β ($p<0.01$), IL6 ($p<0.001$) et TNF α ($p<0.01$) ainsi qu'une diminution du taux des protéines IL1 β ($p<0.05$) et CRP ($p<0.01$) chez les rats hypothyroïdiens. Le traitement par la T3 permet une restauration du taux d'ARNm codant pour IL6 ($p<0.05$), TNF α ($p<0.05$), et du taux protéique de IL1 β ($p<0.01$) et CRP ($p<0.0001$). En revanche, nos résultats n'ont pas permis de mettre en évidence un effet du traitement par la T3 sur le taux d'ARNm codant pour IL1 β ($p=0.32$).

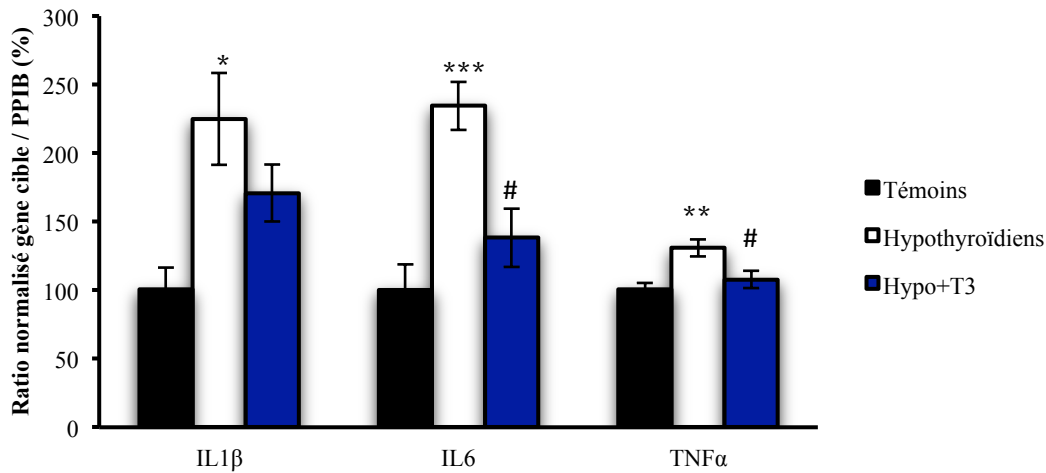


Figure 38 : Effet du statut thyroïdien sur les niveaux d'expression des ARNm codant pour des marqueurs d'inflammation. Les résultats sont présentés en pourcentage par rapport aux rats témoins (n=6). *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001 différence significative comparée aux rats témoins ; #p<0.05 différence significative comparée aux rats hypothyroïdiens.

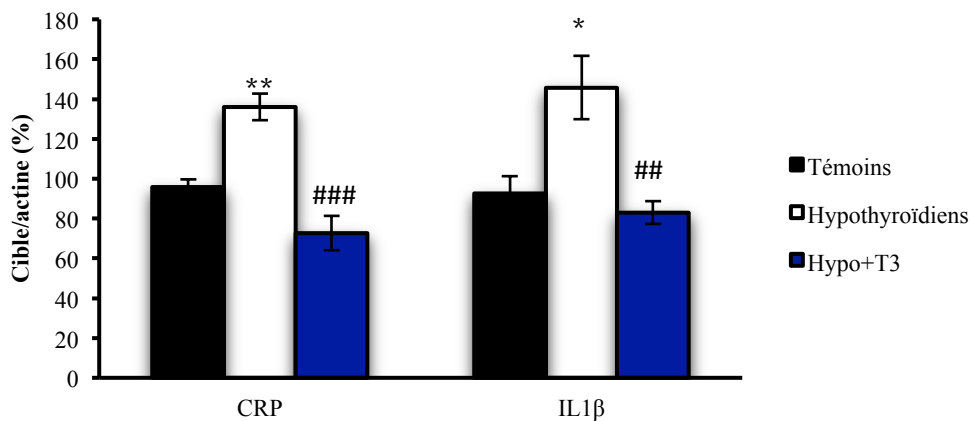


Figure 39 : Effet du statut thyroïdien sur l'expression protéique des marqueurs d'inflammation. Les résultats sont présentés en pourcentage par rapport aux rats témoins (n=6). *p<0.05, **p<0.01 différence significative comparée aux rats témoins ; ##p<0.01, ###p<0.001 différence significative comparée aux rats hypothyroïdiens.

L'hypothyroïdie s'accompagne, dans notre modèle expérimental, d'une augmentation de certains marqueurs pro-inflammatoires. L'administration de T3 permet de normaliser les niveaux de la plupart d'entre eux.

3.5. Effet du statut thyroïdien sur la voie calcique et la voie ERK-MAPK

Concernant la voie calcique, une ANOVA globale a permis de mettre en évidence un effet du statut thyroïdien sur l'expression protéique de RC3 ($F_{(2,15)} = 25.15$; $p < 0.0001$), CaM ($F_{(2,15)} = 7.26$; $p < 0.01$), et CaMKIV ($F_{(2,15)} = 4.93$; $p < 0.05$), ainsi que sur les formes phosphorylées de RC3 ($F_{(2,15)} = 116.25$; $p < 0.0001$) et CaMKII ($F_{(2,15)} = 5.77$; $p < 0.05$). En revanche, l'expression de la forme totale de CaMKII n'est pas modifiée dans nos conditions ($F_{(2,15)} = 1.46$; $p = 0.26$). Les analyses *post hoc* ont permis de confirmer les résultats de l'hypothyroïdie précédemment décrit (*Chaalal et coll., 2014*) caractéristiques d'une hypoactivité de la voie calcique chez les rats ayant reçu du PTU. L'administration de T3 permet de restaurer la plupart des indicateurs de la voie calcique. En effet, les résultats mettent en évidence une augmentation des niveaux protéiques de RC3 (*post hoc* hypo+T3 vs hypothyroïdiens : $P < 0.001$), p-RC3 (*post hoc* hypo+T3 vs hypothyroïdiens : $p < 0.0001$; témoins vs hypo+T3 : $p < 0.0001$), CaM (*post hoc* hypo+T3 vs hypothyroïdiens : $p < 0.05$; témoins vs hypo+T3 : $p = 0.98$), et p-CaMKII (*post hoc* hypo+T3 vs hypothyroïdiens : $p < 0.05$; hypo+T3 vs témoins : $p > 0.99$). En revanche, le traitement par la T3 augmente le taux protéique de CaMKIV de 25% sans toutefois le normaliser (*post hoc* hypo+T3 vs hypothyroïdiens : $p = 0.13$; hypo+T3 vs témoins : $p = 0.64$) (figure 40).

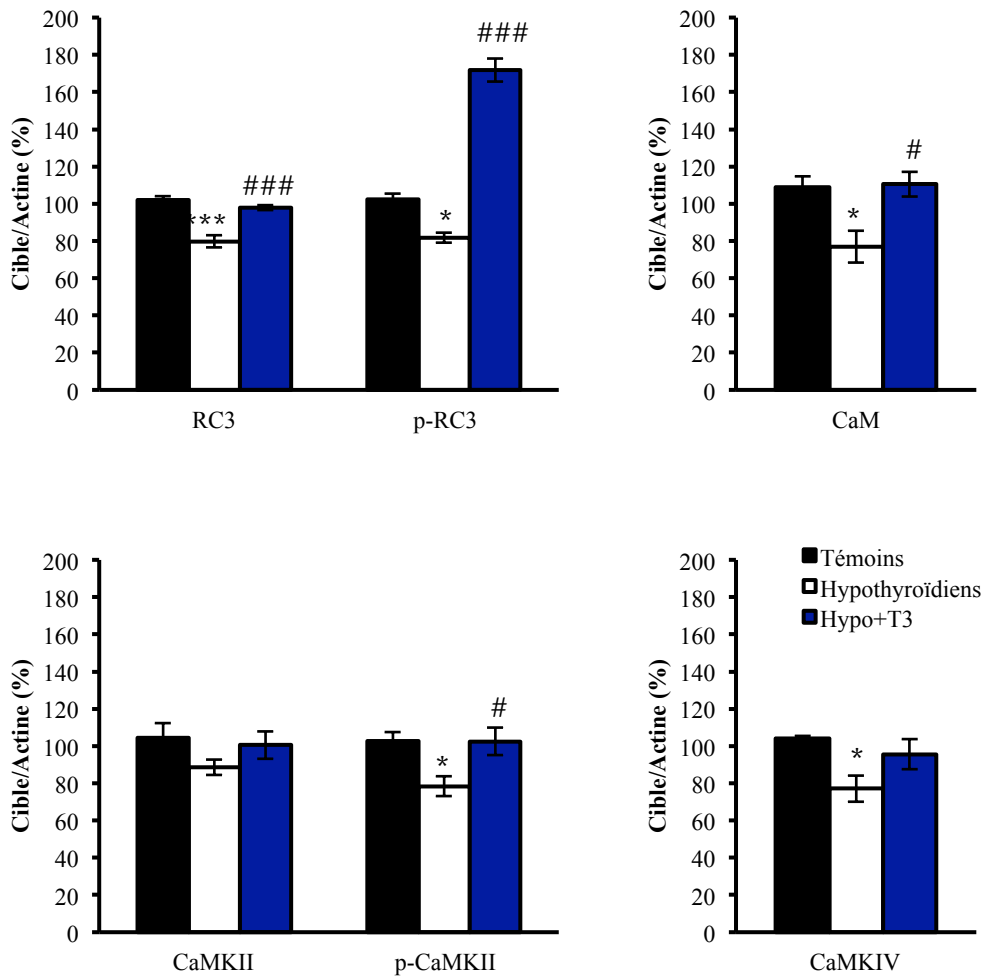


Figure 40 : Effet du statut thyroïdien sur le taux protéique de certains indicateurs de la voie calcique (n=6). *p<0.05, ***p<0.001 différence significative comparée aux rats témoins. Les résultats sont présentés en pourcentage par rapport aux rats témoins. #p<0.05, ###p<0.001 différence significative comparée aux rats hypothyroïdiens.

Les analyses relatives à la voie ERK-MAPK mettent en évidence un effet du statut thyroïdien sur l'expression protéique des formes totales ($F_{(2,15)} = 4.58$; $p < 0.05$) et phosphorylées ($F_{(2,15)} = 14.84$; $p < 0.001$) de ERK42. Le statut thyroïdien module également l'expression de la forme totale de la kinase ERK44 ($F_{(2,15)} = 6.23$; $p < 0.05$) sans affecter sa forme phosphorylée ($F_{(2,15)} = 2.72$; $p = 0.09$).

Concernant l'expression de la protéine CREB, celle-ci n'est pas modifiée en fonction du traitement ($F_{(2,15)} = 0.63$; $p = 0.54$) ; en revanche on peut noter un effet du statut thyroïdien sur l'expression de p-CREB ($F_{(2,15)} = 10.42$; $p < 0.01$).

Enfin, l'analyse des niveaux d'expression d'EGR1 a mis en évidence un net effet du statut thyroïdien ($F_{(2,15)} = 9.76$; $p < 0.01$).

Les analyses *post hoc* ont permis de conforter les résultats obtenus dans la première partie du travail (Chaalal et coll., 2014). Ils mettent à nouveau en évidence une baisse d'activité de la voie ERK-MAPK chez les rats hypothyroïdiens (figure 41).

L'administration de T3 a permis de restaurer au niveau de l'hippocampe les niveaux d'expression de p-ERK42 (*post hoc* hypo+T3 vs hypothyroïdiens : $p < 0.001$; témoins vs hypo+T3 : $p = 0.06$), p-CREB (*post hoc* hypo+T3 vs hypothyroïdiens : $p < 0.05$; hypo+T3 vs témoins : $p = 0.57$), et d'EGR1 (*post hoc* hypo+T3 vs hypothyroïdiens : $p < 0.05$; hypo+T3 vs témoins : $p = 0.77$). Ce traitement induit également une diminution de l'expression des formes totales de ERK42 ($p < 0.05$) et ERK44 ($p < 0.05$).

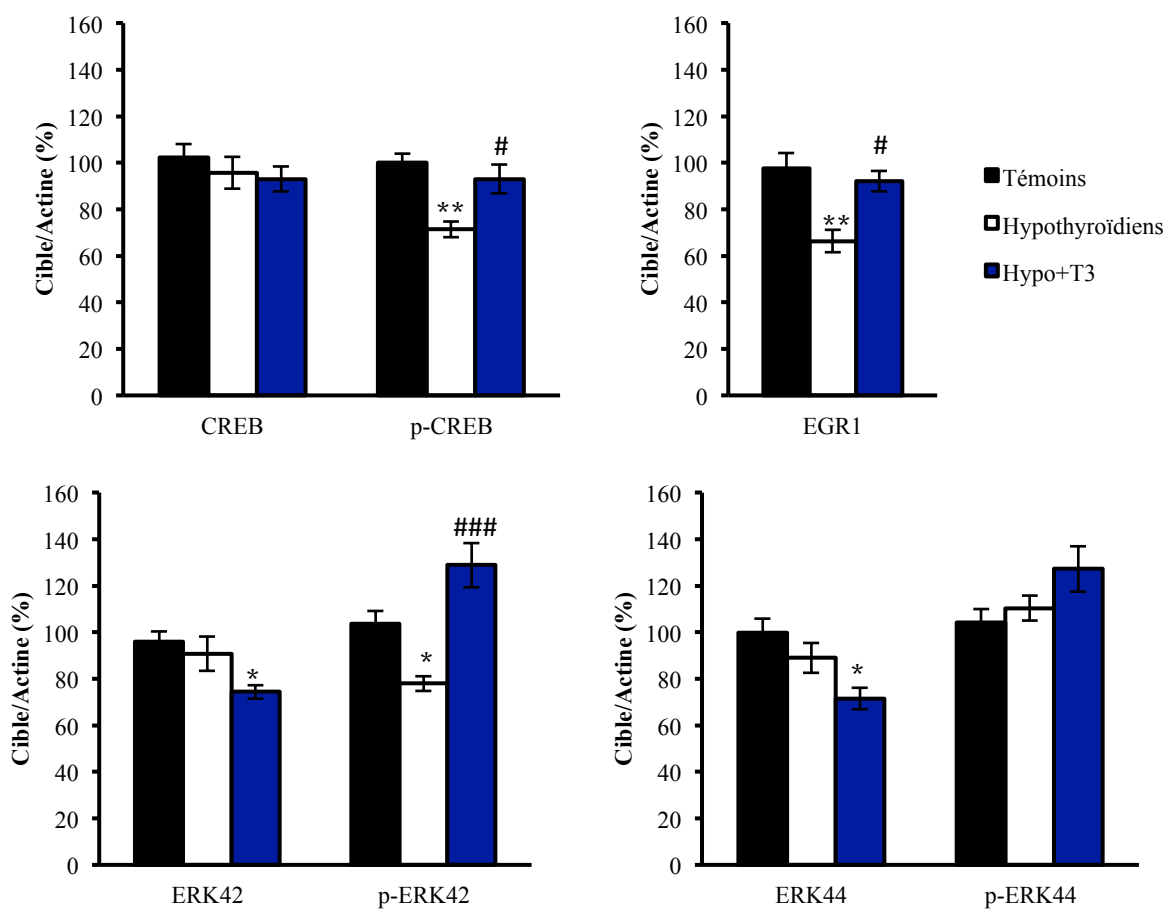


Figure 41 : Effet du statut thyroïdien sur le taux protéique de certains indicateurs de la voie ERK-MAPK évalués par western-blot. Les résultats sont présentés en pourcentage par rapport aux rats témoins (n=6). * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ différence significative comparée aux rats témoins. # $p < 0.05$, ### $p < 0.001$ différence significative comparée aux rats hypothyroïdiens.

L'hypoexpression des marqueurs des voies de signalisation observée chez les rats traités au PTU est restaurée par l'administration de T3.

3.6. Effet du statut thyroïdien sur le comportement de type anxieux évalué dans le plus-maze

L'analyse des résultats obtenus dans le labyrinthe en croix surélevé n'a pas mis en évidence de différences significatives sur le temps passé dans les bras ouverts ($F_{(2,15)} = 0.71$; $p=0.50$) et le nombre d'entrées dans ces mêmes bras ($F_{(2,15)} = 1.19$; $p=0.32$) entre les trois groupes d'animaux (figure 42).

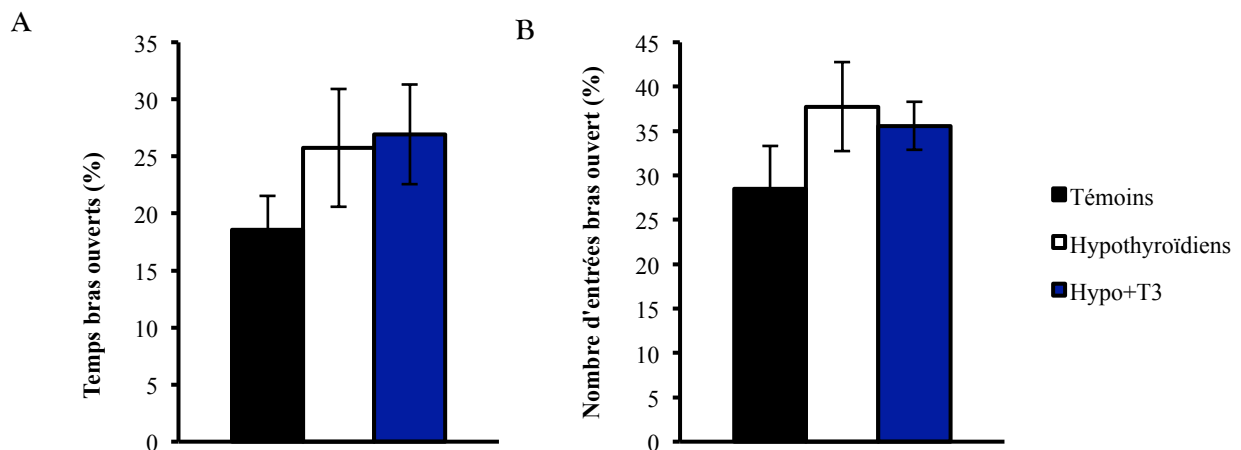


Figure 42 : Effet du statut thyroïdien sur le A) le pourcentage de temps passé dans les bras ouverts, B) le nombre d'entrées dans les bras ouverts du labyrinthe en croix surélevé (n= 6).

Ces résultats montrent que les traitements que nous avons administrés aux animaux (PTU, injection de T3) n'ont eu aucune incidence sur le comportement de type anxieux des animaux.

3.7. Effet du statut thyroïdien sur la mémoire spatiale

5.7.1. Labyrinthe radial aquatique (RAWM)

Les résultats obtenus dans le test du RAWM (figure 43) mettent en évidence que, durant les 4 premiers jours du test, tous les animaux apprennent à localiser la plateforme de manière similaire (ANOVA mesures répétées, effet traitement : $F_{(2,81)} = 1.65$; $p = 0.21$) : les données obtenues lors de la phase d'acquisition révèlent une diminution du nombre d'erreurs commises entre les essais 1 et 4 (ANOVA mesures répétées, effet essai : $F_{(2,81)} = 28.94$; $p < 0.0001$). Lors de la phase de rétention, aucune différence de performance n'a été mise en évidence entre les différents groupes d'animaux ($p = \text{NS}$).

Durant les jours 5 à 9, les résultats font apparaître un effet du statut thyroïdien sur le nombre d'erreurs à l'essai 2 ($F_{(2,27)} = 8.12$; $p < 0.01$). En effet, le groupe des rats hypothyroïdiens présente un retard d'apprentissage, caractérisé par un nombre d'erreurs plus important lors de l'essai 2 (*post hoc* hypothyroïdiens vs témoins : $p < 0.001$). Ce retard semble compensé par l'administration de T3 puisque les animaux ayant reçu des injections de T3 ont des performances supérieures à celles des rats hypothyroïdiens (*post hoc* hypo+T3 vs hypothyroïdiens : $p < 0.05$) et comparables à celles du groupe témoin (*post hoc* témoins vs hypo+T3 : $p = 0.51$). Les tests de rétention mettent en évidence un effet du statut thyroïdien à 15 min ($F_{(2,27)} = 5.28$; $p < 0.05$), 5 h ($F_{(2,27)} = 5.43$; $p < 0.05$) et 24 h : $F_{(2,27)} = 11.76$; $p < 0.001$). Les rats hypothyroïdiens présentent des déficits de mémoire à court et à long terme (*post hoc* hypothyroïdiens vs témoins : 15min: $p < 0.01$; 5h: $p < 0.01$; 24h: $p < 0.0001$) et ces déficits sont reversés par le traitement à la T3 (*post hoc* hypo+T3 vs hypothyroïdiens : 15min: $p < 0.05$; 5h: $p < 0.05$; 24h: $p < 0.01$).

Enfin, durant les deux derniers jours du test, les performances de tous les animaux sont comparables durant les phases d'acquisition ($p = \text{NS}$). Les analyses des performances obtenues au cours de la phase de rétention montrent que les déficits de mémoire sont toujours présents au cours de la rétention à 5 h ($F_{(2,27)} = 4.72$; $p < 0.05$) et qu'une tendance persiste à 24h ($F_{(2,27)} = 2.94$; $p = 0.06$).

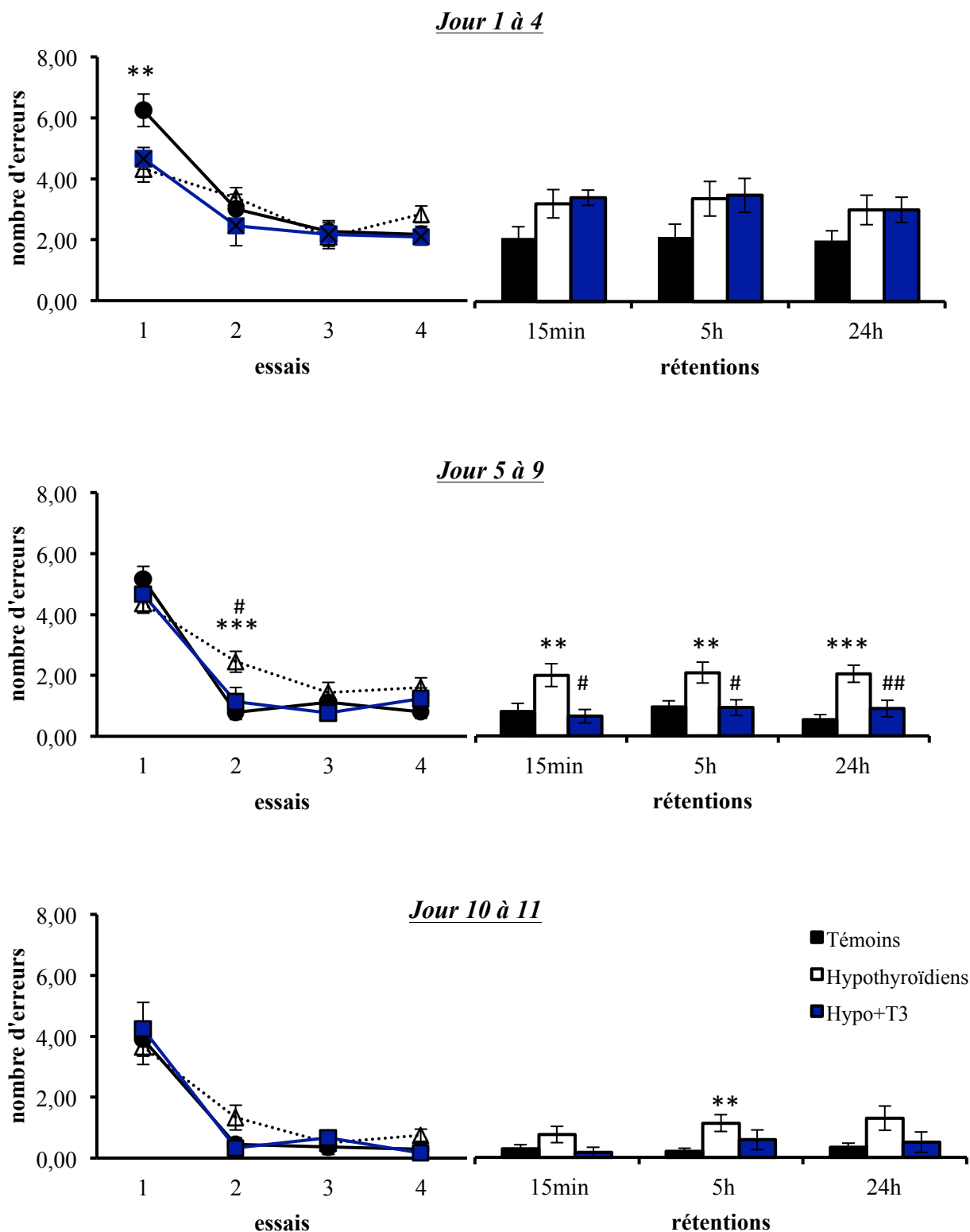


Figure 43 : Effet du statut thyroïdien sur l'apprentissage et la mémoire spatiale dans le RAWM. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ différence significative entre les rats témoins ($n=12$) et hypothyroïdiens ($n=12$). # $p < 0.05$, ## $p < 0.01$ différence significative entre les rats hypothyroïdiens et hypo+T3 ($n=6$).

Concernant le nombre de jours nécessaire pour atteindre le critère d'apprentissage et de mémoire (DTC, figure 44), les résultats obtenus révèlent un effet du statut thyroïdien sur l'essai 2 ($F_{(2,15)}=8.79$; $p<0.01$) ainsi que sur les rétentions à 15 min ($F_{(2,27)}=9.14$; $p<0.01$) et 24h ($F_{(2,27)}=8.81$; $p<0.01$). En effet, les animaux hypothyroïdiens ont besoin de plus de jours pour atteindre le critère à l'essai 2 lors de la phase d'apprentissage (*post hoc* : $p < 0.01$) ; cet effet ne semble pas être complètement reversé par l'administration de T3 (*post hoc* : hypo+T3 vs hypothyroïdiens : $p=0.31$; hypo+T3 vs témoins : $p=0.06$). Concernant les tests de mémoire, les rats hypothyroïdiens atteignent le critère plus tard que les rats témoins aux rétentions 15 min ($p<0.01$) et 24h ($p<0.01$). Le traitement par la T3 permet de compenser les performances mnésiques à 15 min (*post hoc* : $p<0.05$) mais est sans effet sur les déficits observés à 24h (*post hoc* hypo+T3 vs hypothyroïdiens : $p = 0.52$; hypo+T3 vs témoins : $p<0.05$).

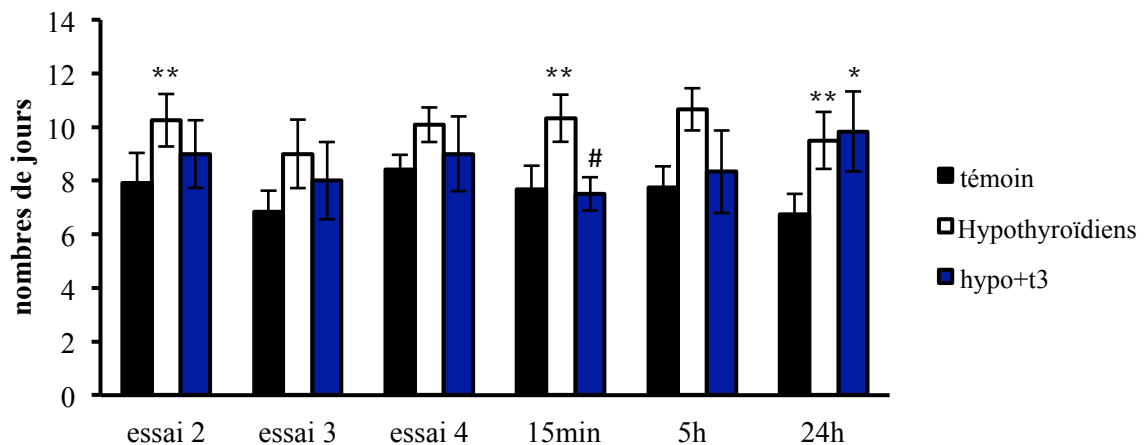


Figure 44 : Effet du statut thyroïdien sur le DTC. Le DTC représente le nombre de jours pour atteindre le critère : moins d'une erreur à chaque essai et chaque tests de rétention pendant 3 jours consécutifs. * $p<0.05$, ** $p<0.01$, différence significative comparée aux rats témoins. # $p<0.05$, # $p<0.05$ différence significative comparée aux rats hypothyroïdiens.

5.7.2. Labyrinthe en Y (Y-maze)

Nous avons également testé les performances des 3 groupes d'animaux dans le test du labyrinthe en Y. Les résultats obtenus lors de la rétention à 4h (figure 45) font apparaître que le pourcentage de premières visites dans le nouveau bras est statistiquement différent de la chance pour les animaux témoins ($t=2.96$; $p<0.05$) contrairement aux deux autres groupes (hypothyroïdiens : $t=0.56$; $p=0.58$; hypo+T3 : $t=1.61$, $p=0.13$). En effet, 83.3% des rats témoins alternent en visitant d'abord le nouveau bras, alors que seulement 16.7% d'entre eux se dirigent spontanément vers le bras familier ($t=2.96$; $p<0.05$). Les rats hypothyroïdiens, quant à eux se dirigent indifféremment vers le bras nouveau (41.6%) et le bras familier (58.33%) ($t=0.56$; $p=0.58$). Enfin, les rats administrés par la T3 présentent un profil de réponses comparable à celui des rats témoins puisqu'une majorité de rats (72.7%) se dirigent spontanément vers le nouveau bras. Il faut cependant noter qu'au plan statistique, cet effet n'est pas significatif (groupe hypo+T3, bras nouveau vs bras familier : $t=1.61$, $p=0.13$).

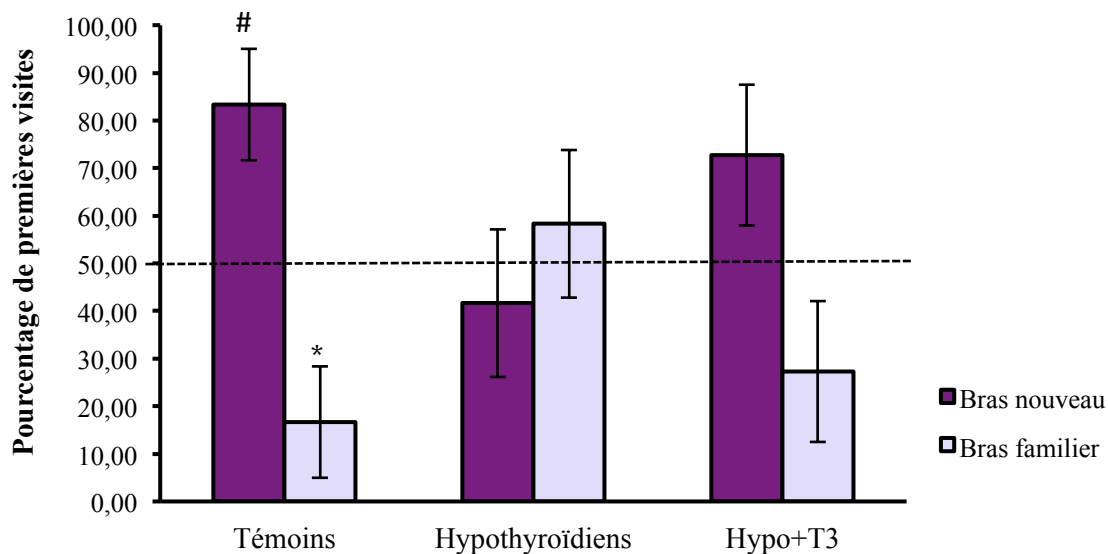


Figure 45 : Effet du statut thyroïdien sur le pourcentage de premières visites effectuées dans chaque bras lors de la rétention à 4h (n=12). * $p<0.05$ différence significative comparée au bras nouveau. # $p<0.05$ différence significative comparée à la chance.

Les résultats obtenus lors d'une rétention à long terme (figure 46) montrent que les rats témoins se dirigent majoritairement (83.33%) vers le nouveau bras lors de leur première visite ($t=2.96$, $p<0.05$) alors que les rats hypothyroïdiens et les rats traités à la T3 visitent aléatoirement les deux bras (respectivement, $t=0.00$, $p=NS$; $t=0.28$, $p=0.77$). Le pourcentage de premières visites dans le bras nouveau de ces deux derniers groupes n'est pas différent de

la chance (respectivement, $t=0.00$, $p=NS$; $t=0.28$, $p=0.77$), contrairement à celui des rats témoins ($t=2.96$, $p<0.05$).

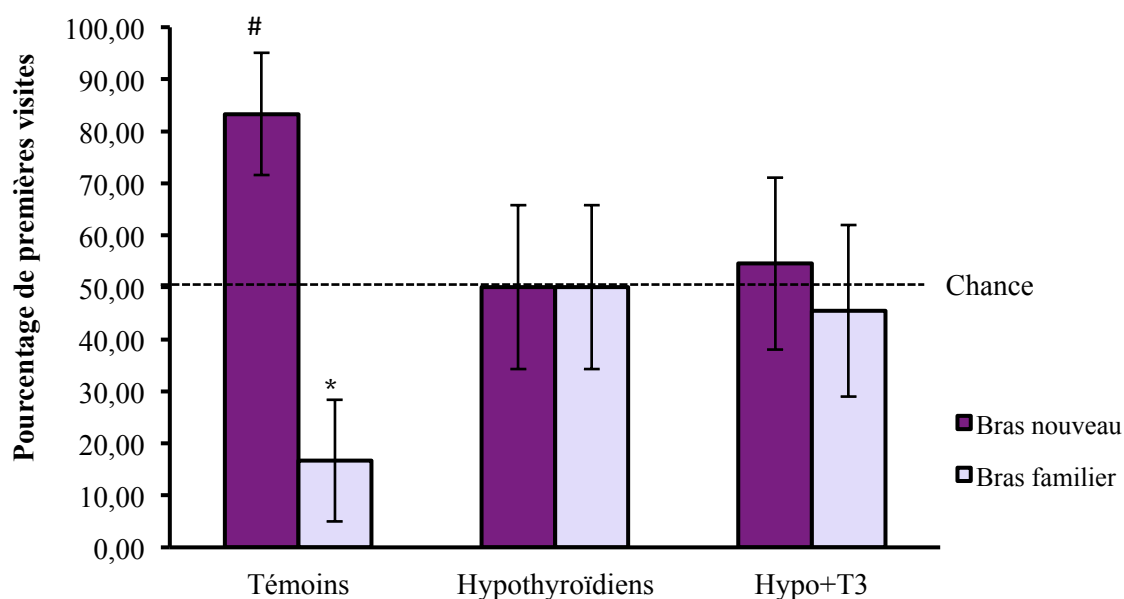


Figure 46 : Effet du statut thyroïdien sur le pourcentage de premières visites effectuées dans chaque bras lors de la rétention à 24h (n=12). * $p<0.05$ différence significative comparée au bras nouveau. # $p<0.05$ différence significative comparée à la chance.

De façon intéressante, nous montrons ici que les déficits d'apprentissage et de mémoire, observés chez les rats hypothyroïdiens dans la tâche du RAWM, sont compensés par l'administration de T3. Les déficits de mémoire spatiale, observés chez les rats hypothyroïdiens ont également été retrouvés dans le test du Labyrinthe en Y. Cependant dans cette autre tâche le traitement par la T3 permet d'améliorer les performances mnésiques à court terme et est sans effets à long terme.

Les données obtenues dans ce travail de thèse (tableau VII) permettent de renforcer l'idée selon laquelle la modification du statut thyroïdien et plus précisément une hypothyroïdie tissulaire peut être considérée comme un facteur favorisant les lésions et les déficits cognitifs associés à la MA. En effet, l'ensemble des résultats met en évidence une réversibilité de la plupart des marqueurs étudiés ainsi que des performances mnésiques. Cet effet bénéfique du traitement par la T3 met en évidence que notre modèle d'étude génère des modifications proches de celles observées dans les phases précoces de la pathologie.

Tableau VII : Bilan des résultats expérimentaux

	Hypo Série 1	Hypo Série 2	Effet du traitement T3
RC3 (ARNm)	↓	↓	restauration
IL1β (ARNm)	↑	↑	restauration partielle
IL6 (ARNm)	↑	↑	restauration
TNFα (ARNm)	↑	↑	restauration
CRP (ARNm)	↑		
IL1β (protéine)	↑	↑	restauration
CRP (protéine)	↑	↑	restauration
Ser396-Tau (protéine)	↑	?	?
Ser404-Tau (protéine)	↑	?	?
Total-Tau (protéine)	=	?	?
GSK3β-Ser9 (protéine)	↑		
GSK3β-Y216 (protéine)	=		
GSK3-Total (protéine)	=		
P38-Mapk (protéine)	=	?	?
p-P38 (protéine)	↑	?	?
PP2B (protéine)	↓	↓	restauration
PP2A (protéine)	=		
CaM (protéine)	↓	↓	restauration
CaMKII (protéine)	=	=	=
p-CaMKII (protéine)	↓	↓	restauration
CaMKIV (protéine)	↓	↓	restauration partielle
ERK42 (protéine)	=	=	↓
p-ERK42 (protéine)	↓	↓	↑ ↑
ERK44 (protéine)	=	=	↓
p-ERK44 (protéine)	=	=	↓
EGR1 (protéine)	↓	↓	restauration
RC3 (protéine)	↓	↓	restauration
p-RC3 (protéine)	↓	↓	↑ ↑
CREB (protéine)	=	=	=
p-CREB (protéine)	↓	↓	restauration
Aβ-42		↑	↓
TRβ (ARNm)		↓	restauration partielle
TRα (ARNm)		↓	restauration
T3 sérique		↓	↑ ↑

= pas d'effet du traitement ; ↑ augmentation du marqueur par rapport au groupe témoin ;
 ↓ diminution du marqueur par rapport au groupe témoin.

Partie IV : Discussion

Discussion générale

La maladie d'Alzheimer (MA) se définit comme une pathologie neurodégénérative caractérisée par une atteinte précoce et progressive des fonctions cognitives. Il existe deux formes de la maladie qui se distinguent par leurs causes : une forme dite « familiale » et une forme dite « sporadique ». Les mutations géniques à l'origine des formes familiales ont été identifiées mais l'origine des formes sporadiques reste plus incertaine. Le risque de développer ces formes sporadiques croît avec l'âge, principal facteur de risque de la maladie, mais semble également augmenter ou retarder par des facteurs génétiques et environnementaux : à titre d'exemple (i) les facteurs de susceptibilité génétique peuvent augmenter ou diminuer le risque de survenue de la maladie, (ii) les facteurs de risque cardiovasculaires (diabète, hypertension, hyperlipidémie) non pris en charge à l'âge moyen de la vie sont associés à une survenue plus fréquente de la maladie, (iii) une activité professionnelle stimulante ainsi qu'une vie sociale active semble retarder l'apparition des premiers symptômes et leurs sévérités. Plusieurs éléments de la littérature, qui restent parcellaires, plaident également en faveur d'une relation entre des dysfonctionnements thyroïdiens et les processus neurodégénératifs caractéristiques de la MA. Dans ce contexte, l'objectif de ce travail était d'abord de mieux comprendre les conséquences d'une hypothyroïdie sur un ensemble de marqueurs neuropathologiques et fonctionnels décrits dans la MA. Notre approche expérimentale a consisté à induire une hypothyroïdie chez des rats mâles adultes en utilisant un antithyroïdien de synthèse, le PTU. Ce travail repose sur des résultats préliminaires qui ont mis en évidence, dans ce modèle animal, que l'hypothyroïdie favorise la voie amyloïdogénique de dégradation de l'APP, conduisant à une augmentation de la production d'A β et augmentant ainsi la vulnérabilité de formation de dépôts amyloïdes dans l'hippocampe (*Ghenimi et coll., 2010*). Par ailleurs, une partie du travail de thèse a eu pour objet de tester sur notre modèle expérimental le potentiel de restauration par la T3, forme active des HT, de l'ensemble des altérations moléculaires, biochimiques et fonctionnelles observées chez les animaux hypothyroïdiens.

1. Les principaux résultats

Le modèle d'hypothyroïdie que nous avons mis en œuvre entraîne une diminution significative du taux de T3 sérique et une altération de la croissance pondérale. L'hypoactivité de la voie de signalisation de la T3 dans l'hippocampe se caractérise par une diminution des taux d'ARNm codants pour TR α , TR β et RC3.

Au plan moléculaire nous avons confirmé, chez ces animaux, l'augmentation du taux de peptides A β -42 précédemment décrite dans l'hippocampe. Ce même traitement s'accompagne, dans cette structure, d'une hyperphosphorylation de certains sites de la protéine Tau et d'une augmentation de l'expression de marqueurs proinflammatoires : Il1 β , Il6, TNF α et CRP. Une étude longitudinale d'IRM a permis de mettre en évidence une atrophie du volume cérébral total à partir de 5 semaines de traitement au PTU. Au plan comportemental, aucun déficit locomoteur et aucun comportement de type anxieux n'a été mis en évidence. En revanche, l'hypothyroïdie s'accompagne d'un retard d'apprentissage et d'une atteinte de formes de mémoires hippocampo-dépendantes évaluées dans le RAWM et dans le labyrinthe en Y. Une hypoactivité des voies de signalisation calcique et ERK-MAPK connues pour jouer un rôle clé dans les processus de plasticité synaptique, d'apprentissage et de mémoire a également été observée chez les rats traités au PTU.

Après 5 semaines de traitement PTU, l'administration de la T3 conduit à une augmentation importante des taux sériques de T3. Au niveau de l'hippocampe, la normalisation de l'hypothyroïdie cellulaire se caractérise par un taux d'ARNm codants pour RC3 et TR α comparable à celui observé chez les animaux témoins. Cette restauration s'accompagne (i) d'une diminution des taux de peptides A β -42 et de l'expression des molécules proinflammatoires, (ii) d'une augmentation de l'expression des marqueurs des voies de signalisation calciques et ERK-MAPK. Les déficits d'apprentissage et de mémoire à court terme altérés chez les animaux hypothyroïdiens dans le test du RAWM sont restaurés par le traitement. En revanche les altérations de mémoires spatiales à long terme ne sont pas restaurées.

2. Le modèle d'hypothyroïdie

L'hypothyroïdie est peu étudiée chez l'animal adulte et les modèles couramment utilisés sont des modèles d'animaux thyroïdectomisés. Dans notre étude, nous avons choisi d'administrer à des rats adultes du PTU (0.05%) dans l'eau de boisson. Cet antithyroïdien de synthèse inhibe la synthèse d'HT ainsi que la conversion de T4 en T3 au niveau périphérique (*Geffner et coll., 1975 ; Cooper, 2005*). Une récente étude menée sur des rats ne présentant pas de problèmes thyroïdiens a montré qu'une administration de PTU par gavage pendant 1 mois, à des doses importantes de 1, 20 et 200 mg/kg/jour, génère une hypothyroïdie et ne s'accompagne d'aucun effet indésirable (*Nambiar et coll., 2013*).

Le choix de notre modèle se justifie par les données de la littérature qui suggèrent une altération de la formation de T3 à partir de son précurseur T4 chez les patients atteints de la MA (*Davis et coll. en 2008*). Les résultats obtenus par ces auteurs montrent en effet une diminution des taux de T3 dans le cerveau sans modification des niveaux de T4. Plusieurs auteurs rapportent que la biodisponibilité cellulaire en T3 ne reflète pas systématiquement le taux de T3 sérique (*Escobar-Morreale et coll., 1995, 1999 ; Broedel et coll., 2003*). L'activité des désiodases semble jouer un rôle important dans la régulation du statut thyroïdien tissulaire (*Gereben et coll., 2007*). Dans notre étude, nous nous sommes focalisés sur l'hippocampe, structure considérée comme particulièrement résistante aux modulations des taux d'HT circulantes (*Broedel et coll., 2003 ; Obregon et coll., 2005*). Afin d'évaluer le statut thyroïdien dans l'hippocampe de nos animaux, nous avons quantifié les taux d'ARNm codants pour les récepteurs nucléaires TR α et TR β et pour RC3. Les données de la littérature rapportent en effet que l'expression des TR est régulée par leur propre ligand ; en 1993, *Lebel et ses collaborateurs* ont mis en évidence une régulation positive de l'expression de TR β par la T3 dans le cerveau. Chez l'homme, un élément de réponse TRE a été mis en évidence dans la séquence du gène codant pour le récepteur TR β (*Suzuki et coll., 1994*). Une diminution du taux de TR α et de TR β a été observée dans l'hippocampe des rats traités au PTU par *Ghenimi et coll. (2010)*. Par ailleurs, des études ont montré une régulation positive de l'expression de RC3 par les HT dans le cerveau ; un élément de réponse aux HT a d'ailleurs été découvert chez l'homme dans le premier intron du gène NGRN et le taux d'expression de RC3 est considéré comme un très bon indicateur d'hypothyroïdie cellulaire (*Iniguez et coll., 1996 ; Martinez de Arrieta et coll., 1999*). Sur un modèle similaire au nôtre, *Coustaut et coll. (1996)* ont mis en évidence une diminution de T3 sérique de 46% chez des rats traités au PTU (0.05%) dès trois semaines de traitement ; aucune modification du taux d'ARNm codant pour

RC3, n'a cependant été observée dans l'hippocampe des animaux. Une diminution de TR β , TR α et RC3 a en revanche été mise en évidence après 5 semaines de traitement. Ces résultats rendent à nouveau compte que la biodisponibilité cellulaire en T3 ne reflète pas systématiquement le taux de T3 sérique. De même, tandis que l'administration de T3 chez les animaux hypothyroïdiens s'accompagne d'une augmentation très importante du taux de T3 sérique, les taux d'ARNm codants pour TR α et RC3 sont comparables à ceux des animaux témoins. Ces données confortent l'idée selon laquelle l'hippocampe est une structure particulièrement protégée des modifications de statut thyroïdien. En nous appuyant sur les données de la littérature, nous pouvons supposer que la désiodase de type 3, localisée essentiellement dans les neurones, aurait un rôle majeur dans la régulation du taux de T3 cellulaire : cette enzyme dégraderait T3 en métabolites inactifs comme l'ont décrits plusieurs auteurs (*Freitas et coll., 2010 ; Dentice et Salvatore, 2011*).

La mise en place de l'hypothyroïdie se caractérise dans ce modèle expérimental par un ralentissement de la croissance pondérale comparable à celui obtenu chez des rats thyroïdectomisés (*Gerges et coll., 2001*). Ce ralentissement a été rapporté à plusieurs reprises dans la littérature chez des rats soumis à un traitement PTU ou au méthimazole (MMI) (*Madeira et coll., 1991 ; Hasegawa et coll., 2010 ; Yu et coll., 2014*). Dans notre étude, nous avons mis en évidence que la différence de poids observée n'a pas d'incidence sur la locomotion, ou sur l'activité exploratoire des rats traités au PTU. De plus, le test du plus maze permettant d'étudier le comportement de type anxieux des animaux n'a pas révélé de différence entre les différents groupes d'animaux. Nos résultats sont en accord avec ceux de *Redei et ses collaborateurs (2001)* qui n'ont pas observé de différence d'activité dans le test d'openfield entre des rats témoins et des rats traités au PTU 0.05% pendant 3 semaines. Une hypothyroïdie périnatale induite par un traitement PTU semble quant à elle s'accompagner d'une hyperactivité (*Negishi et coll., 2005*).

3. L'hypothyroïdie favorise la survenue de lésions caractéristiques de la maladie d'Alzheimer

3.1. Atrophie cérébrale

L'atrophie cérébrale est une caractéristique macroscopique de la MA. On peut observer chez les patients une diminution du volume total du cerveau accompagnée d'une augmentation de l'espace ventriculaire (*Jack et coll., 2008*). Des études d'IRM menées chez

des patients atteints de la MA ont révélé un taux d'atrophie cérébral moyen de 1.5% par an, alors qu'il n'est que de 0.5% chez les sujets âgés de 65-75 ans. Ce taux d'atrophie, faible dans les phases précoces de la MA, semble associé aux résultats du test MMSE, et donc dépendre de la sévérité de la maladie (*Evans et coll., 2010*). L'hippocampe, structure connue pour jouer un rôle important dans les processus mnésiques, semble particulièrement vulnérable à cette atrophie (*Raji et coll., 2009 ; Frisoni et coll., 2010*). La diminution du volume hippocampique évolue également avec l'avancée de la MA ; cette progression anormale est considérée comme un bon marqueur d'évolution de cette pathologie (*Enzinger et coll., 2005 ; Gruber et coll., 2008 ; Colliot et coll., 2008 ; Delatour et coll., 2010*). Les travaux menés sur des modèles murins de la MA font parfois apparaître une atrophie précoce qui pourrait être associée au développement anormal du cerveau des souris transgéniques (revue dans *Delatour et coll., 2010*) ; les modifications observées dans notre modèle expérimental semblent se rapprocher de celles observées dans l'étiologie de la pathologie. En effet, dans ce travail, nous avons mis en évidence une diminution du volume cérébral des rats de 6% à partir de 5 semaines de traitement PTU. Une modification comparable, mais non significative, a été observée dans l'hippocampe. Des travaux d'imagerie semblables ont été menés par *Hasegawa et coll. (2010)* sur des animaux rendus hypothyroïdiens par un traitement MMI depuis la période de gestation (GD15) jusqu'au sevrage (PND21) ; les mesures de volumes ont été réalisées chez ces animaux à l'âge de 7 à 8 mois. Une diminution de 15% du volume total et de 12% du volume de l'hippocampe a été observée. Le MMI induisant une perte de poids chez les animaux, ces volumes ont également été mesurés chez des animaux témoins de même poids corporel que les animaux traités : ils restent plus faible chez les animaux hypothyroïdiens ce qui témoigne que l'effet du traitement sur le cerveau est indépendant de la perte de poids des animaux. Ces auteurs ont également montré que les rapports volume hippocampique sur volume total restent comparables entre le groupe de rats contrôles et le groupe de rats hypothyroïdiens ce qui laisse supposer que la diminution du volume total n'est pas spécifiquement associée à la diminution du volume hippocampique. Peu de travaux rapportent un effet du statut thyroïdien sur le volume cérébral chez l'adulte. Une étude menée chez l'homme a montré que la taille du cerveau corrèle positivement avec les niveaux de T3, T4 et TSH sériques chez des patients hypo- et hyperthyroïdiens (*Oatridge et coll., 2002*). Des travaux récents, menés chez des patients hypothyroïdiens non traités, font apparaître, pour la première fois, une diminution du volume de l'hippocampe droit (*Cooke et coll., 2014*).

Pour expliquer ces effets de l'hypothyroïdie, certains travaux de la littérature font référence aux rôles des HT dans le SNC. Il est aujourd'hui admis que les hormones

thyroïdiennes sont essentielles à la maturation du cerveau. Le déficit en HT est critique pendant la période de développement et conduit à l'apparition de nombreuses anomalies telles qu'une altération de la migration cellulaire, une maturation incomplète des neurones et des cellules gliales, une réduction du volume et de la taille de certaines cellules, une réduction de la densité des synapses et des déficits de myélinisation, une altération de la neurogenèse (*Morreale de Escobar et coll., 2004 ; Calloni et coll., 2005 ; Morreale de Escobar et coll., 2007 ; Bernal et coll., 2007 ; Préau et coll., 2014*). L'intervention des HT dans le fonctionnement du cerveau mature est moins bien documentée. Dans l'hippocampe, le déficit en HT s'accompagne d'une réduction irréversible du nombre de cellules pyramidales dans la région CA1 de l'hippocampe (*revue dans Koromilas et coll., 2010*). Les données de *Cortés et coll. (2012)* montrent par ailleurs que l'hypothyroïdie induite par un traitement PTU chez des rats adultes, altère la composition des densités postsynaptiques et diminue la survie neuronale et astrocytaire. L'hypothyroïdie chez l'adulte altère également la neurogenèse dans le gyrus denté avec une diminution de 30% du nombre de cellules en prolifération (*Montero-Pedrazuela et coll., 2006 ; Zhang et coll., 2009 ; revue dans Remaud et coll., 2014*). Les lésions cellulaires observées dans notre modèle pourraient également jouer un rôle dans les modifications morphologiques décrites ci-dessus. En effet, des travaux récents menés sur des souris transgéniques âgées surexprimant le gène muté de la protéine ApoE-ε4 ont mis en évidence l'implication des dépôts amyloïdes dans l'atrophie cérébrale ; d'autres auteurs ont montré une corrélation entre le taux de cytokine IL6 et le volume de l'hippocampe ou entre le taux de CRP et le volume de substance grise (*Tanabe et coll., 1997 ; Marsland et coll., 2008 ; Lindlau et coll., 2014*).

3.2. Lésions cellulaires

La MA s'accompagne d'une augmentation du taux de peptides Aβ et d'une hyperphosphorylation de certains sites de la protéine Tau. Ces modifications favorisent le développement de plaques séniles et de dégénérescences neurofibrillaires (DNF), deux lésions caractéristiques de la MA.

Les données obtenues dans ce travail montrent une augmentation du taux de peptides Aβ-42, dans l'hippocampe des rats traités au PTU, qui est restaurée par l'administration de T3. Une première étude, menée sur des rats ayant reçus le même traitement, a montré que cette augmentation est la conséquence d'une activation de la voie amyloïdogénique caractérisée par une augmentation de l'activité enzymatique des β- et γ-sécrétases (*Ghenimi et*

coll. 2010). Quelques travaux de la littérature rapportent que les HT régulent négativement l'activité transcriptionnelle du gène codant pour l'APP : un TRE a été mis en évidence dans son promoteur (Belandia et coll., 1998 ; O'Barr et coll., 2006 ; Contreras-Jurado et coll., 2012). Dans ce travail, nous avons quantifié l'expression du gène codant pour l'APP695, isoforme neuronale prépondérante à partir de laquelle A β est préférentiellement généré via la voie amyloïdogénique (revue dans Nalivaeva et Turner, 2013) : nous avons observé une augmentation significative du taux d'expression de ce gène chez les rats ayant reçu du PTU, qui est restaurée par l'administration de T3. Le profil d'expression du gène codant pour APP695 est l'inverse de celui des TR, ce qui renforce l'idée d'une régulation négative de l'expression de ce gène par le statut thyroïdien. L'ensemble de ces données laisse donc supposer que la diminution de l'expression des TR pourrait être à l'origine de l'augmentation du taux d'ARNm codant pour l'APP695 et par conséquent du taux de peptides A β -42. L'administration de T3 normaliserait ainsi le taux de TR α , d'APP695 et d'A β -42. Il faut cependant noter qu'un ensemble de données de la littérature suggère également que le taux d'A β -42 pourrait être associé au taux de marqueurs proinflammatoires (revue dans Layé, 2010). TNF α stimule l'expression des β - et γ -sécrétases et de ce fait la production d'A β (Blasko et coll., 2000 ; Liao et coll., 2004) ; une injection d'I11 β dans l'hémisphère cérébral augmente le taux d'APP et la voie amyloïdogénique (Sheng et coll., 1996).

L'augmentation du taux de peptides A β -42 identifiée dans l'hippocampe des rats traités au PTU est associée à une hyperphosphorylation de certains sites de la protéine Tau. Les protéines Tau ont été identifiées comme des facteurs favorisant l'assemblage des microtubules et leur stabilisation. La phosphorylation anormale ou l'hyperphosphorylation de ces protéines modifie l'interaction Tau/microtubules et par conséquent la stabilité du cytosquelette (Sergeant et coll., 2008). En 1979, Fellous et ses collaborateurs ont mis en évidence chez des rats le rôle des HT dans l'assemblage des microtubules, permettant ainsi la croissance des neurones durant la phase de développement. Dans notre modèle d'hypothyroïdie, l'hyperphosphorylation serait associée à une modification de l'expression de p38-MAPK et de PP2B. Le rôle de p38-MAPK dans la phosphorylation de Tau a été montré par plusieurs auteurs (Buee-Scherrer et Goedert, 2002). En revanche celui de PP2B est moins décrit ; des travaux récents ont montré que le taux d'expression de la protéine PP2B semble corrélé négativement avec la sévérité de la démence et en particulier avec l'évolution des différents stades décrits par Braak ; l'expression ainsi que l'activité de PP2B semblent diminuées dans les cerveaux de patients atteints de la MA (Karch et coll., 2013). L'hyperphosphorylation de Tau observée pourrait également être associée à l'augmentation

du taux de marqueurs pro-inflammatoires (*Papassotiropoulos et coll., 2001 ; Li et coll., 2003 ; Kitazawa et coll., 2005*). L'activation de p38-MAPK a été mise en évidence dans des conditions pro-inflammatoires (*Chaves de Souza et coll., 2013*). Quelques données de la littérature évoquent un lien potentiel entre le taux de TRH, qui jouent un rôle central dans la régulation de l'axe hypothalamo-hypophysio-thyroïdien, et l'hyperphosphorylation de la protéine Tau. TRH est une hormone très rapidement métabolisée (demi-vie de 4 à 5 minutes) chez le rat comme chez l'homme; elle est inactivée par deux enzymes: la prolylomogopeptidase (POP) et la pyroglutamyl aminopeptidase I (PAPI) (revue dans *Daimon et coll., 2013*). En 2005, *Rossner et ses collaborateurs* ont montré dans l'hippocampe et l'hypothalamus de souris transgéniques Tg2576, modèle de MA, une augmentation de l'activité enzymatique de l'enzyme POP conduisant ainsi à une diminution du taux de TRH. Ces données corroborent celles qui ont mis en évidence un faible taux de TRH dans l'hippocampe de patients MA. Cette diminution favoriserait l'activité de GSK3 β et en conséquence la phosphorylation de Tau (*Luo et coll., 2002 ; Luo et Stopa, 2004*). Cette hypothèse reste cependant discutable car quelques données rapportent qu'une faible quantité de TRH serait localement produite dans l'hippocampe et non associée à l'activité de l'axe hypothalamo-hypophysio-thyroïdien (*Low et coll., 1989*).

Une autre lésion caractéristique de la MA à laquelle nous nous sommes intéressés est l'inflammation. Il est effectivement clairement établi que la pathologie s'accompagne d'une réponse inflammatoire caractérisée par une libération importante de cytokines comme Il1 β , Il6 et TNF α (*Akiyama et coll., 2000 ; Heneka et Banion, 2007 ; Wyss-Coray et Rogers, 2012*). Un taux élevé de protéine CRP, largement utilisé comme marqueur de réponse inflammatoire dans les maladies chroniques, a également été observé dans le cerveau des patients atteints de MA (*Fuji et coll., 2008 ; Yasogima et coll., 2000*). Des résultats comparables ont été obtenus chez des rats ayant reçu des injections intracérébrales de peptides A β ou dans des modèles de souris transgéniques A β (*Lin et coll., 2009 ; Bi et coll., 2012*). Dans notre modèle expérimental, nous avons mis en évidence des taux élevés d'Il1 β , Il6, TNF α et de CRP. Un traitement par la T3 a permis de restaurer les niveaux d'expression des différents marqueurs d'inflammation quantifiés. Le profil d'expression des indicateurs de la réponse inflammatoire est par conséquent comparable chez les animaux qui ont reçu du PTU, chez des modèles murins de la MA et chez des patients Alzheimer. Le rôle protecteur des hormones thyroïdiennes sur l'inflammation a été décrit par bon nombre d'auteurs: les travaux de la littérature rapportent notamment que l'hyperthyroïdie et l'hypothyroïdie s'accompagnent

respectivement d'une diminution ou d'une augmentation du taux de cytokines pro-inflammatoires (revue dans *De Vito et coll., 2011*). Même si les mécanismes d'action sont encore peu connus, certains auteurs laissent supposer que T3 et T4 pourraient moduler le système immunitaire par des actions génomiques (via TR β) et extragénomiques (Revue dans *Perrotta et coll., 2014*). Lors d'une inflammation chronique, des changements d'expression et d'activité des désiodases telles qu'une augmentation de l'activité de la désiodase D3, enzyme qui inactive les HT, s'accompagneraient d'une diminution du taux de T3 sérique (*Boelen et coll., 2005 ; Boelen et coll., 2004 ; revue dans Huang and Bianco., 2008 ; Kwakkel et coll., 2011 ; Revue dans Straub, 2014*). Des données de la littérature rapportent que les patients atteints d'hypothyroïdie présentent un niveau important de CRP (*Dizdarevic-Bostandic et coll., 2013*). Une corrélation négative a été rapportée entre les niveaux d'HT circulantes et les concentrations sériques d'IL6 et CRP chez des enfants prématurés ne présentant aucune pathologie thyroïdienne (*Dilli et Dilmen, 2012*). La réversibilité du taux des marqueurs inflammatoires observée chez les rats hypothyroïdiens injectés avec de la T3 montre l'importance du statut thyroïdien et renforce l'idée d'un rôle protecteur des HT vis-à-vis de l'inflammation.

Dans notre modèle expérimental, l'inflammation pourrait également être consécutive à l'augmentation du taux de peptides A β -42 ou à l'hyperphosphorylation de Tau. En effet, l'accumulation du peptide A β -42 dans l'hippocampe semble activer les microglies et conduire à une augmentation du taux de cytokines pro-inflammatoires (revue dans *Zhang et coll., 2013*) et Tau présenterait comme A β la capacité de générer une réponse inflammatoire (*Zilka et coll., 2012 ; Wes et coll., 2014*). Par ailleurs, une forte corrélation entre l'activation microgliale et l'agrégation du peptide A β -42 a été mise en évidence dans les phases précoces de la maladie par *Arends et coll. en 2000*. Le lien entre l'inflammation et A β est conforté par les données qui suggèrent qu'une administration d'anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) à des rats ayant reçu des injections de peptides A β -42, dans le gyrus dentelé, restaure les déficits de PLT ainsi que les déficits de mémoire de travail (*Stephan et coll., 2003*) induits par les injections. Par ailleurs il a été montré que l'utilisation d'AINS stimulerait la voie non-amyloïdogénique, diminuerait le taux de β -sécrétase et réduirait la formation du peptide (revue dans *Meraz-Rioz et coll., 2013*).

4. Statut thyroïdien et mémoire hippocampo-dépendante

Les lésions neuropathologiques associées à la MA se développent précocement dans l'hippocampe (*Braak et Braak, 1997*). Les altérations de mémoire spatiale, qui apparaissent très tôt et progressent avec l'évolution de la maladie, seraient la conséquence de la présence de ces lésions dans cette structure (*Henderson et coll., 1989 ; Braak et Braak, 1991 ; Amieva et coll., 2005 ; Bird et Burgess, 2008*). Le test de la piscine de Morris permet d'évaluer la mémoire spatiale de référence (*Morris et coll., 1982*). Des altérations de performance dans ce test ont été décrites dans de nombreux travaux réalisés sur des modèles de souris transgéniques de la MA (PDAPP, APPxPS1, 3xTg) (*Schindowski et coll., 2006 ; McKee et coll., 2008 ; Blanchard et coll., 2009 ; Lee et Han, 2013*). Ces souris présentent, pour la plupart d'entre elles, une quantité importante de peptides A β sous forme agrégée ou soluble ; d'autres lésions parfois coexistent tels que des DNF chez les souris 3xTg. Dans notre étude, la mise en œuvre du test de la piscine de Morris sur les rats hypothyroïdiens n'a pas permis de mettre en évidence des déficits d'apprentissage et/ou de mémoire spatiale. Ces résultats peuvent être rapprochés de ceux de *Wilcoxon et ses collaborateurs (2007)* qui n'ont pas observé d'altération de performance dans ce test chez des souris mâles C57BL/6J de 6 mois, traitées au PTU. Nous avons alors soumis les animaux au test du RAWM. L'utilisation de ce test s'appuie sur les travaux de *Diamond et coll. (1999)* qui ont montré que l'inactivation sélective de l'hippocampe était suffisante pour altérer les performances des animaux dans ce paradigme. En revanche, ces auteurs n'excluent pas l'implication d'autres structures dans cette tâche (*Kesner et coll., 1996 ; Curtis, 2006 ; Ricciardi et coll., 2006*). Nos résultats montrent que les animaux hypothyroïdiens présentent un retard d'apprentissage et des déficits de mémoire à court et long terme. Après un apprentissage répété, les rats hypothyroïdiens parviennent à combler leur retard d'apprentissage, mais présentent toujours des déficits de mémoire spatiale de travail à long terme. Ces résultats sont comparables à ceux observés chez des rats thyroïdectomisés évalués dans la même tâche comportementale (*Alzoubi et coll., 2009*). Après 8 jours de tests, ces auteurs montrent également un déficit de mémoire à court et à long terme. La différence de performance des animaux dans ces deux tests (RAWM et piscine de Morris) pourrait être associée à l'emplacement de la plateforme qui change quotidiennement dans le test du RAWM. Cette difficulté d'adaptation pourrait s'expliquer par une altération de la flexibilité comportementale. Cette hypothèse est confortée par les données montrant qu'une hypothyroïdie subclinique chez l'homme s'accompagne d'une altération de la flexibilité cognitive évaluée dans le test du Wisconsin Card Sorting (WCST) (*Fernandes et*

coll., 2011). Des difficultés dans des tâches de flexibilité cognitives ont également été décrites chez des patients atteints de la MA (*Belleville et coll., 2008*). Les travaux de *Zhuo et ses collaborateurs (2007)* évoquent dans un modèle murin de la MA des altérations de la flexibilité sans atteinte de la mémoire spatiale de référence dans le labyrinthe aquatique de Morris. Dans ce travail de thèse, les rats ont également été soumis à un test de mémoire d'alternance spatiale dans un labyrinthe en Y : nos résultats font apparaître une altération de la mémoire d'alternance spatiale à court et à long terme. Ils confortent les données obtenues par *Artis et coll. (2011)* qui montrent que 3 semaines de traitement PTU 0.05% s'accompagnent de déficits à court et à long terme. Ces données sont cohérentes avec les résultats obtenus par *Correia et coll., 2009* sur des patients atteints d'hypothyroïdie légère ou sévère. L'ensemble des résultats comportementaux obtenus dans ce travail de thèse laisse supposer que le traitement PTU altère certaines fonctions hippocampo-dépendantes.

Une partie du travail a permis de mettre en évidence que l'administration de T3 peut compenser les déficits d'apprentissage et de mémoire à court terme dans le RAWM, mais pas de mémoire à long terme. Les travaux de *Alzoubi et ses collaborateurs (2009)* rapportent qu'une administration de 20µg/kg/jour de T4 pendant 4 semaines avant le début du test du RAWM permet de restaurer les déficits observés à court et à long terme chez les rats thyroïdectomisés. Pour expliquer cette différence, nous pouvons évoquer la durée du traitement qui est beaucoup plus courte dans notre étude. Par ailleurs, nous avons injecté nos rats traités au PTU avec de la T3 et non de la T4 pour pallier les effets du PTU sur la conversion de T4 en T3 ; la demi-vie de T3 est beaucoup plus faible que celle de T4 ce qui peut aussi participer à la non récupération de l'ensemble des performances. Dans le test du labyrinthe en Y, les rats PTU traités par la T3 présentent des performances à court terme comparables à celle des témoins. En revanche aucune amélioration n'a été observée sur la mémoire à long terme.

Les modifications cellulaires responsables des troubles mnésiques observés chez les rats hypothyroïdiens sont probablement multifactorielles. Les voies de signalisation calcique et ERK-MAPK sont connues pour jouer un rôle important dans les processus d'apprentissage et de mémorisation. L'exploration de la voie de signalisation calcique dans ce travail repose sur les données de la littérature qui montrent que le statut thyroïdien module fortement le taux de RC3, protéine cruciale de la voie calcique (*Iniguez et coll., 1993 ; Piosik et coll., 1996 ; Husson et coll., 2004*). Comme nous l'avons décrit dans la partie I de ce mémoire, sur le plan moléculaire, RC3 contrôle la signalisation calcique en régulant la disponibilité de CaM (*Diez-*

Guerra, 2010). RC3 phosphorylée par la protéine kinase C (PKC) potentialise le taux de Ca^{2+} intracellulaire, favorisant ainsi l'efficacité synaptique (*Cohen et coll., 1993*). Cette protéine renforcerait également l'efficacité de la transmission synaptique en favorisant la localisation de la calmoduline (CaM) au niveau des épines dendritique à proximité de la CaMKII, kinase qui joue un rôle important dans la formation de la mémoire et l'induction de la PLT (*Pasinelli et coll., 1995 ; Otmakhov et coll., 1997 ; Zhong and Gerges, 2010 ; Lucchesi et coll., 2010*). Par ailleurs, le rôle de RC3 dans l'efficacité synaptique et dans les performances mnésiques a été décrit par plusieurs auteurs (*Fedorov et coll., 1995 ; Gerendasy et Sutcliffe, 1997 ; Chen et coll., 1997 ; Pak et coll., 2000 ; Miyakawa et coll., 2001 ; Huang et coll., 2004*). Nos résultats font apparaître une diminution de la forme totale et phosphorylée de RC3 associée à une diminution de l'expression de CaM, p-CaMKII, CaMKIV et PP2B. L'administration de T3 restaure cette voie de signalisation. Concernant le taux d'expression de RC3, des données comparables ont été observées chez des souris soumises à un traitement PTU ou PTU/MMI (*Enderlin et coll., 2004 ; Vallortigara et coll., 2008 ; Vallortigara et coll., 2009*). En 2005, Alzhoubi et ses collaborateurs ont mis en évidence une diminution du taux de RC3, CaM, p-CaMKII et PKC γ dans la région CA1 de l'hippocampe de rats thyroïdectomisés présentant une altération de la PLT. Les déficits de PLT et les taux d'expressions sont restaurés par une administration de 20 μ g/kg/jour de T4 pendant 6 semaines. Ces mêmes auteurs ont ultérieurement mis en évidence des altérations de performances mnésiques dans le test du RAWM (*Alzhoubi et coll., 2009*), ce qui conforte l'idée d'une implication de cette voie de signalisation dans les déficits de mémoire observés chez les rats traités au PTU.

Sachant que la voie calcique interfère avec celle d'ERK-MAPK et en nous appuyant sur les travaux décrits dans le chapitre I qui montrent son implication dans les processus mnésiques, nous avons également quantifié des indicateurs de cette dernière. L'interaction des deux voies de signalisation a également été rapportée dans les travaux de *Wu et ses collaborateurs (2002)* qui montrent un taux réduit de p-CREB chez des souris invalidées pour RC3. Les résultats obtenus dans ce travail mettent en évidence une diminution du taux de p-CREB, p-ERK et EGR1 qui est restaurée par l'administration de T3. Un effet comparable du traitement PTU sur les taux de p-CREB et p-ERK42 a été observé chez des rats présentant une hypothyroïdie périnatale (*Dong et coll., 2009*). Les travaux d'*Alzhoubi et ses collaborateurs (2009)* ont montré que les rats thyroïdectomisés qui présentent des déficits dans le test du RAWM ont également des taux faibles de p-CREB, p-ERK42 concomitants de celle de p-CaMKII et CaMKIV. L'administration de T4 chez ces animaux restaure l'expression de ces indicateurs en plus des performances mnésiques. Les travaux récents de

Zhang et coll. (2014) suggèrent que les altérations irréversibles des processus d'apprentissage et de mémoire liées à une hypothyroïdie périnatale sont associées à une altération de la voie ERK-MAPK caractérisée par une hypoactivation de p-ERK42, p-CREB et CaMKIV. L'ensemble de ces données témoigne d'une interaction forte de ces voies de signalisation probablement par les calmoduline-kinases II et IV. Si l'on confronte nos résultats aux données de la littérature, nous pouvons émettre l'hypothèse selon laquelle les modifications du statut thyroïdien altéreraient, via RC3, l'activité des voies de signalisation calcique puis ERK-MAPK et en conséquence les performances mnésiques.

Les données de la littérature suggèrent également que d'autres modifications cellulaires observées chez les rats traités au PTU pourraient contribuer aux déficits mnésiques. Des travaux rapportent une perte de synapses consécutive à l'augmentation du taux d'A β -42 (*Jacobsen et coll, 2006 ; Brouillette et coll, 2012 ; revue dans Pooler et coll., 2014*). Une corrélation négative a été mise en évidence entre les niveaux de peptides A β -42 au niveau de l'hippocampe et les performances spatiales chez des souris APPxPS1 (*Puoliväli et coll., 2002*). D'autres auteurs ont montré une corrélation entre Tau soluble, agrégats de Tau, altération des synapses et déficits cognitifs (*Grober et coll, 1999 ; Papon et coll., 2013 ; Pooler et coll., 2014*). Des modifications post-traductionnelles de Tau seraient associées à des altérations des capacités mnésiques (*Le Freche et coll, 2012 ; Burnouf et coll, 2013*). Enfin, les travaux de *Lin et coll. (2009)* rapportent que des rats ayant reçu des injections intracérébrales de peptides A β présentent des taux importants de cytokines proinflammatoires et des altérations de mémoire spatiale. Au laboratoire, *Stephan et coll., (2001)* ont montré que l'injection de peptides A β dans le gyrus denté, s'accompagne d'une altération de la PLT associée à des déficits de mémoire de travail. Ces quelques exemples issus de la littérature montrent la complexité de cette pathologie et la difficulté pour séquencer les événements. Des travaux menés en 2010 par *Fu et ses collaborateurs* ont mis en évidence dans un modèle de souris ayant reçu des injections intra-hippocampique d'agrégats de peptides A β , que l'administration de 2.4 mg/kg de T4 pendant 4 jours restaure les performances de mémoire spatiale des animaux : ces auteurs font apparaître une diminution de l'apoptose, une augmentation de l'activité d'enzymes antioxydantes, une augmentation du nombre de neurones dans l'hippocampe. Ces travaux renforcent l'idée selon laquelle les hormones thyroïdiennes semblent jouer un rôle dans l'étiologie de la MA mais évoquent d'autres mécanismes d'action potentiels des HT que ceux étudiés dans ce travail.

Conclusions et perspectives

Une partie des travaux actuellement menés sur la MA utilise des modèles animaux qui intègrent des facteurs de risque de la pathologie ; ces modèles devraient contribuer au développement d'approches préventives visant à retarder voire réduire l'évolution de la maladie. Dans ce contexte, mon travail de thèse avait pour objectif de préciser les effets d'une hypothyroïdie sur l'apparition de certaines lésions observées dans la pathologie, ainsi que sur les troubles mnésiques. L'ensemble des données obtenues, montre que l'hypothyroïdie génère dans l'hippocampe une augmentation du taux de peptides A β -42, une hyperphosphorylation de Tau et une forte libération de molécules proinflammatoires. Ces altérations s'accompagnent d'une réduction du volume cérébral et de déficits mnésiques. L'hypothyroïdie cellulaire observée au niveau de l'hippocampe est normalisée par une administration de T3. La restauration de la plupart des modifications cellulaires et fonctionnelles observée après l'injection de T3 renforce l'hypothèse d'un lien potentiel entre l'hypothyroïdie et les lésions de la MA ; ces résultats supposent par ailleurs qu'une hypothyroïdie ainsi induite s'accompagne de lésions cellulaires et fonctionnelles probablement très précoces, qui peuvent encore être, pour la plupart restaurées.

L'approche pluridisciplinaire utilisée dans ce travail a permis une bonne description de notre modèle avec des indicateurs permettant des analyses allant du gène au comportement. Ce travail montre, pour la première fois, plusieurs modifications de la MA sur un même modèle expérimental d'hypothyroïdie ce qui renforce considérablement l'idée selon laquelle l'hypothyroïdie cellulaire semble être un autre facteur de risque ; en revanche, cette étude ne permet pas aujourd'hui de comprendre comment et par quels mécanismes ce dysfonctionnement hormonal influence l'apparition de chacune des lésions.

Le contrôle de l'expression de RC3 par les HT est largement décrit dans la littérature. Quelques données font également état d'une altération de l'expression de RC3 dans la MA : en 1997, *Chang et ses collaborateurs* ont révélé une altération de la translocation des ARNm de RC3 chez des patients Alzheimer. Une diminution de l'expression de RC3 a été rapportée dans les cerveaux de patients atteints de la MA à des stades précoces ou tardifs (*Reddy et coll., 2005*) ainsi que dans l'hippocampe de souris transgéniques modèles de la MA (*Georges et coll., 2010*). Une diminution de l'expression de CaMKII a également été identifiée dans l'hippocampe de patients atteints de MA, diminution qui semble proportionnelle aux scores

d'évaluation cognitive (*Reese et coll., 2011*). Enfin, *Thorsell et ses collaborateurs (2010)* ont montré, chez des patients Alzheimer, une augmentation du taux de RC3 associée à une hyperphosphorylation de Tau dans le liquide céphalo-rachidien (LCR). Ces auteurs considèrent le taux de RC3 comme un marqueur de dégénérescence synaptique associé à la MA. Nos résultats laissent supposer que la diminution de l'expression de RC3 décrite dans le cerveau de patients Alzheimer pourrait être associée à un ensemble de modifications cellulaires de la MA incluant l'augmentation du peptide A β -42, une hyperphosphorylation de Tau et une forte libération de molécules proinflammatoires. Le taux de RC3 dans le LCR pourrait alors être considéré comme un biomarqueur beaucoup plus large que celui décrit dans les travaux de *Thorsell et coll (2010)*. Un autre biomarqueur de dysfonctionnement thyroïdien cellulaire décrit dans la littérature est le taux de TR dans les cellules mononuclées du sang : une hypoexpression de TR α et TR β a été observée dans les cellules mononuclées de patients hypothyroïdiens (*Féart et coll., 2005*). La pertinence du choix de ces deux biomarqueurs d'hypothyroïdie pourrait être démontrée par un dosage de ces derniers chez les rats de notre modèle expérimental. Ces données de la littérature montrent l'intérêt de poursuivre les investigations dans ce domaine de recherche sur cette pathologie.

Par ailleurs, un ensemble de travaux met en évidence des liens entre des dysfonctionnements thyroïdiens et certains facteurs de risque avérés de la MA comme l'obésité ou le diabète. Un régime cafétéria, pouvant induire une obésité, s'accompagne d'une hypoexpression de RC3 (*Buaud et coll., 2010*). Il existerait également un lien entre l'axe hypothalamo-hypophyso-thyroïdien et la dérégulation de la voie de la leptine observée chez des patients obèses (*Decherf et coll., 2010 ; Hildreth et coll., 2012*). L'hypothyroïdie semble également être à l'origine d'une insulino-résistance entraînant des altérations du métabolisme glucidique et lipidique (*Dimitriadis et coll., 1997 ; revue dans Wang, 2013*). Un dysfonctionnement thyroïdien a été identifié chez des patients diabétiques (*Kadiyala et coll., 2010*). Des altérations similaires ont été observées chez des patients Alzheimer présentant une insulino-résistance (*revue dans De Felice et coll., 2014*). Il apparaît ici que l'effet de l'hypothyroïdie observé dans notre étude pourrait très bien être associé à une dérégulation de certaines voies métaboliques. Dans ce contexte, une étude (i) des marqueurs d'hypothyroïdie dans des modèles animaux intégrant un facteur de risque, tel que l'obésité ou le diabète, ou (ii) de marqueurs métaboliques chez les rats traités au PTU, pourrait permettre d'ouvrir un domaine d'investigation intéressant qui viserait à mieux comprendre les mécanismes d'actions des HT dans la MA et l'interaction entre les facteurs de risques. Sachant que la

prévalence de l'hypothyroïdie augmente avec l'âge, facteur de risque principal de la MA, la perspective de développer un modèle animal associant vieillissement et hypothyroïdie (modèle de vieillissement dans lequel on accentue l'hypoactivité de la T3) semble aujourd'hui être également une voie de recherche intéressante.

Pour poursuivre ce travail de thèse, nous pouvons envisager également d'approfondir l'exploration menée chez les rats hypothyroïdiens. Nos travaux se sont focalisés sur l'hippocampe. Lorsque l'on confronte nos résultats à ceux de la littérature, il paraît intéressant d'étendre notre étude à d'autres régions et notamment au cortex préfrontal connu pour jouer un rôle important dans la mémoire à long terme (*Euston et coll., 2014*), mais également dans les processus de flexibilité cognitive (*Peters et coll., 2013*). Par ailleurs, les travaux de *Davis et coll. (2008)* ont montré une diminution significative du taux de T3 dans le cortex préfrontal de patients Alzheimer. La MA se caractérise également par une mort neuronale et une perte synaptique importante (*Scheff et coll., 2006*). Nous pouvons envisager d'élargir nos analyses à des marqueurs de densité synaptiques comme la synaptophysine ou encore de mettre en œuvre des mesures de potentialisation à long terme. Afin de comprendre l'origine des cytokines proinflammatoires, des marqueurs d'activation microgliale ou astrocytaire comme IbA1 ou GFAP pourraient être quantifiés.

La MA se caractérise par la présence de deux lésions caractéristiques : les plaques amyloïdes et les dégénérescences neurofibrillaires. Ces deux types de lésions sont associés à une augmentation respectivement du taux de peptide β -amyloïde et du taux de protéine Tau hyperphosphorylée. Nos résultats ont permis de mettre en évidence une augmentation du taux de ces peptides. Un autre champ d'investigation serait d'étudier l'expression de TR et/ou RC3 chez les souris transgéniques modèles de la MA, développant plusieurs lésions spécifiques ou associées de la pathologie. Une étude menée sur des souris transgéniques exprimant le peptide A β humain mais ne développant pas de plaques semble également intéressante afin d'évaluer l'effet de l'hypothyroïdie sur l'agrégation d'A β et/ou la mise en place de DNF.

Toutes ces investigations permettraient une meilleure compréhension du lien entre l'hypothyroïdie et la MA. Comme nous l'avons évoqué dans la première partie de ce manuscrit, l'hypothyroïdie est actuellement considérée comme un facteur d'exclusion du diagnostic de la MA (*McKhan et coll., 2011*) : nos résultats laissent supposer la nécessité de reconsidérer ce diagnostic. Par ailleurs, il est clairement établi que la production, le

métabolisme et l'action des HT sont altérés au cours du vieillissement, et conduisent à une augmentation de la prévalence de l'hypothyroïdie subclinique chez les personnes âgées (*Aggarwal et Razvi, 2013*). Nos résultats suggèrent qu'une prévention axée sur une supplémentation en HT permettrait de prévenir l'apparition de certaines modifications cellulaires et fonctionnelles associés à la MA. Les résultats intéressants de *Fu et coll., (2010)* ont mis en évidence, chez des souris injectées par des agrégats d'A β dans l'hippocampe, un effet bénéfique d'un traitement par la T4 sur les performances spatiales ; ce traitement diminuerait dans ce modèle murin de la MA le processus d'apoptose. Par ailleurs, en 2014, *Fu et coll.* ont également montré un effet bénéfique d'un traitement par la T4 sur les performances spatiales de souris CD-1 âgées de 24 mois, suggérant qu'une supplémentation à de faibles doses de T4 au cours du vieillissement pourrait être une stratégie de prévention potentielle.

Références bibliographiques

- Aalten, P., Verhey, F. R. J., Boziki, M., Bullock, R., Byrne, E. J., Camus, V., Caputo, M., Collins, D., De Deyn, P. P., Elina, K., Frisoni, G., Girtler, N., Holmes, C., Hurt, C., Marriott, A., Mecocci, P., Nobili, F., Ousset, P. J., Reynish, E., Salmon, E., Tsolaki, M., Vellas, B., Robert, P. H. (2007). Neuropsychiatric syndromes in dementia. Results from the European Alzheimer Disease Consortium: part I. *Dementia and Geriatric Cognitive Disorders*, 24(6), 457–63.
- Abbott, R. D., White, L. R., Ross, G. W., Masaki, K. H., Curb, J. D., Petrovitch, H. (2004). Walking and dementia in physically capable elderly men. *JAMA : The Journal of the American Medical Association*, 292, 1447–1453.
- Abrahams, S., Morris, R. G., Polkey, C. E., Jarosz, J. M., Cox, T. C., Graves, M., Pickering, A. (1999). Hippocampal involvement in spatial and working memory: a structural MRI analysis of patients with unilateral mesial temporal lobe sclerosis. *Brain and Cognition*, 41(1), 39–65.
- Adlam, A. R., Bozeat, S., Arnold, R., Watson, P., Hodges, J. R. (2004). Semantic knowledge in mild cognitive impairment and mild alzheimer's disease. *Cortex*, 24, 675-684.
- Aggarwal, N., Razvi, S. (2013). Thyroid and aging or the aging thyroid? An evidence-based analysis of the literature. *Journal of Thyroid Research*, 2013, 481287.
- Akiyama, H., Barger, S., Barnum, S., Bradt, B., Bauer, J., Cole, G. M., Cooper, N. R., Eikelenboom, M., Fiebich, B. L., Finch, C. E., Frautschi, S., Griffin, W. S. T., Hampel, H., Hull, M., Landreth, G., Lue, L. F., Mrak, R., Mackenzie, I. R., McGeer P. L., O'Banion, M. K., Pachter, J., Pasinetti, G., Plata-Salaman, C., Rogers, J., Rydel, R., Shen, Y., Streit, W., Strohmeyer, R., Tooyoma, I., Van Muiswinkel, FL., Veerhuis, R., Walker, D., Webster, S., Wegrzyniak, B., Wenk, G., Wyss-Coray, T. (2000). Inflammation and Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging*, 21, 383–421.
- Albers, M. W., Gilmore, G. C., Kaye, J., Murphy, C., Wingfield, A., Bennett, D. A., Boxer, A. L., Buchman A. S., Cruickshanks, K. J., Devanand, D. P., Duffy, C. J., Gall, C. M., Gates G. A., Granholm, A. C., Hensch, T., Holtzer, R., Hyman, B. T., Lin, F. R., McKee, A. C., Morris, J. C., Petersen, R. C., Silbert, L. C., Struble, R. G., Trojanowski, J. Q., Verghese J., Wilson, D. A., Xu, S., Zhang, L. I. (2014). At the interface of sensory and motor dysfunctions and Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia*, 1–29.
- Allannic, H. Maladie de Basedow. La thyroïde. J. Leclere, Orgiazzi, J., Rousset, B., Schlienger, J.L., Wemeau, J.L. 1992. *Paris, Expansion Scientifique Française*, 351-360
- Alonso, a, Zaidi, T., Novak, M., Grundke-Iqbal, I., Iqbal, K. (2001). Hyperphosphorylation induces self-assembly of tau into tangles of paired helical filaments/straight filaments. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98(12), 6923–8.
- Alzheimer, A. F. (mai 2006). Le livre vert de la maladie d'Alzheimer: états des lieux et perspectives.
- Alzoubi, K. H., Alkadhi, K. A. (2014). Levothyroxin replacement therapy restores hypothyroidism induced impairment of L-LTP induction: critical role of CREB. *Brain Research Bulletin*, 100, 29–37.

- Alzoubi, K. H., Gerges, N. Z., Aleisa, A. M., Alkadhi, K. (2009). Levothyroxin restores hypothyroidism-induced impairment of hippocampus-dependent learning and memory: Behavioral, electrophysiological, and molecular studies. *Hippocampus*, 19(1), 66–78.
- Alzoubi, K. H., Gerges, N. Z., & Alkadhi, K. a. (2005). Levothyroxin restores hypothyroidism-induced impairment of LTP of hippocampal CA1: electrophysiological and molecular studies. *Experimental Neurology*, 195(2), 330–41.
- Amieva, H., Jacqmin-Gadda, H., Orgogozo, J.-M., Le Carret, N., Helmer, C., Letenneur, L., Barberger-Gateau, P., Fabrigoule, C., Dartigues, J.-F. (2005). The 9 year cognitive decline before dementia of the Alzheimer type: a prospective population-based study. *Brain*, 128, 1093–101.
- Anderson, K. a, Noeldner, P. K., Reece, K., Wadzinski, B. E., Means, A. R. (2004). Regulation and function of the calcium/calmodulin-dependent protein kinase IV/protein serine/threonine phosphatase 2A signaling complex. *The Journal of Biological Chemistry*, 279(30), 31708–16.
- Andreadis, A., Brown, W. M., Kosik, K. S. (1992). Structure and novel exons of human tau gene. *Biochemistry*, 31, 10626–10633.
- Araque, A., Navarrete, M. (2010). Glial cells in neuronal network function. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*, 365(1551), 2375–81.
- Arends, Y. M., Duyckaerts, C., Rozemuller, J. M., Eikelenboom, P., Hauw, J. (2000). Microglia, amyloid and dementia in Alzheimer disease A correlative study. *Neurobiology of Aging*, 21, 39–47.
- Arendt, T. (2005). Alzheimer's disease as a disorder of dynamic brain self-organization. *Progress in Brain Research*, 147, 355–78.
- Armstrong, R. A. (2006). Plaques and tangles and the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Folia Neuropathologica*. 44(1) : 1-11
- Armstrong, R. A. (2009). The molecular biology of senile plaques and neurofibrillary tangles in Alzheimer's disease Senile plaques. *Folia Neuropathologica*, 289–299.
- Artis, A. S., Bitiktas, S., Taşkın, E., Dolu, N., Liman, N., Suer, C. (2012). Experimental hypothyroidism delays field excitatory post-synaptic potentials and disrupts hippocampal long-term potentiation in the dentate gyrus of hippocampal formation and Y-maze performance in adult rats. *Journal of Neuroendocrinology*, 24(3), 422–33.
- Baddeley, A. D., Logie, R., Bressi, S., Della Sala, S., Spinnler, H. (1986). Dementia and working memory. *The Quarterly Journal of Experimental Psychology A*, 38, 603–618.
- Baddeley, A. D., Bressi, S., Della Sala, S., Logie, R., Spinnler, H. (1991). The Decline of Working Memory in Alzheimer'S Disease. *Brain*, 114(6), 2521–2542.
- Baddeley, A. D. (1992). Working Memory. *Science*, 255(5044): 556-559

- Baddeley, A. D., Baddeley, H. A., Bucks, R. S., Wilcock, G. K. (2001). Attentional control in Alzheimer's disease. *Brain*, 124, 1492–508.
- Barberger-Gateau, P., Lambert, J.-C., Féart, C., Pérès, K., Ritchie, K., Dartigues, J.-F., Alperovitch, A. (2013). From genetics to dietetics : the contribution of epidemiology to understanding Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's Disease : Journal of Alzheimer's disease*, 33 Suppl 1, S457–63.
- Barberger-Gateau, P., Letenneur, L., Deschamps, V., Pérès, K., Dartigues, J.-F., Renaud, S. (2002). Fish, meat, and risk of dementia: cohort study. *BMJ (Clinical Research Ed.)*, 325, 932–933.
- Barkat-defradas, M., Martin, S., Duarte, L. R., Brouillet, D. (2008). Les troubles de la parole dans la maladie d'Alzheimer.
- Barnes, J., Bartlett, J. W., van de Pol, L. A., Loy, C. T., Scahill, R. I., Frost, C., Thompson, Paul., Fox, N. C. (2009). A meta-analysis of hippocampal atrophy rates in Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging*, 30(11), 1711–23.
- Bassett, J. H. D., Harvey, C. B., Williams, G. R. (2003). Mechanisms of thyroid hormone receptor-specific nuclear and extra nuclear actions. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 213, 1–11.
- Bastien, J., Rochette-Egly, C. (2004). Nuclear retinoid receptors and the transcription of retinoid-target genes. *Gene*. 17;328:1-16.
- Bauer, M., London, E. D., Silverman, D. H., Rasgon, N., Kirchheiner, J., Whybrow, P. C. (2003). Thyroid, brain and mood modulation in affective disorder: insights from molecular research and functional brain imaging. *Pharmacopsychiatry*, 36 Suppl 3, S215–S221.
- Beatty, W. W., Winn, P., Adams, R. L., Allen, E. W., Wilson, D. A., Prince, J. R., Olson, K. A., Dean, K., Littleford, D. (1994). Preserved cognitive skills in dementia of the Alzheimer type. *Archives of neurology* 51(10) : 1040–1046
- Beatty, W. W., Brumback, R. A., Vonsattel, J. P. (1997) Autopsy-proven Alzheimer disease in a patient with dementia who retained musical skill in life. *Arch Neurol*, 54 : 1448
- Beaunieux, H., Hubert, V., Witkowski, T., Pitel, A.-L., Rossi, S., Danion, J.-M., Eustache, F. (2006). Which processes are involved in cognitive procedural learning? *Memory*, 14(5) : 521–539
- Belandia, B., Latasa, M. J., Villa, A., Pascual, A. (1998). Thyroid hormone negatively regulates the transcriptional activity of the beta-amyloid precursor protein gene. *The Journal of Biological Chemistry*, 273(46), 30366–71.
- Belarbi, K., Burnouf, S., Fernandez-Gomez, F. J., Laurent, C., Lestavel, S., Figeac, M., Sultan, A., Troquier, L., Leboucher, A., Caillierez, R., Grosjean, M. E., Demeyer, D., Obriot, H., Brion, I., Barbot, B., Galas, M. C., Staels, B., Humez, S., Sergeant, N., Schraen-Maschke, S., Muhr-Tailleux, A., Hamdane, M., Buée, L., Blum, D. (2011). Beneficial effects of exercise in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease-like Tau pathology. *Neurobiology of Disease*, 43, 486–494.

- Bell, K. A., O’Riordan, K. J., Sweatt, J. D., Dineley, K. T. (2004). MAPK recruitment by beta-amyloid in organotypic hippocampal slice cultures depends on physical state and exposure time. *Journal of Neurochemistry*, 91(2), 349–61.
- Belleville, S., Bherer, L., Lepage, E., Chertkow, H., Gauthier, S. (2008). Task switching capacities in persons with Alzheimer’s disease and mild cognitive impairment. *Neuropsychologia*, 46(8), 2225–33.
- Benilova, I., Karran, E., De Strooper, B. (2012). The toxic A β oligomer and Alzheimer’s disease: an emperor in need of clothes. *Nature Neuroscience*, 15(3), 349–57.
- Benneceb, M., Gong, C. X., Grundke-Iqbal, I., Iqbal, K. (2001). Inhibition of PP-2A upregulates CaMKII in rat forebrain and induces hyperphosphorylation of tau at Ser 262/356. *FEBS Letters*, 490(1-2), 15–22.
- Benoit, M., Staccini, P., Brocker, P., Benhamidat, T., Bertogliati, C., Lechowski, L., Tortrat, D., Robert, P. H. (2003). Behavioral and psychologic symptoms in Alzheimer's disease: results of the REAL.FR study. *La revue de médecine interne*, 24, 319–324.
- Bensor, I. M., Olmos, R. D., Lotufo, P. A. (2012). Hypothyroidism in the elderly: diagnosis and management. *Clinical Interventions in Aging*, 7, 97–111.
- Benvenga, S., & Lapa, D. Trimarchi, F. (2001). Re-evaluation of the thyroxine binding to human plasma lipoproteins using three techniques. *Journal of endocrinological investigation*, (20), 24–26.
- Bernal, J. (2007). Thyroid hormone receptors in brain development and function. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab*, 3, 249–259.
- Bernal, J., Nunez, J. (1995). Thyroid hormones and brain development. *Eur J Endocrinol*, 133, 390–398.
- Berger-Dutrieux, N., Leclere, J., Orgiazzi, J., Rousset, B., Schlienger, J.L., Wemeau, J.L. (1992). La glande thyroïde normale. Histologie. *La Thyroïde. Paris, Expansion Scientifique Française*. 9-13.
- Berr, C., Vercambre, M.-N., Akbaraly, T. N. (2009). Epidemiology of Alzheimer’s disease: methodological approaches and new perspectives. *Psychol Neuropsychiatr Vieil*, 7 Spec No 1 : 7–14.
- Bi, B. T., Lin, H. B., Cheng, Y. F., Zhou, H., Lin, T., Zhang, M. Z., Li, T. J., Xu, J. P. (2012) Promotion of β -amyloid production by C-reactive protein and its implications in the early pathogenesis of Alzheimer's disease. *Neurochem Int*, 60(3):257-66.
- Bianco, A. C., Kim, B. W. (2006). Deiodinases: implications of the local control of thyroid hormone action. *Journal of Clinical Investigation*, 116(10), 2571–9.

- Bianco, A. C., Salvatore, D., Gereben, B., Berry, M. J., Larsen, P. R. (2002). Biochemistry, cellular and molecular biology, and physiological roles of the iodothyronine selenodeiodinases. *Endocrine Reviews*, 23(1):38-89
- Bird, C. M., Burgess, N. (2008). The hippocampus and memory: insights from spatial processing. *Nature Reviews Neuroscience*, 9(3), 182–94.
- Blanchard, J., Decorte, L., Noguès, X., Micheau, J. (2009). Characterization of cognition alteration across the course of the disease in APP751SL mice with parallel estimation of cerebral Abeta deposition. *Behavioural Brain Research*. 19;201(1):147-57
- Blasko, I., Apochal, A., Boeck, G., Hartmann, T., Grubeck-Loebenstein, B., Ransmayr, G. (2001). Ibuprofen decreases cytokine-induced amyloid beta production in neuronal cells. *Neurobiology of Disease*, 8(6), 1094–101.
- Blasko, I., Veerhuis, R., Stampfer-Kountchev, M., Saurwein-Teissl, M., Eikelenboom, P., Grubeck-Loebenstein, B. (2000). Costimulatory effects of interferon-gamma and interleukin-1beta or tumor necrosis factor alpha on the synthesis of Abeta1-40 and Abeta1-42 by human astrocytes. *Neurobiology of Disease*, 7 : 682–689.
- Blennow, K., Hampel, H., Weiner, M., Zetterberg H. (2010). Cerebrospinal fluid and plasma biomarkers in Alzheimer disease. *Nature Reviews Neurology*, 6 :131-144
- Boelen, a, Kwakkel, J., Alkemade, A., Renckens, R., Kaptein, E., Kuiper, G., Wiersinga, W. M., Visser, T. J. (2005). Induction of type 3 deiodinase activity in inflammatory cells of mice with chronic local inflammation. *Endocrinology*, 146(12), 5128–34.
- Boelen, A., Kwakkel, J., Thijssen-Timmer, D. C., Alkemade, A., Fliers, E., Wiersinga, W. M. (2004). Simultaneous changes in central and peripheral components of the hypothalamus-pituitary-thyroid axis in lipopolysaccharide-induced acute illness in mice. *Journal of Endocrinology*, 182, 315–323.
- Bondi, M. W., Salmon D. P., Butters, N. (1994) Neuropsychological features of memory disorders in Alzheimer's disease. *Alzheimer disease*, 41-63
- Borchelt, D. R., Ratovitski, T., van Lare, J., Lee, M. K., Gonzales, V., Jenkins, N. A., Copeland, N. G., Price, D. L., Sisodia, S. S. (1997). Accelerated amyloid deposition in the brains of transgenic mice coexpressing mutant presenilin 1 and amyloid precursor proteins. *Neuron*, 19(4), 939–45.
- Bozon, B., Davis, S., Laroche, S. (2002) Regulated transcription of the immediate-early gene Zif268: mechanisms and gene dosage-dependent function in synaptic plasticity and memory formation. *Hippocampus*, 12(5) : 570-7.
- Bozon, B., Kelly, A., Josselyn, S. a, Silva, A. J., Davis, S., Laroche, S. (2003). MAPK, CREB and zif268 are all required for the consolidation of recognition memory. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B*, 358(1432), 805–14.

- Braak, H., Braak, E. (1991). Neuropathological Staging of Alzheimer-Related Changes. *Acta Neuropathol*, 82, 239–259.
- Braak, H., Braak, E. (1996). Evolution of the neuropathology of Alzheimer's disease. *Acta Neurologica Scandinavica*, Sup, 165, 3–12.
- Braak, H., Braak, E. (1997). Diagnostic Criteria for Neuropathologic Assessment of Alzheimer's Disease. *Science*, 18, S85–S88.
- Braidy, N., Muñoz, P., Palacios, A. G., Castellano-Gonzalez, G., Inestrosa, N. C., Chung, R. S., Sachdev, P., Guillemain, G. J. (2012). Recent rodent models for Alzheimer's disease: clinical implications and basic research. *Journal of Neural Transmission*, 119(2), 173–95.
- Breen, K. C., Bruce, M., Anderton, B. H. (1991). Beta amyloid precursor protein mediates neuronal cell-cell and cell-surface adhesion. *Journal of Neuroscience Research*, 28, 90–100.
- Brion, JP., Passareiro, H., Nunez, J., Flament-Durand, J. (1985). Mise en évidence immunologique de la protéine tau au niveau des lésions de dégénérescence neurofibrillaire de la maladie d'Alzheimer. *Arch Biol (Brux)*, 95 : 229-235.
- Broedel, O., Eravci, M., Fuxius, S., Smolarz, T., Jeitner, A., Grau, H., Stoltenburg-Didinger, G., Plueckhan, H., Meinhold, H., Baumgartner, A. (2003). Effects of hyper- and hypothyroidism on thyroid hormone concentrations in regions of the rat brain. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 470–480.
- Brouillette, J., Caillierez, R., Zommer, N., Alves-Pires, C., Benilova, I., Blum, D., De Strooper, B., Buée, L. (2012). Neurotoxicity and memory deficits induced by soluble low-molecular-weight amyloid- β 1-42 oligomers are revealed in vivo by using a novel animal model. *Journal of Neuroscience*, 32(23), 7852–61.
- Brunholz, S., Sisodia, S., Lorenzo, A., Deyts, C., Kins, S., Morfini, G. (2012). Axonal transport of APP and the spatial regulation of APP cleavage and function in neuronal cells. *Experimental Brain Research*, 217(3-4):353-64
- Buaud, B., Esterle, L., Vaysse, C., Alfos, S., Combe, N., Higuieret, P., Pallet, V. (2010). A high-fat diet induces lower expression of retinoid receptors and their target genes GAP-43/neuromodulin and RC3/neurogranin in the rat brain. *The British Journal of Nutrition*, 103(12), 1720–9.
- Buée, L., Bussière, T., Buée-Scherrer, V., Delacourte, A., Hof, P. R. (2000). Tau protein isoforms, phosphorylation and role in neurodegenerative disorders. *Brain Research Reviews*, 33(1), 95–130.
- Buée-Scherrer, V., Goedert, M. (2002). Phosphorylation of microtubule-associated protein tau by stress-activated protein kinases in intact cells. *FEBS Lett*, 515, 151–154.
- Burnouf, S., Martire, A., Derisbourg, M., Laurent, C., Belarbi, K., Leboucher, A., Fernandez- Gomez, F.J., Troquier, L., Eddarkaoui, S., Grosjean, M.E., Demeyer, D., Muhr-Tailleux, A., Buisson, A., Sergeant, N., Hamdane, M., Humez, S., Popoli, P., Buée, L., Blum, D., (2013). NMDA receptor

- dysfunction contributes to impaired brain-derived neurotrophic factor-induced facilitation of hippocampal synaptic transmission in a Tau transgenic model. *Aging Cell* 12 : 11- 23.
- Butters, N., Granholm, E., Salmon, D. P., Grant, I., Wolfe, J. (1987). Episodic and semantic memory A comparison of amnesic and demented patients. *J Clin Exp Neuropsychol*, 9(5) : 479-97
- Caillé, I., Allinquant, B., Dupont, E., Bouillot, C., Langer, A., Müller, U., Prochiantz, A. (2004). Soluble form of amyloid precursor protein regulates proliferation of progenitors in the adult subventricular zone. *Development*, 131(9), 2173–81.
- Calloni, G. W., Penno, C. a, Cordova, F. M., Trentin, A. G., Neto, V. M., Leal, R. B. (2005). Congenital hypothyroidism alters the phosphorylation of ERK1/2 and p38MAPK in the hippocampus of neonatal rats. *Brain Research. Developmental Brain Research*, 154(1), 141–5.
- Calvo, R., Obregon, M. J., Onha, C. R. De, Escobar, F., & Escobar, G. M. De. (1990). Congenital hypothyroidism, as studied in rats. Crucial role of maternal thyroxine but not of 3,5,3'-triiodothyronine in the protection of the fetal brain. *J Clin Invest*, 86(3) : 889–899.
- Cargnello, M., Roux, P. P. (2011). Activation and function of the MAPKs and their substrates, the MAPK-activated protein kinases. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* : MMBR, 75(1), 50–83.
- Carrero, I., Gonzalo, M. R., Martin, B., Sanz-Anquela, J. M., Arévalo-Serrano, J., Gonzalo-Ruiz, A. (2012). Oligomers of β -amyloid protein ($A\beta$ 1-42) induce the activation of cyclooxygenase-2 in astrocytes via an interaction with interleukin-1 β , tumour necrosis factor- α , and a nuclear factor κ -B mechanism in the rat brain. *Experimental Neurology*, 236(2), 215–27.
- Chan, S., & Kilby, M. D. (2000). Thyroid hormone and central nervous system development. (1989). *J Endocrinol*, 165(1) : 1–8.
- Chang, J.W., Schumacher, E., Coulter, 2nd, P. M., Vinters, H. V., Watson, J. B., (1997). Dendritic translocation of RC3/neurogranin mRNA in normal aging, Alzheimer disease and fronto-temporal dementia. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 56 : 1105–1118
- Chang, Y. J., Chen, Y. R. (2014). The coexistence of an equal amount of Alzheimer's amyloid- β 40 and 42 forms structurally stable and toxic oligomers through a distinct pathway. *FEBS J.* 281(11) : 2674-87.
- Chassande, O. (2003). Do unliganded thyroid hormone receptors have physiological functions? *Journal of Molecular Endocrinology*, 31, 9–20.
- Chatonnet, F., Flamant, F., Morte, B. (2014). A temporary compendium of thyroid hormone target genes in brain. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1874-9399(14)00137-0
- Chaves de Souza, J. A., Nogueira, A. V., Chaves de Souza, P. P., Kim, Y. J., Silva Lobo, C., Pimentel Lopes de Oliveira, G. J., Cirelli, J. A., Garlet, G. P., Rossa, C. (2013). SOCS3 Expression Correlates with Severity of Inflammation , Expression of Proinflammatory Cytokines , and

Activation of STAT3 and p38 MAPK in LPS-Induced Inflammation In Vivo. *Mediators Inflamm.* 2013 : 650812

Chen, S.-J., Sweatt, J. D., Klann, E. (1997). Enhanced phosphorylation of the postsynaptic protein kinase C substrate RC3/neurogranin during long-term potentiation. *Brain Research*, 749(2), 181–187.

Chandrasoma, P., Taylor C. R. (1997). *Concise pathology*.

Chiamolera, M. I., Wondisford, F. E. (2009). Minireview: Thyrotropin-releasing hormone and the thyroid hormone feedback mechanism. *Endocrinology*, 150(3), 1091–6.

Cohen, R. M., Rezai-zadeh, K., Weitz, T. M., Rentsendorj, A., Gate, D., Spivak, I., Bholat, Y., Vasilevko, V., Glabe, C. G., Breunig, J. J., Rakic, P., Davtyan, H., Agadjanyan, M. G., Kepe, V., Barrio, J. R., Bannykh, S., Szekeley, C. A., Pechnick, R. N., Town, T. (2013). A transgenic Alzheimer rat with plaques, tau pathology, behavioral impairment, oligomeric A β , and frank neuronal loss. *J Neurosci*, 33(15), 6245–6256.

Cohen, R. W., Margulies, J. E., Coulter, P. M., Watson, J. B. (1993). Functional consequences of expression of the neuron-specific, protein kinase C substrate RC3 (neurogranin) in *Xenopus* oocytes. *Brain Research*, 627(1), 147–52.

Colliot, O., G. Chetelat, M. Chupin, et al. (2008). Discrimination between Alzheimer disease, mild cognitive impairment, and normal aging by using automated segmentation of the hippocampus. *Radiology*, 248(1): 194-201

Conejero-Goldberg, C., Gomar, J. J., Bobes-Bascaran, T., Hyde, T. M., Kleinman, J. E., Herman, M. M., Chen, S., Davies, P., Goldberg, T. E. (2014). APOE2 enhances neuroprotection against Alzheimer's disease through multiple molecular mechanisms. *Molecular Psychiatry*, 1–8.

Conrad, C. D., Galea, L. a, Kuroda, Y., McEwen, B. S. (1996). Chronic stress impairs rat spatial memory on the Y maze, and this effect is blocked by tianeptine pretreatment. *Behavioral Neuroscience*, 110(6), 1321–34.

Constantinou, C., Margarity, M., Valcana, T. (2005). Region-specific effects of hypothyroidism on the relative expression of thyroid hormone receptors in adult rat brain. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 278(1-2), 93–100.

Contreras-Jurado, C., Pascual, A. (2012). Thyroid hormone regulation of APP (β -amyloid precursor protein) gene expression in brain and brain cultured cells. *Neurochemistry International*, 60(5):484-7

Cooke, G., Mullally, S., Correia, N., O'Mara, S., Gibney, J. (2014). Hippocampal Volume is Decreased in Adult-Onset Hypothyroidism. *Thyroid*, 24(3):433-40

Cooper, D. S. (2005). Antithyroid drugs. *The New England Journal of Medicine*, 352(9), 905–17.

- Correia, N., Mullally, S., Cooke, G., Tun, T. K., Phelan, N., Feeney, J., Fitzgibbon, M., Boran, G., O'Mara, S., Gibney, J. (2009). Evidence for a specific defect in hippocampal memory in overt and subclinical hypothyroidism. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 94(10), 3789–97.
- Cortés, C., Eugenin, E., Aliaga, E., Carreño, L. J., Bueno, S. M., Gonzalez, P. A., Gayol, S., Naranjo, D., Noches, V., Marassi, M. P., Rosenthal, D., Jadue, C., Ibarra, P., Keitel, C., Wohlk, N., Court, F., Kalergis, A. M., Riedel, C. A. (2012). Hypothyroidism in the adult rat causes incremental changes in brain-derived neurotrophic factor, neuronal and astrocyte apoptosis, gliosis, and deterioration of postsynaptic density. *Thyroid*, 22(9), 951–63.
- Costa-e-Sousa, R. H., Hollenberg, A. N. (2012). Minireview: The neural regulation of the hypothalamic-pituitary-thyroid axis. *Endocrinology*, 153(9), 4128–35.
- Coustaut, M., Pallet, V., Garcin, H., Higuieret, P. (1996). The influence of dietary vitamin A on triiodothyronine, retinoic acid, and glucocorticoid receptors in liver of hypothyroid rats. *The British Journal of Nutrition*, 76, 295–306.
- Craig-Schapiro, R., Fagan, A. M., Holtzman, D. M. (2009). Biomarkers of Alzheimer's disease. *Neurobiology of Disease*, 35(2):128-40
- Crantz FR, Silva JE, Larsen PR (1982) An analysis of the sources and quantity of 3,5,3-triiodothyronine specifically bound to nuclear receptors in rat cerebral cortex and cerebellum. *Endocrinology* 110:367–375.
- Curtis, C. E. (2006). Prefrontal and parietal contributions to spatial working memory. *Neuroscience*, 139(1), 173–80.
- D'Andrea, M. R., Cole, G. M., Ard, M. D. (2003). The microglial phagocytic role with specific plaque types in the Alzheimer disease brain. *Neurobiology of Aging*, 25(5), 675–83.
- Dai, G., Levy, O., Carrasco, N. (1996). Cloning and characterization of the thyroid iodide transporter. *Nature*; 379 : 458–60.
- Daimon, C. M., Chirdon, P., Maudsley, S., Martin, B. (2013). The role of thyrotropin releasing hormone in aging and neurodegenerative disease. *Am J Alzheimers Dis*, 1(1).
- Dartigues, J., Berr, C., Helmer, C., Letenneur, L. (2002). Épidémiologie de la maladie d'Alzheimer, 18. *Medecine/sciences*, 18 : 737-43
- Davies, C. A., Mann, D. M. A., Sumpter, P. Q., Yates, P. O. (1987). A quantitative morphometric analysis of the neuronal and synaptic content of the frontal and temporal cortex in patients with Alzheimer's disease. *Journal of the Neurological Sciences*, 78(2), 151–164.
- Daviglus, M. L., Plassman, B. L., Pirzada, A., Bell, C. C., Bowen, P. E., Burke, J. R., Connolly, E. S., Dunbar-Jacob, J. M., Granieri, E. C., McGarry, K., Patel, D., Trevisan, M., Williams, J. W. (2011). Risk factors and preventive interventions for Alzheimer disease : state of the science. *Archives of Neurology*, 68, 1185–1190.

- Davis, J., Podolanczuk, A., Donahue, J., Stopa, E., Hennessey, J., Luo, L., Lim, Y., Stern, A., (2008). Thyroid hormone levels in the prefrontal cortex of post-mortem brains of Alzheimer's disease patients. *Curr. Aging Sci.*, 1 : 175–181
- Davis, S., Vanhoutte, P., Pages, C., Caboche, J., Laroche, S. (2000). The MAPK/ERK cascade targets both Elk-1 and cAMP response element-binding protein to control long-term potentiation-dependent gene expression in the dentate gyrus in vivo. *Journal of Neuroscience*, 20(12), 4563–72.
- De Felice, F. G., Lourenco, M. V, Ferreira, S. T. (2014). How does brain insulin resistance develop in Alzheimer's disease? *Alzheimer's Dementia*, 10(1 Suppl) : S26–32.
- Decherf, S., Seugnet, I., Kouidhi, S., Lopez-Juarez, A., Clerget-Froidevaux, M.-S., Demeneix, B. A. (2010). Thyroid hormone exerts negative feedback on hypothalamic type 4 melanocortin receptor expression. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107(9), 4471–6.
- Degos, V., Chhor, V., Gressens, P., Mantz, J. (2009). Neuro-inflammation aiguë et stratégies neuroprotectrices. *Réanimation*, 18(7), 556–565.
- Dehmelt, L., Halpain, S. (2004). Protein family review The MAP2 / Tau family of microtubule-associated proteins. *Genome Biol*, 1–10.
- Delatour, B., Epelbaum, S., Petiet, A., Dhenain, M. (2010). In vivo imaging biomarkers in mouse models of Alzheimer's disease: are we lost in translation or breaking through? *International Journal of Alzheimer's Disease*, 30 ; 2010.
- Demars, M. P., Hollands, C., Zhao, K. D. T., Lazarov, O. (2013). Soluble amyloid precursor protein- α rescues age-linked decline in neural progenitor cell proliferation. *Neurobiology of Aging*, 34(10) : 2431–40.
- Deme, D., Pommier, J., Nunez, J. (1978). Specificity of thyroid hormone synthesis. *Biochim Biophys Acta*, 540(1) : 73–82.
- Dentice, M., Salvatore, D. (2011). Deiodinases: the balance of thyroid hormone: local impact of thyroid hormone inactivation. *Journal of Endocrinology*, 209(3) : 273–82.
- Derouesné, C. (2008). La maladie d' Alzheimer : regards sur le présent à la lumière du passé. *Psychol NeuroPsychiatr Vieil*, 6(2), 115–128.
- Deshpande, V., Venkatesh, S. G. (1999). Thyroglobulin, the prothyroid hormone: chemistry, synthesis and degradation. *Biochimica and Biophysica Acta*, 1430(2), 157–78.
- De Vito, P., Incerpi, S., Pedersen, J. Z., Luly, P., Davis, F. B., Davis, P. J. (2011). Thyroid hormones as modulators of immune activities at the cellular level. *Thyroid*, 21(8):879-90.
- Dewachter, I., van Dorpe, J., Spittaels, K., Tesseur, I., Van Den Haute, C., Moechars, D., Van Leuven, F. (2000). Modeling Alzheimer's disease in transgenic mice: effect of age and of Presenilin1 on

- amyloid biochemistry and pathology in APP/London mice. *Experimental Gerontology*, 35(6-7) : 831–841.
- Diamond, D. M., Park, C. R., Heman, K. L., Rose, G. M. (1999). Exposing rats to a predator impairs spatial working memory in the radial arm water maze. *Hippocampus*, 9(5), 542–52.
- Díez-Guerra, F. J. (2010). Neurogranin, a link between calcium/calmodulin and protein kinase C signaling in synaptic plasticity. *IUBMB Life*, 62(8), 597–606.
- Dilli, D., Dilmen, U. (2012). The role of interleukin-6 and C-reactive protein in non-thyroidal illness in premature infants followed in neonatal intensive care unit. *Journal of Clinical Research in Pediatric Endocrinology*, 4(2), 66–71.
- Dimitriadis, G., Parry-Billings, M., Bevan, S., Leighton, B., Krause, U., Piva, T., Tegos, K., Challiss, R. A., Wegener, G., Newsholme, E. A. (1997). The effects of insulin on transport and metabolism of glucose in skeletal muscle from hyperthyroid and hypothyroid rats. *Eur J Clin Invest*, 27 : 475–483.
- Dinarello, C. A. (2000). Proinflammatory Cytokines. *Chest*, 118(2):503-8.
- Dineley, K. T., Kaye, R., Neugebauer, V., Fu, Y., Zhang, W., Reese, L. C., Tagliamonte, G. (2010). Amyloid-beta oligomers impair fear conditioned memory in a calcineurin-dependent fashion in mice. *Journal of Neuroscience Research*, 88(13), 2923–32.
- Dineley, K. T., Westerman, M., Bui, D., Bell, K., Ashe, K. H., Sweatt, J. D. (2001). Beta-amyloid activates the mitogen-activated protein kinase cascade via hippocampal alpha7 nicotinic acetylcholine receptors: In vitro and in vivo mechanisms related to Alzheimer's disease. *J Neurosci*, 21(12), 4125–4133.
- Distefano, J. J., Nguyen, T. T., Yen, Y. M. (1993). Transfer kinetics of 3,5,3'-triiodothyronine and thyroxine from rat blood to large and small intestines, liver, and kidneys in vivo. *Endocrinology*, 132 : 1735–1744.
- Dizdarevic-Bostandic A1, Burekovic A, Velija-Asimi Z, Godinjak A. (2013). Inflammatory markers in patients with hypothyroidism and diabetes mellitus type 1. *Med Arch*, 67(3) : 160-1.
- Dong, J., Liu, W., Wang, Y., Hou, Y., Xi, Q., Chen, J. (2009). Developmental iodine deficiency resulting in hypothyroidism reduces hippocampal ERK1/2 and CREB in lactational and adolescent rats. *BMC Neuroscience*, 10, 149.
- Drubin, D. G., Kirschner, M. W. (1986). Tau protein function in living cells. *Journal of Cell Biology*, 103(6 Pt 2) : 2739–46.
- Dubois, B., Feldman, H. H., Jacova, C., Cummings, J. L., Dekosky, S. T., Barberger-Gateau, P., Delacourte, A., Frisoni, G., Fox, N. C., Galasko, D., Gauthier, S., Hampel, H., Jicha, G. A., Meguro, K., O'Brien, J., Pasquier, F., Robert, P., Rossor, M., Salloway, S., Sarazin, M., de Souza, L. C., Stern, Y., Visser, P. J., Scheltens, P. (2010). Revising the definition of Alzheimer's disease: a new lexicon. *Lancet Neurology*, 9(11) : 1118–27.

- Duong, T., Nikolaeva, M., Acton, P. J. (1997). C-reactive protein-like immunoreactivity in the neurofibrillary tangles of Alzheimer's disease. *Brain Research*, 749 : 152–156.
- Duyckaerts, C., Dickson, D. (2003) Neuropathology of Alzheimer's disease. *Neuropath Press*, 47-65
- Duyckaerts, C., Potier, M. C., Delatour, B. (2008). Alzheimer disease models and human neuropathology: similarities and differences. *Acta neuropathologica*, 115 : 5–38.
- Dyrks, T., Weidemann, A., Multhaupt, G., Salbaum, J. M., Lemaire, H. G., Kang, J., Müller-Hill, B., Masters, C. L., Beyreuther, K. (1988). Identification, transmembrane orientation and biogenesis of the amyloid A4 precursor of Alzheimer's disease. *The EMBO Journal*, 7 : 949–957.
- Eikelenboom P, et al. (2006) The significance of neuroinflammation in understanding Alzheimer's disease. *J Neural Transm.* 113:1685–95.
- Enderlin, V., Vallortigara, J., Alfos, S., Féart, C., Pallet, V., Higuieret, P. (2004). Retinoic acid reverses the PTU related decrease in neurogranin level in mice brain. *Journal of Physiology and Biochemistry*, 60, 191–198.
- Engelhart, M. J., Geerlings, M. I., Ruitenberg, A., van Swieten, J. C., Hofman, A., Witteman, J. C. M., Breteler, M. M. B. (2002). Dietary intake of antioxidants and risk of Alzheimer disease. *JAMA : The Journal of the American Medical Association*, 287 : 3223–3229.
- Enzinger, C., Fazekas, F., Matthews, P. M., Ropele, S., Schmidt, H., Smith, S., Schmidt, R. (2005). Risk factors for progression of brain atrophy in aging: six-year follow-up of normal subjects. *Neurology*, 64 : 1704–1711.
- Escobar-Morreale, H. F., Obregón, M. J., Escobar del Rey, F., Morreale de Escobar, G. (1995). Replacement therapy for hypothyroidism with thyroxine alone does not ensure euthyroidism in all tissues, as studied in thyroidectomized rats. *The Journal of Clinical Investigation*, 96(6) : 2828–38.
- Eustache, F., Desgranges, B. Concepts et modèles en neuropsychologie de la mémoire: entre théorie et pratique clinique. *Solal, marseille*, 2003 : 9-45
- Euston, D. R., Gruber, A. J., McNaughton, B. L. (2013). The role of medial prefrontal cortex in memory and decision making. *Neuron*, 20;76(6):1057-70.
- Evans, D. A., Funkenstein, H., Albert, M. S., Scherr, P. A., Cook, N. R., Chown, M. J., Hebert, L. E., Hennekens, C. H., Taylor, J. O. (1989). Prevalence of Alzheimer's disease in a community population of older persons: higher than previously reported. *JAMA*, 262 : 2551–2556.
- Evans, M. C., Barnes, J., Nielsen, C., Kim, L. G., Clegg, S. L., Blair, M., Leung, K. K., Douiri, A., Boyes, R. G., Ourselin, S., Fox, N. C. (2010). Volume changes in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment: cognitive associations. *European Radiology*, 20(3) : 674–82.
- Evin, G., Li, Q.-X. (2012). Platelets and Alzheimer's disease: Potential of APP as a biomarker. *World Journal of Psychiatry*, 2(6) : 102–13.

- Faber-langendoen, K., Morris, J. C., Knesevich, X. J. W., Labarge, E., Miller, J. P., Berg, L. (1988). Aphasia in Senile Dementia of the Alzheimer Type. *Ann Neurol*, 23(4):365-70
- Fabrigoule, C. (2002). Do leisure activities protect against Alzheimer's disease? *Lancet Neurol* 1(1): 11
- Farris, W., Mansourian, S., Chang, Y., Lindsley, L., Eckman, E. a, Frosch, M. P., Eckman, C. B., Tanzi, R. E., Selkoe, D. J., Guenette, S. (2003). Insulin-degrading enzyme regulates the levels of insulin, amyloid beta-protein, and the beta-amyloid precursor protein intracellular domain in vivo. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 100(7) : 4162–7.
- Féart, C., Mingaud, F., Enderlin, V., Husson, M., Alfos, S., Higuieret, P., Pallet, V. (2005). Differential effect of retinoic acid and triiodothyronine on the age-related hypo-expression of neurogranin in rat. *Neurobiology of Aging*, 26(5) : 729–38.
- Féart, C., Pallet, V., Boucheron, C., Higuieret, D., Alfos, S., Letenneur, L., Dartigues, J. F., Higuieret, P. (2005). Aging affects the retinoic acid and the triiodothyronine nuclear receptor mRNA expression in human peripheral blood mononuclear cells. *European Journal of Endocrinology*, 152(3) : 449–58.
- Fedorov, N. B., P. Pasinelli, A. B. Oestreicher, P. N. DeGraan and K. G. Reymann. (1995). Antibodies to postsynaptic PKC substrate neurogranin prevent long-term potentiation in hippocampal CA1 neurons. *Eur J Neurosci*. 7; 4 : 819-22
- Feldman, H. H., Woodward, M. (2005). The staging and assessment of moderate to severe Alzheimer disease. *Neurology*, 65 : S10-S17
- Fellous, A., Lennon, A. M., Francon, J., Nunez, J. (1979). Thyroid Hormones and Neurotubule Assembly in vitro during Brain Development. *European Journal of Biochemistry*, 101(2), 365–76.
- Fernandes, R. S., Alvarenga, N. B., Silva, T. I., Rocha, F. F. (2011). Cognitive dysfunction in patients with subclinical hypothyroidism. *Arq Bras Endocrinol Metabol*. 55(3) : 224-8.
- Fernandes, A., Miller-Fleming, L., Pais, T. F. (2014). Microglia and inflammation: conspiracy, controversy or control? *Cellular and Molecular Life Sciences* 71(20):3969-85
- Fillit, H., Ding, W. H., Buee, L., Kalman, J., Altstiel, L., Lawlor, B., Wolf-Klein, G. (1991). Elevated circulating tumor necrosis factor levels in Alzheimer's disease. *Neuroscience Letters*, 129 : 318–320.
- Findeis, M. A. (2007). The role of amyloid beta peptide 42 in Alzheimer's disease. *Pharmacol Ther*, 116(2): 266-86.
- Flamant, F., & Samarut, J. (2003). Thyroid hormone receptors: Lessons from knockout and knock-in mutant mice. *Trends in Endocrinology and Metabolism*, 14(2):85-90

- Flanagan, K. J., Copland, D. a, Chenery, H. J., Byrne, G. J., Angwin, A. J. (2013). Alzheimer's disease is associated with distinctive semantic feature loss. *Neuropsychologia*, 51(10), 2016–25.
- Fliers, E., Alkemade, A., Wiersinga, W. M., Swaab, D. F. (2006a). Chapter 11: Hypothalamic thyroid hormone feedback in health and disease. *Progress in Brain Research*, 153 : 189-207
- Fliers, E., Unmehopa, U. A, Alkemade, A. (2006b). Functional neuroanatomy of thyroid hormone feedback in the human hypothalamus and pituitary gland. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 251(1-2), 1–8.
- Forette, F., Seux, M. L., Staessen, J. A., Thijs, L., Birkenhäger, W. H., Babarskiene, M. R., Babeanu, S., Bossini, A., Gil-Extremiera, B., Girerd, X., Laks, T., Lilov, E., Moissejev, V., Tuomilehto, J., Vanhanen, H., Webster, J., Yodfat, Y., Fagard, R. (1998). Prevention of dementia in randomised double-blind placebo-controlled Systolic Hypertension in Europe (Syst-Eur) trial. *Lancet*, 352, 1347–1351.
- Forette, F., M. L., Seux, J. A., Staessen, Thijs L, Babarskiene, M. R., Babeanu, S., Bossini, A., Fagard R., Gil-Extremiera, B., Laks, T., Kobalava, Z., Sarti, C., Tuomilehto, J., Vanhanen, H., Webster, J., Yodfat, Y., Birkenhäger, W.H. (2002). The prevention of dementia with antihypertensive treatment: new evidence from the Systolic Hypertension in Europe (Syst-Eur) study. *Arch Intern Med* 162(18) : 2046-52.
- Fox, N.C., Scahill, R.I., Crum, W.R., Rossor, M.N., 1999. Correlation between rates of brain atrophy and cognitive decline in AD. *Neurology*, 52 :1687–1689.
- Fox, N. C., & Schott, J. M. (2004). Rapid review Imaging cerebral atrophy: normal ageing to Alzheimer ' s disease, 392–394.
- Francis, R., McGrath, G., Zhang, J., Ruddy, D. a, Sym, M., Apfeld, J., Nicoll, M., Maxwell, M., Hai, B., Ellis, M. C., Parks, A. L., Xu, W., Li, J., Gurney, M., Myers, R. L., Himes, C. S., Hiebsch, R., Ruble, C., Nye, J. S., Curtis, D. (2002). aph-1 and pen-2 are required for Notch pathway signaling, gamma-secretase cleavage of betaAPP, and presenilin protein accumulation. *Developmental Cell*, 3(1) : 85–97.
- Fraser, P. E., Nguyen, J. T., Inouye, H., Surewicz, S. J. W. K., Selkoe, D. J., Podlisny, M. B., & Kirschner, D. A. (1992). Fibril Formation by Primate, Rodent, and Dutch-Hemorrhagic Analogues of Alzheimer Amyloid β -Protein. *Biochemistry*, 31, 10716-10723.
- Fratiglioni, L., L. J. Launer, K. Andersen, Breteler, M. M., Copeland, J. R., Dartigues, J. F., Lobo, A., Martinez-Lage J, Soininen H, Hofman A. (2000). "Incidence of dementia and major subtypes in Europe: A collaborative study of population-based cohorts. Neurologic Diseases in the Elderly Research Group." *Neurology*, 54(11 Suppl 5): S10-5.
- Freitas, B. C. G., Gereben, B., Castillo, M., Kalló, I., Zeöld, A., Egri, P., Liposits, Z., Zavacki, A. M., Maciel, R. M., Jo, S., Singru, P., Sanchez, E., Lechan, R. M., Bianco, A. C. (2010). Paracrine signaling by glial cell-derived triiodothyronine activates neuronal gene expression in the rodent brain and human cells. *The Journal of Clinical Investigation*, 120(6), 2206–17.

- Frisoni, G. B., Fox, N. C., Jack, C. R., Scheltens, P., Thompson, P. M. (2010). The clinical use of structural MRI in Alzheimer disease. *Nature Reviews. Neurology*, 6 : 67–77.
- Fu, A. L., Zhou, C. Y., Chen, X. (2010). Thyroid hormone prevents cognitive deficit in a mouse model of Alzheimer's disease. *Neuropharmacology*, 58(4-5) : 722–9.
- Fu, A., Zhou, R., Xu, X. (2014). The synthetic thyroid hormone, levothyroxine, protects cholinergic neurons in the hippocampus of naturally aged mice. *Neural Regeneration Research*, 9(8) : 864–71.
- Fuji, S., Kim, S. W., Fukuda, T., Mori, S., Yamasaki, S., Morita-Hoshi, Y., Ohara-Waki, F., Heike, Y., Tobinai, K., Tanosaki, R., Takaue, Y. (2008). Preengraftment serum C-reactive protein (CRP) value may predict acute graft-versus-host disease and nonrelapse mortality after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*, 14 : 510–517.
- Fukutani, Y., Cairns, N. J., Shiozawa, M., Sasaki, K., Sudo, S., Isaki, K., Lantos, P. L. (2000). Neuronal loss and neurofibrillary degeneration in the hippocampal cortex in late-onset sporadic Alzheimer's disease. *Psychiatry and Clinical Neurosciences*, 54 : 523–529.
- Gadient, R. A., Otten, U. H. (1997). IL-6—a molecule with both beneficial and destructive potentials. *Prog Neurobiol* 52:379–90.
- Ganguli, M., Burmeister, L. A., Seaberg, E. C., Belle, S., DeKosky, S. T. (1996). Association between dementia and elevated TSH: A community-based study. *Biological Psychiatry*, 40 : 714–725.
- Garlanda, C., Dinarello, C. A, Mantovani, A. (2013). The interleukin-1 family : back to the future. *Immunity*, 39(6) : 1003–18.
- Geffner, D. L., Azukizawa, M., Hershman, J. M. (1975). Propylthiouracil Blocks Extrathyroidal Conversion of Thyroxine to Triiodothyronine and Augments Thyrotropin Secretion in Man. *Journal of Clinical Investigation*, 55 : 224-229
- George, A. J., Gordon, L., Beissbarth, T., Koukoulas, I., Holsinger, R. M., Perreau, V., Cappai, R., Tan, S. S., Masters, C. L., Scott, H. S., Li, Q. X. (2010). A serial analysis of gene expression profile of the Alzheimer's disease Tg2576 mouse model. *Neurotox Res*, 17(4):360-79.
- Gereben, B., Zeöld, A, Dentice, M., Salvatore, D., Bianco, A. C. (2008). Activation and inactivation of thyroid hormone by deiodinases: local action with general consequences. *Cellular and Molecular Life Sciences : CMLS*, 65(4) : 570–90.
- Gerendasy, D. D. and J. G. Sutcliffe. (1997). RC3/neurogranin, a postsynaptic calpacitin for setting the response threshold to calcium influxes. *Mol Neurobiol*, 2 : 131-63
- Gerges, N. Z., Stringer, J. L., Alkadhi, K. A. (2001). Combination of hypothyroidism and stress abolishes early LTP in the CA1 but not dentate gyrus of hippocampus of adult rats. *Brain Research*, 922(2) : 250–260.

- Ghasemi, R., Zarifkar, A., Rastegar, K., Maghsoudi, N., Moosavi, M. (2014). Repeated intra-hippocampal injection of beta-amyloid 25–35 induces a reproducible impairment of learning and memory: considering caspase-3 and MAPKs activity. *European Journal of Pharmacology*, 726 : 33–40.
- Ghenimi, N., Alfos, S., Redonnet, A., Higuieret, P., Pallet, V., Enderlin, V. (2010). Adult-onset hypothyroidism induces the amyloidogenic pathway of amyloid precursor protein processing in the rat hippocampus. *Journal of Neuroendocrinology*, 22(8) : 951–9.
- Ghosh, S., Wu, M. D., Shaftel, S. S., Kyrkanides, S., LaFerla, F. M., Olschowka, J. A., O'Banion, M. K. (2013). Sustained interleukin-1 β overexpression exacerbates tau pathology despite reduced amyloid burden in an Alzheimer's mouse model. *Journal of Neuroscience*, 33(11) : 5053–64.
- Goedert, M., Wischik, C., Crowther, R., Walker, J., Klug, A. (1988). Cloning and sequencing of the cDNA encoding a core protein of the paired helical filament of Alzheimer disease: identification as the microtubule-associated protein tau. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 85 : 4051–4055.
- Götz, J., Chen, F., van Dorpe, J., Nitsch, R. M. (2001). Formation of neurofibrillary tangles in P3011 tau transgenic mice induced by A β 42 fibrils. *Science*, 293(5534) : 1491–5.
- Gralle, M., Ferreira, S. T. (2007). Structure and functions of the human amyloid precursor protein: the whole is more than the sum of its parts. *Progress in Neurobiology*, 82(1) : 11–32.
- Greene, J. D. W., Baddeley, A. D., Hodges, J. R. (1995). Analysis of the episodic memory deficit in early Alzheimer's disease: Evidence from the doors and people test. *Neuropsychologia*, 34(6) : 537–551.
- Griffin, W. S., Stanley, L. C., Ling, C., White, L., MacLeod, V., Perrot, L. J., White, C. L., Araoz, C. (1989). Brain interleukin 1 and S-100 immunoreactivity are elevated in Down syndrome and Alzheimer disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 86(19) : 7611–5.
- Grober, E., Dickson, D., Sliwinski, M. J., Buschke, H., Katz, M., Crystal, H. (1999). Memory and mental status correlates of modified Braak staging. *Neurobiology of Aging*, 20 : 573–579.
- Gruber, S., Pinker, K., Riederer, F., Chmelík, M., Stadlbauer, A., Bittšanský, M., Mlynárik, V., Frey R., Serles, W., Bodamer, O., Moser, E. (2008). Metabolic changes in the normal ageing brain: Consistent findings from short and long echo time proton spectroscopy. *European Journal of Radiology*, 68 : 320–327.
- Grundke-Iqbal, I., Iqbal, K., Tung, Y. C., Quinlan, M., Wisniewski, H. M., Binder, L. I. (1986). Abnormal phosphorylation of the microtubule-associated protein tau in Alzheimer cytoskeletal pathology. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 83(13) : 4913–7.

- Grundman, M., Corey-Bloom, J., Jernigan, T., Archibald, S., Thal, L. J. (1996). Low body weight in Alzheimer's disease is associated with mesial temporal cortex atrophy. *Neurology*, 46(6), 1585–1591.
- Guadaño-Ferraz, A., Escámez, M. J., Rausell, E., Bernal, J. (1999). Expression of type 2 iodothyronine deiodinase in hypothyroid rat brain indicates an important role of thyroid hormone in the development of specific primary sensory systems. *Journal of Neuroscience*, 19 : 3430–3439.
- Guadano-ferraz, A., Morte, B., Vargiu, P., Bernal, J. (1997). Transcriptional induction of RC3/neurogranin by thyroid hormone : differential neuronal sensitivity is not correlated with thyroid hormone receptor distribution in the brain. *Brain Res Mol Brain Res*, 49(1-2) : 37–44.
- Gulseren, S., Gulseren, L., Hekimsoy, Z., Cetinay, P., Ozen, C., Tokatlioglu, B. (2006). Depression, anxiety, health-related quality of life, and disability in patients with overt and subclinical thyroid dysfunction. *Archives of Medical Research*, 37(1) : 133–9.
- Goumaz, M. O., Burger, A. G. (1992). Production, distribution et catabolisme des hormones thyroïdiennes. La Thyroïde. J. Leclere, Orgiazzi, J., Rousset, B., Schlienger, J.L., Wemeau, J.L. *Paris, Expansion Scientifique Française*, 104-110
- Haass, C., Schlossmacher, M. G., Hung, A. Y., Vigo-Pelfrey, C., Mellon, A., Ostaszewski, B. L., Lieberburg, I., Koo, E. H., Schenk, D., Teplow, D. B., Selkoe, D. J. (1992). Amyloid β -peptide is produced by cultured cells during normal metabolism. *Nature*, 359(6393) : 322-5
- Halpern, J.-P., Boyages, S. C., Maberly, G. F., Collins, J. K., Eastman, C. J., Morris, J. G. L. (1991). the Neurology of Endemic Cretinism. *Brain*, 114(2) : 825–841.
- Hardy, J., Higgins, G. (1992). Alzheimer's disease: the amyloid cascade hypothesis. *Science*, 256(5054) : 184–185.
- Harvey, C. B., Williams, G. R. (2002). Mechanism of thyroid hormone action. *Thyroid*, 12(6) : 441–6.
- Hasegawa, M., Kida, I., & Wada, H. (2010). A Volumetric Analysis of the Brain and Hippocampus of Rats Rendered Perinatal Hypothyroid. *Neuroscience Letters*, 479(3) : 240–244.
- Helmer, C., Damon, D., Letenneur, L., Fabrigoule, C., Barberger-Gateau, P., Lafont, S., Fuhrer, R., Antonucci, T., Commenges, D., Orgogozo, J. M., Dartigues, J. F. (1999). Marital status and risk of Alzheimer's disease: a French population-based cohort study. *Neurology*, 53 : 1953–1958.
- Helmes, E., Østbye, T. (2002). Beyond memory impairment Cognitive changes in Alzheimer's disease. *Arch Clin Neuropsychol*, 17(2) : 179-93.
- Henderson, V. W., Mack, W., Williams, B. W. (1989). Spatial disorientation in Alzheimer's disease. *Archives of Neurology*, 46 : 391–394.
- Heneka, M. T., O'Banion, M. K. (2007). Inflammatory processes in Alzheimer's disease. *J Neuroimmunol*, 184(1-2) : 69-91.

- Hennemann, G., Docter, R., Friesema, E. C. H., Jong, M. D. E., Krenning, E. P., Visser, T. J. (2001). Plasma membrane transport of thyroid hormones and its role in thyroid hormone metabolism and bioavailability. *Endocr Rev*, 22(4) : 451–476.
- Heuer, H. (2007). The importance of thyroid hormone transporters for brain development and function. Best Practice & Research. *Clinical Endocrinology & Metabolism*, 21(2) : 265–76.
- Hickman, S. E., Allison, E. K., & El Khoury, J. (2008). Microglial dysfunction and defective beta-amyloid clearance pathways in aging Alzheimer's disease mice. *Journal of Neuroscience*, 28(33) : 8354–60.
- Hildreth, K.L., Van Pelt, R. E., Schwartz, R. S. (2012) Obesity, insulin resistance, and Alzheimer's disease. *Obesity (Silver Spring)*, 20(8):1549-57.
- Hiroi, Y., Kim, H.-H., Ying, H., Furuya, F., Huang, Z., Simoncini, T., Noma, K., Ueki, K., Nguyen, N.H., Scanlan, T. S., Moskowitz, M. A., Cheng, S. Y., Liao, J. K. (2006). Rapid nongenomic actions of thyroid hormone. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103 : 14104–14109.
- Hodges, J. R., Salmon, D. P., Butters, N. (1992). Semantic memory impairment in Alzheimer's disease: Failure of access or degraded knowledge? *Neuropsychologia*, 30(4), 301–314.
- Hodin, R. A., Lazar, M. A., Chin, W. W. (1990). Differential and Tissue-specific Regulation of the Multiple Rat c-erbA Messenger RNA Species by Thyroid Hormone. *J Clin Invest*, 85(1) : 101-5.
- Hodin, R. A., Lazar, M. A., Wintman, B. I., Darling, D. S., Koenig, R. J., Larsen, P. R., Moore, D. D., Chin, W. W. (1989). Identification of a thyroid hormone receptor that is pituitary-specific. *Science*, 244 : 76–79.
- Hoffman, L., Chandrasekar, A., Wang, X., Putkey, J. A., Waxham, M. N. (2014). Neurogranin alters the structure and calcium binding properties of calmodulin. *Journal of Biological Chemistry*, 289(21) : 14644–55.
- Hooper, C., Killick, R., Lovestone, S. (2008). The GSK3 hypothesis of Alzheimer's disease. *Journal of Neurochemistry*, 104(6) : 1433–9.
- Horn, S., Heuer, H. (2010). Thyroid hormone action during brain development: more questions than answers. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 315(1-2) : 19–26.
- Huang, K.-P., Huang, F. L., Jäger, T., Li, J., Reymann, K. G., Balschun, D. (2004). Neurogranin/RC3 enhances long-term potentiation and learning by promoting calcium-mediated signaling. *Journal of Neuroscience*, 24(47) : 10660–9.
- Huang, S. A., Bianco, A. C. (2011). Reawakened interest in type III iodothyronine deiodinase in critical illness and injury. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab*, 4(3) : 148-55.
- Huang, Y.-H., Tsai, M.-M., Lin, K.-H. (2008). Thyroid hormone dependent regulation of target genes and their physiological significance. *Chang Gung Medical Journal*, 31(4) : 325–34.

- Hughes, K., Nikolakaki, E., Plyte, S. E., Totty, N. F., Woodgett, J. R. (1993). Modulation of the glycogen synthase kinase-3 family by tyrosine phosphorylation. *EMBO J.* 12(2) : 803–808.
- Hüll, M., Fiebich, B. L., Schumann, G., Lieb, K. (1999). Anti-inflammatory substances – a new therapeutic option in Alzheimer’s disease. *Drug Discov Today*, 4(6) : 275–282.
- Hur, E.-M., Zhou, F.-Q. (2010). GSK3 signalling in neural development. *Nature Reviews. Neuroscience*, 11(8) : 539–51.
- Huse, J. T., Doms, R. W. (2001). Neurotoxic Traffic: Uncovering the Mechanics of Amyloid Production in Alzheimer’s Disease. *Traffic*, 2(2), 75–81.
- Husson, M., V. Enderlin, S. Alfos, C. Boucheron, V. Pallet and P. Higuieret. (2004). Expression of neurogranin and neuromodulin is affected in the striatum of vitamin A-deprived rats. *Brain Res Mol Brain Res*, 123 ;1-2 : 7-17
- Hüttenbrink, K.-B., Hummel, T., Berg, D., Gasser, T., Hähner, A. (2013). Olfactory dysfunction: common in later life and early warning of neurodegenerative disease. *Deutsches Ärzteblatt International*, 110(1-2) : 1–7.
- Igo, R. P., Mahoney, C. P. (1964). Studies of the biosynthesis of thyroxine. I. purification and properties of a particulate iodide of the biosynthesis of thyroxine. *J Biol Chem*, 239 : 1893-7
- Iniguez, M. A., A. Rodriguez-Pena, N. Ibarrola, G. Morreale de Escobar and J. Bernal. (1992) Adult rat brain is sensitive to thyroid hormone. Regulation of RC3/neurogranin mRNA. *J Clin Invest*, 90; 2 : 554-8
- Iniguez, M. A., L. De Lecea, A. Guadano-Ferraz, B. Morte, D. Gerendasy, J. G. Sutcliffe J. Bernal. (1996). Cell-specific effects of thyroid hormone on RC3/neurogranin expression in rat brain. *Endocrinology*, 3 : 1032-41.
- Iqbal, K., Grundke-Iqbal, I. (2005). Metabolic/signal transduction hypothesis of Alzheimer’s disease and other tauopathies. *Acta Neuropathologica*, 109(1) : 25-31
- Ivanoiu, A., Cooper, J. M., Shanks, M. F., Venneri, A. (2006). Patterns of impairment in autobiographical memory in the degenerative dementias constrain models of memory. *Neuropsychologia*, 44(10) : 1936–55.
- Iwamoto, N., Nishiyama, E., Ohwada, J., Arai, H. (1994). Demonstration of CRP immunoreactivity in brains of Alzheimer's disease: immunohistochemical study using formic acid pretreatment of tissue sections. *Neuroscience letters*, 177 : 23–26.
- Iwatsubo, T., Saido, T. C., Mann, D. M., Lee, V. M., Trojanowski, J. Q. (1996). Full-length amyloid-beta (1-42(43)) and amino-terminally modified and truncated amyloid-beta 42(43) deposit in diffuse plaques. *American Journal of Pathology*, 149 : 1823–1830.
- Jack, C. R., Lowe, V. J., Senjem, M. L., Weigand, S. D., Kemp, B. J., Shiung, M. M., Knopman, D. S., Boeve, B. F., Klunk, W. E., Mathis, C. A., Petersen, R. C. (2008). 11C PiB and structural MRI

- provide complementary information in imaging of Alzheimer's disease and amnesic mild cognitive impairment. *Brain*, 131 : 665–680.
- Jacobsen, J. S., Wu, C.-C., Redwine, J. M., Comery, T. a, Arias, R., Bowlby, M., Martone, R., Morrison, J. H., Pangalos, M. N., Reinhart, P. H., Bloom, F. E. (2006). Early-onset behavioral and synaptic deficits in a mouse model of Alzheimer's disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103(13) : 5161–6.
- Jaeger, A., Baake, J., Weiss, D. G., Kriehuber, R. (2013). Glycogen synthase kinase-3beta regulates differentiation-induced apoptosis of human neural progenitor cells. *International Journal of Developmental Neuroscience*, 31(1) : 61–8.
- Jaffiol, C. (1992) Symptomatologie de l'hypothyroïdie, Hypothyroïdie de l'adulte. La Thyroïde. J. Leclere, Orgiazzi, J., Rousset, B., Schlienger, J.L., Wemeau, J.L. *Paris, Expansion Scientifique Française*, 389-403
- Jenkins, E. C., Devine-gage, E. A., Robakis, K., Brown, W. T., Jr, G. E. H., Silverman, W. P. (1988). Fine mapping of an Alzheimer disease-associated gene encoding beta-amyloid protein. *Biochemical and biophysical research communications*, 151(1) : 1-8.
- Jiang, H., Hampel, H., Prvulovic, D., Wallin, A., Blennow, K., Li, R., Shen, Y. (2011). Elevated CSF levels of TACE activity and soluble TNF receptors in subjects with mild cognitive impairment and patients with Alzheimer's disease. *Molecular Neurodegeneration*, 6(1) : 69.
- Juge-Aubry, C. E., O. Morin, A. T. Pernin, H. Liang, J. Philippe and A. G. Burger. (1995). Long-lasting effects of Triac and thyroxine on the control of thyrotropin and hepatic deiodinase type I. *Eur J Endocrinol*, 132; 6 : 751-8.
- Johansson, P., Almqvist, E. G., Johansson, J.-O., Mattsson, N., Hansson, O., Wallin, A., Blennow, K., Zetterberg, H., Svensson, J. (2013). Reduced cerebrospinal fluid level of thyroxine in patients with Alzheimer's disease. *Psychoneuroendocrinology*, 38(7) : 1058–66.
- Johnson, G. V. W., Hartigan, J. A. (1999). Tau Protein in Normal and Alzheimer's Disease. *J Alzheimers Dis*, 1 : 329–351.
- Johnston, H., Boutin, H., Allan, S. M. (2011). Assessing the contribution of inflammation in models of Alzheimer's disease. *Biochemical Society Transactions*, 39(4) : 886–90.
- Kadiyala, R., Peter, R., Okosieme, O. E. (2010). Thyroid dysfunction in patients with diabetes: clinical implications and screening strategies. *International Journal of Clinical Practice*, 64(8) : 1130–9.
- Kamal, A., Stokin, G. B., Yang, Z., Xia, C.-H., Goldstein, L. S. (2000). Axonal Transport of Amyloid Precursor Protein Is Mediated by Direct Binding to the Kinesin Light Chain Subunit of Kinesin-I. *Neuron*, 28(2) : 449–459.
- Kang, J., Lemaire, H. -G., Unterbeck, A., Salbaum, J. M., Masters, C. L., Grzeschik, K. -H., Multhaup, G., Beyreuther, K., Muller-Hill, B. (1987). The precursor of Alzheimer's disease amyloid A4 protein resembles a cell-surface receptor. *Nature*, 325 : 733–736

- Karch, C. M., Jeng, A. T., Goate, A. M. (2013). Calcium phosphatase calcineurin influences tau metabolism. *Neurobiology of Aging*, 34(2) : 374–86.
- Kesner, R. E., Hunt, M. E., Williams, J. M., Long, J. M. (1996). Prefrontal cortex and working memory for spatial response, spatial location, and visual object information in the rat. *Cereb Cortex*. 6(2) : 311-8
- Kim, S. U., de Vellis, J. (2005). Microglia in health and disease. *Journal of Neuroscience Research*, 81(3) : 302–13
- Kimberly, W. T., Zheng, J. B., Guénette, S. Y., Selkoe, D. J. (2001). The intracellular domain of the beta-amyloid precursor protein is stabilized by Fe65 and translocates to the nucleus in a notch-like manner. *Journal of Biological Chemistry*, 276(43) : 40288–92.
- Kishimoto, T. (2010). IL-6: from its discovery to clinical applications. *International Immunology*, 22(5) : 347–52.
- Kitazawa, M., Cheng, D., Tsukamoto, M. R., Koike, M. A., Wes, P. D., Vasilevko, V., Cribbs, D. H., LaFerla, F. M. (2011). Blocking IL-1 signaling rescues cognition, attenuates tau pathology, and restores neuronal β -catenin pathway function in an Alzheimer's disease model. *Journal of Immunology*, 187 : 6539–49.
- Kitazawa, M., Oddo, S., Yamasaki, T. R., Green, K. N., LaFerla, F. M. (2005). Lipopolysaccharide-induced inflammation exacerbates tau pathology by a cyclin-dependent kinase 5-mediated pathway in a transgenic model of Alzheimer's disease. *Journal of Neuroscience*, 25(39) : 8843–53.
- Klyubin, I., Walsh, D. M., Cullen, W. K., Fadeeva, J. V., Anwyl, R., Selkoe, D. J., Rowan, M. J. (2004). Soluble Arctic amyloid beta protein inhibits hippocampal long-term potentiation in vivo. *European Journal of Neuroscience*, 19(10) : 2839–46.
- Knopman, D., Boland, L. L., Mosley, T., Howard, G., Liao, D., Szklo, M., McGovern, P., Folsom, A. R. (2001). Cardiovascular risk factors and cognitive decline in middle-aged adults. *Neurology*, 56 : 42–48.
- Koffie, R. M., Meyer-Luehmann, M., Hashimoto, T., Adams, K. W., Mielke, M. L., Garcia-Alloza, M., Micheva, K. D., Smith, S. J., Kim, M. L., Lee, V. M., Hyman, B. T., Spires-Jones, T. L. (2009). Oligomeric amyloid beta associates with postsynaptic densities and correlates with excitatory synapse loss near senile plaques. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106(10) : 4012–7.
- Koller, K. J., R. S. Wolff, M. K. Warden and R. T. Zoeller. (1987) Thyroid hormones regulate levels of thyrotropin-releasing-hormone mRNA in the paraventricular nucleus. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 84; 20 : 7329-33
- Kopelman, M. D. (1985). Rates of forgetting in Alzheimer-type dementia and Korsakoff's syndrome. *Neuropsychologia*, 23(5) : 623–638.

- Koromilas, C., Liapi, C., Schulpis, K. H., Kalafatakis, K., Zarros, A., Tsakiris, S. (2010). Structural and functional alterations in the hippocampus due to hypothyroidism. *Metabolic Brain Disease*, 25(3) : 339–54.
- Kuhn, P.-H., Wang, H., Dislich, B., Colombo, A., Zeitschel, U., Ellwart, J. W., Kremmer, E., Rossner, S., Lichtenthaler, S. F. (2010). ADAM10 is the physiologically relevant, constitutive alpha-secretase of the amyloid precursor protein in primary neurons. *The EMBO Journal*, 29(17) : 3020–32.
- Kukull, W. A., Bowen, J. D. (2002). Dementia epidemiology. *Medical Clinics of North America*, 86(3) : 573-90.
- Kumar, V., Chichili, V. P. R., Zhong, L., Tang, X., Velazquez-Campoy, A., Sheu, F.-S., Seetharaman, J., Gerges, N. Z., Sivaraman, J. (2013). Structural basis for the interaction of unstructured neuron specific substrates neuromodulin and neurogranin with Calmodulin. *Scientific Reports*, 3 : 1392.
- Kummer, M. P., Heneka, M. T. (2014). Truncated and modified amyloid-beta species. *Alzheimer's Research & Therapy*, 6(3) : 28
- Kurt, M. A., Davies, D. C., Kidd, M. (1997). Paired helical filament morphology varies with intracellular location in Alzheimer's disease brain. *Neuroscience Letters*, 239(1) : 41–44.
- Kuusisto, J., Koivisto, K., Kervinen, K., Mykkanen, L., Helkala, E., Vanhanen, M., Hänninen, T., Pyörälä, K., Kesäniemi, Y. A., Riekkinen, P. (1994). Association of apolipoprotein E phenotypes with late onset Alzheimer's disease : population based study. *BMJ*, 309(6955) : 636-8.
- Kwakkel, J., Fliers, E., Boelen, A. (2011). Illness-induced changes in thyroid hormone metabolism : focus on the tissue level. *Neth J Med*, 69(5) : 224–228.
- La Joie, R., Perrotin, A., de La Sayette, V., Egret, S., Dœuvre, L., Belliard, S., Eustache, F., Desgranges, B., Chételat, G. (2013). Hippocampal subfield volumetry in mild cognitive impairment, Alzheimer's disease and semantic dementia. *NeuroImage Clinical*, 3 : 155–62.
- Lacor, P. N. (2007). Advances on the understanding of the origins of synaptic pathology in AD. *Current Genomics*, 8(8) : 486–508.
- Larson, M. E., Lesné, S. E. (2012). Soluble A β oligomer production and toxicity. *J Neurochem*, 120 (Suppl 1) : 125-39
- Laurent, C., Eddarkaoui, S., Derisbourg, M., Leboucher, A., Demeyer, D., Carrier, S., Schneider, M., Hamdane, M., Müller, C. E., Buée, L., Blum, D. (2014). Beneficial effects of caffeine in a transgenic model of Alzheimer's disease-like tau pathology. *Neurobiology of Aging*, 35(9) : 2079–90.
- Layé, S. (2010). Polyunsaturated fatty acids, neuroinflammation and well being. *Prostaglandins, Leukotrienes, and Essential Fatty Acids*, 82(4-6) : 295–303.

- Lazar, M. A. (1993). Thyroid hormone receptors: Multiple forms, multiple possibilities. *Endocrine Reviews*, 14(2) : 184-93.
- Lazar, M. A. (2003). Thyroid hormone action: A binding contract. *Journal of Clinical Investigation*, 112(4) : 497-9
- Lazar, M. A., Hodin, R. A., Chin, W. W. (1989). Human carboxyl-terminal variant of α -type c-erbA inhibits trans-activation by thyroid hormone receptors without binding thyroid hormone. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 86 : 7771-7774.
- Le Freche, H., Brouillette, J., Fernandez-Gomez, F.-J., Patin, P., Caillierez, R., Zommer, N., Sergeant, N., Buée-Scherrer, V., Lebuffe, G., Blum, D., Buée, L. (2012). Tau phosphorylation and sevoflurane anesthesia: an association to postoperative cognitive impairment. *Anesthesiology*, 116, 779-87.
- Lebel, J. M., L'Herault, S., Dussault, J. H., Puymirat, J. (1993). Thyroid hormone up-regulates thyroid hormone receptor beta gene expression in rat cerebral hemisphere astrocyte cultures. *Glia*, 9 : 105-1491.
- Leboucher, A., Laurent, C., Fernandez-Gomez, F.-J., Burnouf, S., Troquier, L., Eddarkaoui, S., Demeyer, D., Caillierez, R., Zommer, N., Vallez, E., Bantubungi, K., Breton, C., Pigny, P., Buée-Scherrer, V., Staels, B., Hamdane, M., Tailleux, A., Buée, L., Blum, D. (2013). Detrimental effects of diet-induced obesity on τ pathology are independent of insulin resistance in τ transgenic mice. *Diabetes*, 62(5) : 1681-8.
- Leclere, J., Orgiazzi, J., Rousset, B., Schlienger, J.L., Wemeau, J.L. (1992). La thyroïde. *Paris, Expansion Scientifique Française*.
- Lee, S.-F., Shah, S., Li, H., Yu, C., Han, W., Yu, G. (2002). Mammalian APH-1 interacts with presenilin and nicastrin and is required for intramembrane proteolysis of amyloid-beta precursor protein and Notch. *Journal of Biological Chemistry*, 277(47) : 45013-9.
- Lee, J.-E., Han, P.-L. (2013). An update of animal models of Alzheimer disease with a reevaluation of plaque depositions. *Experimental Neurobiology*, 22(2) : 84-95.
- Leibson, C. L., Rocca, W. A., Hanson, V. A., Cha, R., Kokmen, E., O'Brien, P. C., Palumbo, P. J. (1997). The risk of dementia among persons with diabetes mellitus: a population-based cohort study. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 826, 422-7.
- Leonard, J. L. (2008). Non-genomic actions of thyroid hormone in brain development. *Steroids*, 73(9-10) : 1008-12.
- Lesourd, M., Le Gall, D., Baumard, J., Croisile, B., Jarry, C., Osiurak, F. (2013). Apraxia and Alzheimer's disease: review and perspectives. *Neuropsychology Review*, 23(3) : 234-56.
- Letenneur, L., Commenges, D., Dartigues, J. F., Barberger-Gateau, P. (1994). Incidence of dementia and Alzheimer's disease in elderly community residents of south-western France. *International Journal of Epidemiology*, 23 : 1256-1261.

- Letenneur, L., Gilleron, V., Commenges, D., Helmer, C., Orgogozo, J. M., Dartigues, J. F. (1999). Are sex and educational level independent predictors of dementia and Alzheimer's disease? Incidence data from the PAQUID project. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 66(2) : 177-83
- Li, Y. M., Xu, M., Lai, M. T., Huang, Q., Castro, J. L., DiMuzio-Mower, J., Harrison, T., Lellis, C., Nadin, A., Neduvilil, J. G., Register, R. B., Sardana, M. K., Shearman, M. S., Smith, A. L, Shi X. P., Yin, K. C., Shafer, J. A., Gardell, S. J. (2000). Photoactivated gamma-secretase inhibitors directed to the active site covalently label presenilin 1. *Nature*, 405(6787) : 689–94.
- Li, Y., Liu, L., Barger, S. W., Griffin, W. S. (2003) Interleukin-1 mediates pathological effects of microglia on tau phosphorylation and on synaptophysin synthesis in cortical neurons through a p38-MAPK pathway. *J Neurosci*. 23(5) : 1605-11.
- Liao, Y.-F., Wang, B.-J., Cheng, H.-T., Kuo, L.-H., Wolfe, M. S. (2004). Tumor necrosis factor-alpha, interleukin-1beta, and interferon-gamma stimulate gamma-secretase-mediated cleavage of amyloid precursor protein through a JNK-dependent MAPK pathway. *The Journal of Biological Chemistry*, 279(47) : 49523–32.
- Lin, H.-B., Yang, X.-M., Li, T.-J., Cheng, Y.-F., Zhang, H.-T., Xu, J.-P. (2009). Memory deficits and neurochemical changes induced by C-reactive protein in rats: implication in Alzheimer's disease. *Psychopharmacology*, 204(4) : 705–14.
- Lindlau, A., Widmann, C. N., Putensen, C., Jessen, F., Semmler, A., Heneka, M. T. (2014) Predictors of hippocampal atrophy in critically ill patients. *Eur J Neurol*.
- Ling, Y., Morgan, K., Kalsheker, N. (2003). Amyloid precursor protein (APP) and the biology of proteolytic processing: relevance to Alzheimer's disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 35(11) : 1505–1535.
- Lipinska, B., Ba, L. (1997). Encoding – Retrieval Interactions in Mild Alzheimer's Disease : The Role of Access to Categorical Information. *Brain Cogn*, 34(2) : 274-86.
- Liu, F., Li, B., Tung, E.-J., Grundke-Iqbal, I., Iqbal, K., Gong C. X. (2007). Site-specific effects of tau phosphorylation on its microtubule assembly activity and self-aggregation. *Eur J Neurosci*. 26(12): 3429–3436.
- Liu, C., Kanekiyo, T., Xu, H., Bu, G. (2013). Apolipoprotein E and Alzheimer disease: risk, mechanisms, and therapy. *Nat Rev Neurol*, 9(2) : 106–118.
- Liu, L., Chan, C. (2014). The role of inflammasome in Alzheimer's disease. *Ageing Research Reviews*, 15C, 6–15.
- Llorens-Martín, M., Blazquez-Llorca, L., Benavides-Piccione, R., Rabano, A., Hernandez, F., Avila, J., & DeFelipe, J. (2014). Selective alterations of neurons and circuits related to early memory loss in Alzheimer's disease. *Frontiers in Neuroanatomy*, 8 : 38.
- López, M., Alvarez, C. V, Nogueiras, R., Diéguez, C. (2013). Energy balance regulation by thyroid hormones at central level. *Trends in Molecular Medicine*, 19(7) : 418–27.

- Low, W. C., Roepke, J., Farber, S. D., Hill, T. G., Sattin, A., Kubek, M. J. (1989) Distribution of thyrotropin-releasing hormone (TRH) in the hippocampal formation as determined by radioimmunoassay. *Neuroscience Letters*, 103(3) : 314–319
- Lucchesi, W., Mizuno, K., Giese, K. P. (2010). Novel insights into CaMKII function and regulation during memory formation. *Brain Research Bulletin*, 85(1-2) : 2–8.
- Luchsinger, J. A., Mayeux, R. (2004). Dietary factors and Alzheimer's disease. *The Lancet Neurology*, 3(10) : 579-87.
- Luchsinger, J. A., Tang, M.-X., Siddiqui, M., Shea, S., Mayeux, R. (2004). Alcohol intake and risk of dementia. *Journal of the American Geriatrics Society*, 52 : 540–546.
- Lue, L.-F., Kuo, Y.-M., Roher, A. E., Brachova, L., Shen, Y., Sue, L., Beach, T., Kurth, J. H., Rydel, R. E., Rogers, J. (1999). Soluble Amyloid β Peptide Concentration as a Predictor of Synaptic Change in Alzheimer's Disease. *The American Journal of Pathology*, 155(3) : 853–862.
- Luo, L., Stopa, E. G. (2004). Thyrotropin releasing hormone inhibits tau phosphorylation by dual signaling pathways in hippocampal neurons. *Journal of Alzheimer's Disease*, 6(5) : 527–36.
- Luo, L., Yano, N., Mao, Q., Jackson, I. M. D., Stopa, E. G. (2002). Thyrotropin releasing hormone (TRH) in the hippocampus of Alzheimer patients. *Journal of Alzheimer's Disease*, 4(2) : 97–103.
- Ma, Q., Harris-white, M. E., Ubeda, O. J., Simmons, M., Lim, G. P., Teter, B., Frautschy, S. A., Cole, G. M. (2008). Evidence of A β - and transgene-dependent defects in ERK-CREB signaling in Alzheimer's models. *J Neurochem*, 103(4) : 1594–1607.
- Madariaga, A. G., Santos Palacios, S., Guillén-Grima, F., Galofré, J. C. (2014). The incidence and prevalence of thyroid dysfunction in Europe: a meta-analysis. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 99(3) :923–31.
- Madeira, M. D., Cadete-Leite, A., Andrade, J. P., Paula-Barbosa, M. M. (1991). Effects of hypothyroidism upon the granular layer of the dentate gyrus in male and female adult rats: a morphometric study. *The Journal of Comparative Neurology*, 314 : 171–186.
- Maguire, E. A., Burke, T., Phillips, J., & Staunton, H. (1996). Topographical disorientation following unilateral temporal lobe lesions in humans. *Neuropsychologia*, 34(10) : 993–1001.
- Maguire, E. A. (1998). Knowing Where and Getting There: A Human Navigation Network. *Science*, 280(5365), 921–924
- Maguire, E. A., Burgess, N., O'Keefe, J. (1999). Human spatial navigation: cognitive maps, sexual dimorphism, and neural substrates. *Current Opinion in Neurobiology*, 9(2) : 171–7.
- Mangelsdorf, D. J., & Evans, R. M. (1995). The RXR heterodimers and orphan receptors. *Cell*, 83(6) : 841-50.

- Mangiafico, R. A., Sarnataro, F., Mangiafico, M., Fiore, C. E. (2006). Impaired cognitive performance in asymptomatic peripheral arterial disease: Relation to C-reactive protein and D-dimer levels. *Age and Ageing*, 35 : 60–65.
- Malenka, R. C., Bear, M. F. (2004) LTP and LTD: an embarrassment of riches. *Neuron* 44:5–21.
- Mårdh, S., Nägga, K., Samuelsson, S. (2013). A longitudinal study of semantic memory impairment in patients with Alzheimer's disease. *Cortex*, 49(2) : 528–33.
- Marlow, L., Canet, R. M., Haugabook, S. J., Hardy, J. A., Lahiri, D. K., Sambamurti, K. (2003). A β 1, PEN2, and Nicastrin increase A β levels and γ -secretase activity. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 305(3) : 502–509.
- Marsland, A. L., Gianaros, P. J., Abramowitch, S. M., Manuck, S. B., Hariri, A. R. (2008). Interleukin-6 covaries inversely with hippocampal grey matter volume in middle-aged adults. *Biol Psychiatry*, 64(6):484-90.
- Martin, L., Latypova, X., Wilson, C. M., Magnaudeix, A., Perrin, M.-L., Yardin, C., & Terro, F. (2013). Tau protein kinases: involvement in Alzheimer's disease. *Ageing Research Reviews*, 12(1) : 289–309.
- Martinez, B., del Hoyo, P., Martin, M. A., Arenas, J., Perez-Castillo, A., Santos, A. (2001). Thyroid hormone regulates oxidative phosphorylation in the cerebral cortex and striatum of neonatal rats. *Journal of Neurochemistry*, 78 : 1054–1063.
- Martínez de Arrieta, C., Morte, B., Coloma, A., Bernal, J. (1999). The human RC3 gene homolog, NRG1 contains a thyroid hormone-responsive element located in the first intron. *Endocrinology*, 140(1) : 335–43.
- Masliah, E., Terry, R. D., DeTeresa, R. M., & Hansen, L. A. (1989). Immunohistochemical quantification of the synapse-related protein synaptophysin in Alzheimer disease. *Neuroscience Letters*, 103(2) : 234–9.
- Mayeux, R., Stern, Y. (2012). Epidemiology of Alzheimer disease. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 2(8) : 1–26.
- Mazanetz, M. P., & Fischer, P. M. (2007). Untangling tau hyperphosphorylation in drug design for neurodegenerative diseases. *Nature Reviews, Drug Discovery*, 6(6) : 464–79.
- Mcalpine, F. E., Lee, J., Harms, A. S., Ruhn, K. A., Blurton, M., Hong, J., Das, P., Golde, T. E., LaFerla, F. M., Oddo, S., Blesch, A., Tansey, M. G. (2010). Inhibition of soluble TNF signaling in a mouse model of Alzheimer's disease prevents pre-plaque amyloid-associated neuropathology. *Neurobiol Dis*, 34(1) : 163–177.
- McKhann, G. M., Knopman, D. S., Chertkow, D., Hyman, B. T., Jack, C. R., Kawas, C. H., Klunk, W. E., Koroshetz, W. J., Manly, J. J., Mayeux, R., Mohs, R. C., Morris, J. C., Rossor, M. N., Scheltens, P., Carrillo, M. C., Thies, B., Weintraub, S., Phelps, C. H. (2011). The diagnosis of dementia due to Alzheimer's disease: Recommendations from the National Institute on Aging-

- Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement*, 7(3) : 263-9.
- McGeer, P. L., McGeer, E. G. (2001). Inflammation, autotoxicity and Alzheimer disease. *Neurobiology of Aging*, 22 : 799–809.
- McKee, A. C., Carreras, I., Hossain, L., Ryu, H., Klein, W. L., Oddo, S., LaFerla, F. M., Jenkins, B. G., Kowall, N. W., Dedeoglu, A. (2008). Ibuprofen reduces Abeta, hyperphosphorylated tau and memory deficits in Alzheimer mice. *Brain Research*, 1207 : 225–36.
- Mega, M. S., Cummings, J. L., Fiorello, T., Gornbein, J. (1996). The spectrum of behavioral changes in Alzheimer's disease. *Neurology*, 46(1) : 130–135.
- Meraz-Ríos, M. A, Toral-Rios, D., Franco-Bocanegra, D., Villeda-Hernández, J., Campos-Peña, V. (2013). Inflammatory process in Alzheimer's Disease. *Frontiers in Integrative Neuroscience*, 7 : 59.
- Meunier, J. M., Shvaloff, A. (1995). Neurotransmetteurs. *Abrégés Masson*, 2^{ème} édition.
- Middei, S., Ammassari-Teule, M., Marie, H. (2014). Synaptic plasticity under learning challenge. *Neurobiology of Learning and Memory*, 1–8.
- Mitsuhashi, T., Tennyson, G. E., Nikodem, V. M. (1988). Alternative splicing generates messages encoding rat c-erbA proteins that do not bind thyroid hormone. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 85; 16 : 5804-8.
- Miyakawa, T., E. Yared, J. H. Pak, F. L. Huang, K. P. Huang and J. N. Crawley. (2001) Neurogranin null mutant mice display performance deficits on spatial learning tasks with anxiety related components. *Hippocampus*, 11; 6 : 763-75.
- Montero-Menei, C. N., Sindji, L., Garcion, E., Mege, M., Couez, D., Gamelin, E., Darcy, F. (1996). Early events of the inflammatory reaction induced in rat brain by lipopolysaccharide intracerebral injection: relative contribution of peripheral monocytes and activated microglia. *Brain Research*, 724(1) : 55–66.
- Montero-Pedrazuela, A., Venero, C., Lavado-Autric, R., Fernández-Lamo, I., García-Verdugo, J. M., Bernal, J., Guadaño-Ferraz, A. (2006). Modulation of adult hippocampal neurogenesis by thyroid hormones: implications in depressive-like behavior. *Mol Psychiatry*, 11(4):361-71.
- Montgomery, S. L., Mastrangelo, M. A, Habib, D., Narrow, W. C., Knowlden, S. A, Wright, T. W., Bowers, W. J. (2011). Ablation of TNF-RI/RII expression in Alzheimer's disease mice leads to an unexpected enhancement of pathology: implications for chronic pan-TNF- α suppressive therapeutic strategies in the brain. *The American Journal of Pathology*, 179(4) : 2053–70.
- Morishima-Kawashima, M. H. M., Takio, K., Suzuki, M., Yoshida, H., Watanabe, A., Titani, K., & Ihara, Y. (1995). Hyperphosphorylation of tau in PHF. *Neurobiology of Aging*, 16(3), 374.

- Morreale de Escobar, G., Obregon, M., Escobar del Rey, F. (2004). Role of thyroid hormone during early brain development. *European Journal of Endocrinology*, 151(Suppl_3) : U25–U37.
- Morreale de Escobar, G. M., Obregón, M. J., del Rey, F. E. (2007). Iodine deficiency and brain development in the first half of pregnancy. *Public Health Nutrition*, 10(12A), 1554–70.
- Morris, M. C., Evans, D. A., Bienias, J. L., Tangney, C. C., Bennett, D. A., Aggarwal, N., Wilson, R. S., Scherr, P. A. (2002). Dietary intake of antioxidant nutrients and the risk of incident Alzheimer disease in a biracial community study. *JAMA : The Journal of the American Medical Association*, 287 : 3230–3237.
- Morris, R. G., Garrud, P., Rawlins, J. N., O’Keefe, J. (1982). Place navigation impaired in rats with hippocampal lesions. *Nature*, 297 : 681–683.
- Moulin, C. J. A., James, N., Freeman, J. E., Jones, R. W. (2004). Deficient acquisition and consolidation: intertrial free recall performance in Alzheimer’s disease and mild cognitive impairment. *Journal of Clinical and Experimental Neuropsychology*, 26 : 1–10.
- Müller, M., Cárdenas, C., Mei, L., Cheung, K.-H., Foskett, J. K. (2011). Constitutive cAMP response element binding protein (CREB) activation by Alzheimer’s disease presenilin-driven inositol trisphosphate receptor (InsP3R) Ca²⁺ signaling. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108(32) : 13293–8.
- Nalivaeva, N. N., & Turner, A. J. (2013). The amyloid precursor protein: a biochemical enigma in brain development, function and disease. *FEBS Letters*, 587(13) : 2046–54.
- Nambiar, P. R., Palanisamy, G. S., Okerberg, C., Wolford, A., Walters, K., Buckbinder, L., Reagan, W. J. (2013). Toxicities Associated with 1-month Treatment with Propylthiouracil (PTU) and Methimazole (MMI) in Male Rats. *Toxicologic Pathology*.
- Negishi, T., Kawasaki, K., Sekiguchi, S., Ishii, Y., Kyuwa, S., Kuroda, Y., Yoshikawa, Y. (2005). Attention-deficit and hyperactive neurobehavioural characteristics induced by perinatal hypothyroidism in rats. *Behavioural Brain Research*, 159(2) : 323–31.
- Neha, Sodhi, R. K., Jaggi, A. S., Singh, N. (2014). Animal models of dementia and cognitive dysfunction. *Life Sciences*, 109(2) : 73–86.
- O’Barr, S. A, Oh, J. S., Ma, C., Brent, G. A, Schultz, J. J. (2006). Thyroid hormone regulates endogenous amyloid-beta precursor protein gene expression and processing in both in vitro and in vivo models. *Thyroid*, 16(12) : 1207–13.
- O’Brien, R. J., Wong, P. C. (2011). Amyloid precursor protein processing and Alzheimer’s disease. *Annual Review of Neuroscience*, 34 : 185–204.
- Oatridge, A., Barnard, M. L., Puri, B. K., Taylor-robinson, S. D., Hajnal, J. V, Saeed, N., Bydder, G. M. (2002). Changes in Brain Size with Treatment in Patients with Hyper- or Hypothyroidism. *AJNR Am J Neuroradiol*, 23(9) : 1539-44

- Obregon, M.-J., Escobar del Rey, F., Morreale de Escobar, G. (2005). The effects of iodine deficiency on thyroid hormone deiodination. *Thyroid*, 15(8) : 917–29.
- Oddo, S. (2003). Amyloid deposition precedes tangle formation in a triple transgenic model of Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging*, 24(8) : 1063–1070.
- Orgogozo, J. M., Dartigues, J. F., Lafont, S., Letenneur, L., Commenges, D., Salamon, R., Renaud, S., Breteler, M. B. (1997). Wine consumption and dementia in the elderly: a prospective community study in the Bordeaux area. *Rev Neurol (Paris)* 153(3): 185-92.
- Otmakhov, N., Griffith, L. C., Lisman, J. E. (1997). Postsynaptic inhibitors of calcium/calmodulin-dependent protein kinase type II block induction but not maintenance of pairing-induced long-term potentiation. *Journal of Neuroscience*, 17(14) : 5357–65.
- Pak, J. H., Huang, F. L., Li, J., Balschun, D., Reymann, K. G., Chiang, C., Westphal, H., Huang, K. P. (2000). Involvement of neurogranin in the modulation of calcium/calmodulin-dependent protein kinase II, synaptic plasticity, and spatial learning: a study with knockout mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 97(21) : 11232–7.
- Palha, J. A. (2002). Transthyretin as a thyroid hormone carrier: function revisited. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine : CCLM / FESCC*, 40(12) : 1292–300.
- Papassotiropoulos, A., Hock, C., Nitsch, R. M. (2001). Genetics of interleukin 6 : implications for Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*, 22(6) : 863-71.
- Papon, M. A., El Khoury, N. B., Marcouiller, F., Julien, C., Morin, F., Bretteville, A., Petry, F. R., Gaudreau, S., Amrani, A., Mathews, P. M., Hébert, S. S., Planel, E. (2013). Deregulation of protein phosphatase 2A and hyperphosphorylation of τ protein following onset of diabetes in NOD mice. *Diabetes*, 62, 609–617.
- Parvathy S., Hussain I., Karran E. H., Turner A. J. et Hooper N. M. (1999). Cleavage of Alzheimer's amyloid precursor protein by alpha-secretase occurs at the surface of neuronal cells. *Biochemistry* 38, 9728-9734
- Pasinelli, P., Ramakers, G. M., Urban, I. J., Hens, J. J., Oestreicher, A. B., de Graan, P. N., Gispen, W. H. (1995). Long-term potentiation and synaptic protein phosphorylation. *Behavioural Brain Research*, 66 : 53–59.
- Pendlebury, S. T., Rothwell, P. M. (2009). Prevalence, incidence, and factors associated with pre-stroke and post-stroke dementia: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet. Neurology*, 8(11) : 1006–18.
- Perrotta, C., Buldorini, M., Assi, E., Cazzato, D., De Palma, C., Clementi, E., Cervia, D. (2014). The thyroid hormone triiodothyronine controls macrophage maturation and functions: protective role during inflammation. *The American Journal of Pathology*, 184(1) : 230–47.
- Peters, G. J., David, C. N., Marcus, M. D., Smith, D. M. (2013). The medial prefrontal cortex is critical for memory retrieval and resolving interference. *Learning & Memory*, 20(4) : 201–9.

- Piosik, P. A., van Groenigen, M., Baas, F. (1996). Effect of thyroid hormone deficiency on RC3/neurogranin mRNA expression in the prenatal and adult caprine brain. *Molecular Brain Research*, 42(2) : 227–235.
- Podewils, L. J., Guallar, E., Kuller, L. H., Fried, L. P., Lopez, O. L., Carlson, M., Lyketsos, C. G. (2005). Physical activity, APOE genotype, and dementia risk: Findings from the Cardiovascular Health Cognition Study. *American Journal of Epidemiology*, 161 : 639–651.
- Pooler, A. M., Noble, W., Hanger, D. P. (2014). A role for tau at the synapse in Alzheimer’s disease pathogenesis. *Neuropharmacology*, 76 : 1–8.
- Pozueta, J., Lefort, R., Shelanski, M. L. (2013). Synaptic changes in Alzheimer’s disease and its models. *Neuroscience*, 251, 51–65.
- Préau, L., Fini, J. B., Morvan-Dubois, G., Demeneix, B. (2014). Thyroid hormone signaling during early neurogenesis and its significance as a vulnerable window for endocrine disruption. *Biochim Biophys Acta*, S1874-9399(14)00167-9.
- Priller, C., Bauer, T., Mitteregger, G., Krebs, B., Kretschmar, H. A., Herms, J. (2006). Synapse formation and function is modulated by the amyloid precursor protein. *Journal of Neuroscience*, 26 : 7212–7221.
- Puoliväli, J., Wang, J., Heikkinen, T., Heikkilä, M., Tapiola, T., van Groen, T., Tanila, H. (2002). Hippocampal A beta 42 levels correlate with spatial memory deficit in APP and PS1 double transgenic mice. *Neurobiology of Disease*, 9(3) : 339–47.
- Qiu, W. Q., Folstein, M. F. (2006). Insulin, insulin-degrading enzyme and amyloid-beta peptide in Alzheimer’s disease: review and hypothesis. *Neurobiology of Aging*, 27(2) : 190–8.
- Raji, C. A., Lopez, O. L., Kuller, L. H., Carmichael, O. T., Becker, J. T. (2009). Age, Alzheimer disease, and brain structure. *Neurology*, 73(22):1899-905.
- Ravaglia, G., Forti, P., Maioli, F., Chiappelli, M., Montesi, F., Tumini, E., Patterson, C. (2007). Blood inflammatory markers and risk of dementia: The Conselice Study of Brain Aging. *Neurobiology of Aging*, 28(12) : 1810–20.
- Reddy, P. H., Mani, G., Park, B. S., Jacques, J., Murdoch, G. (2005). Differential loss of synaptic proteins in Alzheimer ’ s disease : Implications for synaptic dysfunction. *J Alzheimers Dis*, 7(2) : 103-17
- Redei, E. E., Ph, D., Solberg, L. C., Snm, L. T., Kluczynski, J. M., Pare, W. P. (2001). Paradoxical Hormonal and Behavioral Responses to Hypothyroid and Hyperthyroid States in the Wistar-Kyoto Rat. *Neuropsychopharmacology*. 24(6) : 632-9.
- Reese, L. C., Laezza Fernanda, Woltjer, R., 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(4) : 791-804

- Rellos, P., Pike, A. C. W., Niesen, F. H., Salah, E., Lee, W. H., von Delft, F., Knapp, S. (2010). Structure of the CaMKII δ /calmodulin complex reveals the molecular mechanism of CaMKII kinase activation. *PLoS Biology*, 8(7) : 1000426.
- Remaud, S., Gothié, J. D., Morvan-Dubois, G., Demeneix, B. A. (2014). Thyroid hormone signaling and adult neurogenesis in mammals. *Front Endocrinol (Lausanne)*, Apr 28;5:62.
- Resnick, S. M., Pham, D. L., Kraut, M. a, Zonderman, A. B., Davatzikos, C. (2003). Longitudinal magnetic resonance imaging studies of older adults: a shrinking brain. *Journal of Neuroscience*, 23(8) : 3295–301.
- Ricciardi, E., Bonino, D., Gentili, C., Sani, L., Pietrini, P., Vecchi, T. (2006). Neural correlates of spatial working memory in humans: a functional magnetic resonance imaging study comparing visual and tactile processes. *Neuroscience*, 139(1) : 339–49.
- Ritchie, J. E., Balasubramanian, S. (2011). Anatomy of the pituitary, thyroid, parathyroid and adrenal glands. *Surgery*, 29(9) : 403–407.
- Roberson, E. D., Scarce-Levie, K., Palop, J. J., Yan, F., Cheng, I. H., Wu, T., Mucke, L. (2007). Reducing endogenous tau ameliorates amyloid beta-induced deficits in an Alzheimer's disease mouse model. *Science (New York, N.Y.)*, 316(5825), 750–4. doi:10.1126/science.1141736
- Roberts, C. G. P., Ladenson, P. W. (2004). Hypothyroidism. *Lancet*, 363(9411) : 793–803.
- Roriz-Cruz, M., Rosset, I., Wada, T., Sakagami, T., Ishine, M., Roriz-Filho, J. S., Cruz, T. R., Rodrigues, R. P., Resmini, I., Sudoh, S., Wakatsuki, Y., Nakagawa, M., Souza, A. C., Kita, T., Matsubayashi, K. (2007). Stroke-independent association between metabolic syndrome and functional dependence, depression, and low quality of life in elderly community-dwelling Brazilian people. *Journal of the American Geriatrics Society*, 55 : 374–382.
- Rosenblum, W. I. (2014). Why Alzheimer trials fail: removing soluble oligomeric beta amyloid is essential, inconsistent, and difficult. *Neurobiology of Aging*, 35(5) : 969–74.
- Rossner, S., Schulz, I., Zeitschel, U., Schliebs, R., Bigl, V., Demuth, H. U. (2005) Brain prolyl endopeptidase expression in aging, APP transgenic mice and Alzheimer's disease. *Neurochemical Research*, 30(6-7) : 695–702
- Rousset, B., Selmi, S., Alquier, C., Bourgeat, P., Orelle, B., Audebet, C., Rabilloud, R., Bernier-Valentin, F., Munari-Silem, Y. (1989). In vitro studies of the thyroglobulin degradation pathway: endocytosis and delivery of thyroglobulin to lysosomes, release of thyroglobulin cleavage products--iodotyrosines and iodothyronines. *Biochimie*, 71(2) : 247–62.
- Roux, P. P., Blenis, J. (2004). ERK and p38 MAPK-Activated Protein Kinases : a Family of Protein Kinases with Diverse Biological Functions. *Microbiol Mol Biol Rev.* 68(2) : 320-44.
- Ruf, J., Carayon, P. (2006). Structural and functional aspects of thyroid peroxidase. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 445(2) : 269–77.

- Rumi-Masante, J., Rusinga, F. I., Lester, T. E., Dunlap, T. B., Williams, T. D., Dunker, a K., Weiss, D. D., Creamer, T. P. (2012). Structural basis for activation of calcineurin by calmodulin. *Journal of Molecular Biology*, 415(2) : 307–17.
- Sadow, P. M., Chassande, O., Koo, E. K., Gauthier, K., Samarut, J., Xu, J., O'Malley, B. W., Weiss, R. E. (2003). Regulation of expression of thyroid hormone receptor isoforms and coactivators in liver and heart by thyroid hormone. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 203 : 65–75.
- Saelim, N., John, L. M., Wu, J., Park, J. S., Bai, Y., Camacho, P., Lechleiter, J. D. (2004). Nontranscriptional modulation of intracellular Ca²⁺ signaling by ligand stimulated thyroid hormone receptor. *The Journal of Cell Biology*, 167 : 915–924.
- Salzano, M., Rusciano, M. R., Russo, E., Bifulco, M., Postiglione, L., Vitale, M. (2012). Calcium / calmodulin-dependent protein kinase II (CaMKII) phosphorylates Raf-1 at serine 338 and mediates Ras-stimulated Raf-1 activation. *Landes Bioscience*, 11(11) : 2100–2106.
- Sampaolo, S., Campos-Barros, A., Mazziotti, G., Carlomagno, S., Sannino, V., Amato, G., Carella, C., Di Iorio, G. (2005). Increased cerebrospinal fluid levels of 3,3',5'-triiodothyronine in patients with Alzheimer's disease. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 90(1) : 198–202.
- Samuels, M. H. (2010). Cognitive function in subclinical hypothyroidism. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 95(8) : 3611–3.
- Schacter, D. L., & Tulving, E. (1994). What are the memory systems of 1994? *Memory systems* (p. 1–38).
- Scheff, S. W., DeKosky, S. T., Price, D. A. (1990). Quantitative assessment of cortical synaptic density in Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging*, 11, 29–37.
- Scheff, S. W., Price, D. a, Schmitt, F. A, Mufson, E. J. (2006). Hippocampal synaptic loss in early Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. *Neurobiology of Aging*, 27(10) : 1372–84.
- Schindowski, K., Bretteville, A., Leroy, K., Bégard, S., Brion, J.-P., Hamdane, M., Buée, L. (2006). Alzheimer's disease-like tau neuropathology leads to memory deficits and loss of functional synapses in a novel mutated tau transgenic mouse without any motor deficits. *The American Journal of Pathology*, 169, 599–616.
- Schlienger, J. L., Goichot, B., Grunenberger, F. (1997). Mise au point Iode et fonction thyroïdienne. *Rev Med Interne*, 18(9) : 709-16
- Schroeder, A. C., Privalsky, M. L. (2014). Thyroid hormones, T3 and T4, in the brain. *Frontiers in Endocrinology, Front Endocrinol*, 31(5) : 40
- Shupnik, M. A., W. W. Chin and E. C. Ridgway. (1989) T3 regulation of TSH gene expression. *Endocr Res*. 15; 4 : 579-99.

- Schweizer, U., Köhrle, J. (2013). Function of thyroid hormone transporters in the central nervous system. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1830(7) : 3965–73.
- Scott Bitner, R. (2012). Cyclic AMP response element-binding protein (CREB) phosphorylation: a mechanistic marker in the development of memory enhancing Alzheimer's disease therapeutics. *Biochemical Pharmacology*, 83(6) : 705–14.
- Seger, R., Krebs, E. G. (1995). The MAPK signaling cascade. *FASEB Journal*, 9 : 726–35.
- Selkoe, D.J., (1994). Cell biology of the amyloid beta-protein precursor and the mechanism of Alzheimer's disease. *Annu. Rev. Cell Biol.* 10 : 373–403
- Sergeant, N., Bretteville, A., Hamdane, M., Caillet-Boudin, M. L., Grognet, P., Bombois, S., Blum, D., Delacourte, A., Pasquier, F., Vanmechelen, E., Schraen-Maschke, S., Buee, L. (2008). Biochemistry of Tau in Alzheimer's disease and related neurological disorders. *Expert Review of Proteomics*, 5(2) : 207-24.
- Serrano-Pozo, A., Frosch, M. P., Masliah, E., Hyman, B. T. (2011). Neuropathological alterations in Alzheimer disease. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 1(1) : 006189.
- Seubert, P., Vigo-Pelfrey, C., Esch, F., Lee, M., Dovey, H., Davis, D., McCormack, R., Wolfert, R., Selkoe, D., Lieberburg, I., Schenk, D. (1992). Isolation and quantification of soluble Alzheimer's beta-peptide from biological fluids. *Nature*, 359 : 325–327.
- Sgambato, V., Pagès, C., Rogard, M., Besson, M. J., Caboche, J. (1998). Extracellular signal-regulated kinase (ERK) controls immediate early gene induction on corticostriatal stimulation. *Journal of Neuroscience*, 18(21) : 8814–25.
- Shankar, G. M., Li, S., Mehta, T. H., Garcia-munoz, A., Nina, E., Smith, I., Brett, F. M., Farrell, M. A., Rowan, M. J., Lemere, C. A., Regan, C. M., Walsh, D. M., Sabatini, B. L., Selkoe, D. J. (2008). Amyloid-beta protein dimers isolated directly from Alzheimer's brains impair synaptic plasticity and memory. *Nat Med* 14(8), 837–842.
- Sheng, J. G., Ito, K., Skinner, R. D., Mrak, R. E., Rovnaghi, C. R., Van Eldik, L. J., Griffin, W. S. (1996). In vivo and in vitro evidence supporting a role for the inflammatory cytokine interleukin-1 as a driving force in Alzheimer pathogenesis. *Neurobiol Aging*, 17 : 761–766.
- Silva, J. E. (2006). Thermogenic mechanisms and their hormonal regulation. *Physiological Reviews*, 86(2) : 435–64.
- Singh, M., Arseneault, M., Sanderson, T., Murthy, V., Ramassamy, C. (2008). Challenges for research on polyphenols from foods in Alzheimer's disease: Bioavailability, metabolism, and cellular and molecular mechanisms. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(13) : 4855-73
- Skelding, K. A., Rostas, J. A. P. (2009). Regulation of CaMKII in vivo: the importance of targeting and the intracellular microenvironment. *Neurochemical Research*, 34(10) : 1792–804.

- Slavin, M. J., Mattingley, J. B., Bradshaw, J. L., Storey, E. (2002). Local–global processing in Alzheimer’s disease: an examination of interference, inhibition and priming. *Neuropsychologia*, 40(8) : 1173–1186.
- Smith, J. W., Evans, A. T., Costall, B., Smythe, J. W. (2002). Thyroid hormones, brain function and cognition: a brief review. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 26(1), 45–60.
- Stambolic, V., Woodgett, J. R. (1994). Mitogen inactivation of glycogen synthase kinase-3 beta in intact cells via serine 9 phosphorylation. *The Biochemical Journal*, 303(3) : 701–4.
- Stelzmann, R. A., Schnitzlein, H. N., Murlagh, F. R. (1995). An English translation of Alzheimer’s 1907 Paper. *Clin Anat.* 8(6) : 429-31
- Stéphan, a, Laroche, S., Davis, S. (2001). Generation of aggregated beta-amyloid in the rat hippocampus impairs synaptic transmission and plasticity and causes memory deficits. *Journal of Neuroscience*, 21(15) : 5703–14.
- Stephan, A., Laroche, S., Davis, S. (2003). Learning deficits and dysfunctional synaptic plasticity induced by aggregated amyloid deposits in the dentate gyrus are rescued by chronic treatment with indomethacin. *European Journal of Neuroscience*, 17(9) : 1921–1927.
- Stewart, R., Masaki, K., Xue, QL., Peila, R., Petrovitch, H., White, L.R., Launer, L. J. A 32-year prospective study of change in body weight and incident dementia: The Honolulu-Asia Aging Study. *Arch Neurol.* 2005; 62:55–60
- Storey, N. M., Gentile, S., Ullah, H., Russo, A., Muessel, M., Erxleben, C., Armstrong, D. L. (2006). Rapid signaling at the plasma membrane by a nuclear receptor for thyroid hormone. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103 : 5197–5201.
- Strack, S., Colbran, R. J. (1998). Autophosphorylation-dependent Targeting of Calcium/ Calmodulin-dependent Protein Kinase II by the NR2B Subunit of the N-Methyl- D-aspartate Receptor. *Journal of Biological Chemistry*, 273(33) : 20689–20692.
- Strait, K. A., Schwartz, H. L., Perez-Castillo, A., Oppenheimer, J. H. (1990). Relationship of c-erbA mRNA content to tissue triiodothyronine nuclear binding capacity and function in developing and adult rats. *Journal of Biological Chemistry*, 265 : 10514–10521.
- Straub, R. H. (2014). Interaction of the endocrine system with inflammation: a function of energy and volume regulation. *Arthritis Research & Therapy*, 16(1) : 203.
- Strooper, B. De. (2003). Aph-1, Pen-2, and Nicastrin with Presenilin generate an active gamma-Secretase complex. *Neuron*, 38 : 9–12.
- Sugden, P. H., Clerk, A. (1997). Regulation of the ERK subgroup of MAP kinase cascades through G protein-coupled receptors. *Cellular Signalling*, 9(5) : 337–51.

- Sui, L., Wang, F., Li, B. M. (2006). Adult-onset hypothyroidism impairs paired-pulse facilitation and long-term potentiation of the rat dorsal hippocampo-medial prefrontal cortex pathway in vivo. *Brain Research*, 1096(1) : 53–60.
- Surks, M. I., Ortiz, E., Daniels, G. H., Sawin, C. T., Col, N. F., Cobin, R. H., Franklyn, J. A., Hershman, J. M., Burman, K. D., Denke, M. A., Gorman, C., Cooper, R. S., Weissman, N. J. (2004). Subclinical thyroid disease: scientific review and guidelines for diagnosis and management. *JAMA : the journal of the American Medical Association*, 291 : 228–238.
- Suzuki, S., T. Miyamoto, A. Opsahl, Sakurai, A., DeGroot, L. J. (1994). Two thyroid hormone response elements are present in the promoter of human thyroid hormone receptor beta 1. *Mol Endocrinol*, 8(3) : 305-14.
- Swardfager, W., Lanctôt, K., Rothenburg, L., Wong, A., Cappell, J., Herrmann, N. (2010). A meta-analysis of cytokines in Alzheimer's disease. *Biological Psychiatry*, 68(10) : 930–41.
- Takeuchi, H., Jin, S., Wang, J., Zhang, G., Kawanokuchi, J., Kuno, R., Sonobe, Y., Mizuno, T., Suzumura, A. (2006). Tumor necrosis factor- α induces neurotoxicity via glutamate release from hemichannels of activated microglia in an autocrine manner. *Journal of Biological Chemistry*, 281 : 21362–21368.
- Tan, Z. S., Beiser, A., Vasan, R. S., Auerbach, S., Kiel, D. P., Wolf, P. A., Seshadri, S. (2008). Thyroid Function and the Risk of Alzheimer's Disease: The Framingham Study. *Arch Intern Med*, 168(14) : 1514–1520.
- Tan, Z. S., Vasan, R. S. (2009). Thyroid function and Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis*, 16, 503–507.
- Tanabe, J. L., Amend, D., Schuff, N., DiSclafani, V., Ezekiel, F., Norman, D., et al. (1997). Tissue segmentation of the brain in Alzheimer disease. *AJNR Am. J. Neuroradiol.* 18 : 115–123
- Tanaka, S., Shiojiri, S., Takahashi, Y., Kitaguchi, N., Hirataka, Ito, H., Kameyama, M., Kimura, J., Nakamura, S., Ueda, K. (1989). Tissue-specific expression of three types of b-protein precursor mRNA: enhancement of protease inhibitor-harboring types in alzheimer's disease brain. *Biochem Biophys Res Commun*, 165(3):1406-14.
- Taurog, A., M. L. Dorris and D. R. Doerge. (1996). Mechanism of simultaneous iodination and coupling catalyzed by thyroid peroxidase. *Arch Biochem Biophys*, 330; 1 : 24-32.
- Thal, D. R. (2012). The role of astrocytes in amyloid β -protein toxicity and clearance. *Experimental Neurology*, 236(1) : 1–5.
- Thal, D. R., Rüb, U., Orantes, M., Braak, H. (2002). Phases of A β -deposition in the human brain and its relevance for the development of AD. *Neurology*, 58(12) : 1791-800.
- Thinakaran, G., Koo, E. H. (2008). Amyloid precursor protein trafficking, processing, and function. *The Journal of Biological Chemistry*, 283(44) : 29615–9.

- Thorsell, A., Bjerke, M., Gobom, J., Brunhage, E., Vanmechelen, E., Andreasen, N., Hansson, O., Minthon, L., Zetterberg, H., Blennow, K. (2010). Neurogranin in cerebrospinal fluid as a marker of synaptic degeneration in Alzheimer's disease. *Brain Research*, 1362, 13–22.
- Tony Wyss-Coray and Joseph Rogers. (2012). Inflammation in Alzheimer Disease a brief review of the basic science and clinical literature. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2(1) : 006346.
- Topliss, D. J., Eastman, C. J. (2004). Diagnosis and management of hyperthyroidism and hypothyroidism. *Medical Journal of Australia*, 180 : 186–193.
- Toublanc, J. E. (1992) Hypothyroïdie néonatale (clinique, évolution intellectuelle, traitement et dépistage). La Thyroïde. J. Leclere, Orgiazzi, J., Rousset, B., Schlienger, J.L., Wemeau, J.L. Paris, *Expansion Scientifique Française*. 483-494.
- Trojanowski, J. Q., Lee, V. M. (1995). Phosphorylation of paired helical filament tau in Alzheimer's disease neurofibrillary lesions: focusing on phosphatases. *FASEB J*. 9(15) : 1570-6.
- Tulving, E. (1972) Episodic and Semantic Memory
- Turner, P. R., O'Connor, K., Tate, W. P., Abraham, W. C. (2003). Roles of amyloid precursor protein and its fragments in regulating neural activity, plasticity and memory. *Progress in Neurobiology*, 70(1) : 1-32
- Tzourio, C. (2007). Hypertension, cognitive decline, and dementia : An epidemiological perspective. *Dialogues in Clinical Neuroscience*, 9 : 61–70.
- Vallortigara, J. (2007). Etude des effets de l'hypothyroïdie sur les voies d'action cellulaires de l'acide rétinoïque et de la triiodothyronine – Approche expérimentale et biomédicale. *Thèse de l'Université de Bordeaux*.
- Vallortigara, J., Alfos, S., Micheau, J., Higuieret, P., Enderlin, V. (2008). T3 administration in adult hypothyroid mice modulates expression of proteins involved in striatal synaptic plasticity and improves motor behavior. *Neurobiology of Disease*, 31(3) : 378–85.
- Vallortigara, J., Chassande, O., Higuieret, P., Enderlin, V. (2009). Thyroid hormone receptor alpha plays an essential role in the normalisation of adult-onset hypothyroidism-related hypoexpression of synaptic plasticity target genes in striatum. *Journal of Neuroendocrinology*, 21(1) : 49–56.
- Van Boxtel, M. P. J., Menheere, P. P. C. A., Bekers, O., Hogervorst, E., Jolles, J. (2004). Thyroid function, depressed mood, and cognitive performance in older individuals: The Maastricht Aging Study. *Psychoneuroendocrinology*, 29 : 891–898.
- Van der Deure, W. M., Peeters, R. P., Visser, T. J. (2010). Molecular aspects of thyroid hormone transporters, including MCT8, MCT10, and OATPs, and the effects of genetic variation in these transporters. *Journal of Molecular Endocrinology*, 44(1) : 1–11.
- Van Leuven, F. (2000). Single and multiple transgenic mice as models for Alzheimer's disease. *Progress in Neurobiology*, 61(3) : 305–312.

- Vanderpump, M. P. J. (2011). The epidemiology of thyroid disease. *British Medical Bulletin*, 99 : 39–51.
- Varnum, M. M., Ikezu, T. (2012). The classification of microglial activation phenotypes on neurodegeneration and regeneration in alzheimer's disease brain. *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*, 60(4) : 251-66
- Vehmas, A. K., Kawas, C. H., Stewart, W. F., Troncoso, J. C. (2003). Immune reactive cells in senile plaques and cognitive decline in Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging*, 24(2), 321–331.
- Vella, K. R., Ramadoss, P., Costa-E-Sousa, R. H., Astapova, I., Ye, F. D., Holtz, K. A, Harris, J. C., Hollenberg, A. N. (2014). Thyroid hormone signaling in vivo requires a balance between coactivators and corepressors. *Molecular and Cellular Biology*, 34(9) : 1564–75.
- Vetrivel, K. S., Thinakaran, G. (2006). Amyloidogenic processing of beta-amyloid precursor protein in intracellular compartments. *Neurology*, 66(2 Suppl 1) : S69–73.
- Vetter, S. W., Leclerc, E. (2003). Novel aspects of calmodulin target recognition and activation. *European Journal of Biochemistry*, 270(3) : 404–414.
- Veyrac, A., Gros, A., Bruel-jungerman, E., Rochefort, C. (2013). Zif268/egr1 gene controls the selection, maturation and functional integration of adult hippocampal newborn neurons by learning. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 110(17) : 7062-7
- Von Gunten, A., Kövari, E., Bussièrè, T., Rivara, C.-B., Gold, G., Bouras, C., Hof, P. R., Giannakopoulos, P. (2006). Cognitive impact of neuronal pathology in the entorhinal cortex and CA1 field in Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging* 27 : 270–277
- Von Rotz, R. C., Kohli, B. M., Bosset, J., Meier, M., Suzuki, T., Nitsch, R. M., Konietzko, U. (2004). The APP intracellular domain forms nuclear multiprotein complexes and regulates the transcription of its own precursor. *Journal of Cell Science*, 117(Pt 19) : 4435–48.
- Walsh, D. M., Klyubin, I., Fadeeva, J. V, Cullen, W. K., Anwyl, R., Wolfe, M. S., Rowan, M. J., Selkoe, D. J. (2002). Naturally secreted oligomers of amyloid beta protein potently inhibit hippocampal long-term potentiation in vivo. *Nature*, 416(6880) : 535–9.
- Walsh, D. M., Selkoe, D. J. (2007). A beta oligomers - a decade of discovery. *Journal of Neurochemistry*, 101(5) : 1172–84.
- Wang, C. (2013). The Relationship between Type 2 Diabetes Mellitus and related throid diseases, 2013. *J Diabetes Res*. 390534
- Wang, J., Ho, L., Zhao, Z., Seror, I., Humala, N., Dickstein, D. L., Thiyagarajan, M., Percival, S. S., Talcott, S. T., Pasinetti, G. M. (2006). Moderate consumption of Cabernet Sauvignon attenuates Abeta neuropathology in a mouse model of Alzheimer's disease. *The FASEB Journal*, 20, 2313–2320.

- Wang-Dietrich, L., Funke, S. A., Kühbach, K., Wang, K., Besmehn, A., Willbold, S., Cinar, Y., Bannach, O., Birkmann, E., Willbold, D. (2013). The amyloid- β oligomer count in cerebrospinal fluid is a biomarker for Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's Disease*, 34(4) : 985–94.
- Wayman, G. a, Tokumitsu, H., Davare, M. A, Soderling, T. R. (2011). Analysis of CaM-kinase signaling in cells. *Cell Calcium*, 50(1) : 1–8.
- Webster, S. J., Bachstetter, A. D., Nelson, P. T., Schmitt, F. A, Van Eldik, L. J. (2014). Using mice to model Alzheimer's dementia: an overview of the clinical disease and the preclinical behavioral changes in 10 mouse models. *Frontiers in Genetics*, 5 : 88.
- Weiss, R. E., Forrest, D., Pohlenz, J., Cua, K., Curran, T., Refetoff, S. (1997). Thyrotropin regulation by thyroid hormone in thyroid hormone receptor beta-deficient mice. *Endocrinology*, 138 : 3624–3629.
- Weiss, R. E., Refetoff, S. (2000). Resistance to Thyroid Hormone. *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders*, 1, 97–108.
- Wes, P. D., Easton, A., Corradi, J., Barten, D. M., Devidze, N., DeCarr, L. B., Truong, A., He, A., Barrezueta, N. X., Polson, C., Bourin, C., Flynn, M. E., Keenan, S., Lidge, R., Meredith, J., Natale, J., Sankaranarayanan, S., Cadelina, G. W., Albright, C. F., Cacace, A. M. (2014). Tau overexpression impacts a neuroinflammation gene expression network perturbed in Alzheimer's disease. *PloS One*, 9(8) : 106050.
- Wilmar, M., Wiersinga, W. M. (2013). Adult Hypothyroidism. *Thyroid Disease Manager*, chapter 2-4 : 11–31.
- Wilcox, K. C., Lacor, P. N., Pitt, J., Klein, W. L. (2011). A β Oligomer-Induced Synapse Degeneration in Alzheimer's. *Cell Mol Neurobiol*, 31(6) : 939–948.
- Wilcoxon, J. S., Nadolski, G. J., Samarut, J., Chassande, O., Redei, E. E. (2007). Behavioral inhibition and impaired spatial learning and memory in hypothyroid mice lacking thyroid hormone receptor alpha. *Behavioural Brain Research*, 177(1) : 109–16.
- Wolfe, M. S., Xia, W., Ostaszewski, B. L., Diehl, T. S., Kimberly, W. T., Selkoe, D. J. (1999). Two transmembrane aspartates in presenilin-1 required for presenilin endoproteolysis and gamma-secretase activity. *Nature*, 398(6727) : 513–7.
- Wood, J. A., Wood, P. L., Ryan, R., Graff-Radford, N. R., Pilapil, C., Robitaille, Y., Quirion, R. (1993). Cytokine indices in Alzheimer's temporal cortex: no changes in mature IL-1 beta or IL-1RA but increases in the associated acute phase proteins IL-6, alpha 2-macroglobulin and C-reactive protein. *Brain Research*, 629 : 245–252.
- Wu, J., Li, J., Huang, K.-P., Huang, F. L. (2002). Attenuation of protein kinase C and cAMP-dependent protein kinase signal transduction in the neurogranin knockout mouse. *The Journal of Biological Chemistry*, 277(22) : 19498–505.

- Wu, L., Rosa-neto, P., Hsiung, G. R., Sadovnick, A. D., Masellis, M., Black, S. E., Jia, J., Gauthier, S. (2012). Early-Onset Familial Alzheimer's Disease (EOFAD). *Can J Neurol Sci*, 39(4) : 436-45
- Xu, J., Kang, N., Jiang, L., Nedergaard, M., Kang, J. (2005). Activity-Dependent Long-Term Potentiation of Intrinsic Excitability in Hippocampal CA1 Pyramidal Neurons. *The Journal of Neuroscience*, 25(7):1750–1760.
- Xu, W. L., C. X. Qiu, A. Wahlin, et al. (2004). Diabetes mellitus and risk of dementia in the Kungsholmen project: a 6-year follow-up study. *Neurology*, 63(7): 1181-6
- Yaffe, K., Sawaya, G., Lieberburg, I., Grady, D. (1998). Estrogen therapy in postmenopausal women: effects on cognitive function and dementia. *JAMA : The Journal of the American Medical Association*, 279(9) : 688–95.
- Yamamoto, H., Hiragami, Y., Murayama, M., Ishizuka, K., Kawahara, M., Takashima, A. (2005). Phosphorylation of tau at serine 416 by Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase II in neuronal soma in brain. *Journal of Neurochemistry*, 94(5) : 1438–47.
- Yamamoto-Sasaki, M., Ozawa, H., Saito, T., Rösler, M., Riederer, P. (1999). Impaired phosphorylation of cyclic AMP response element binding protein in the hippocampus of dementia of the Alzheimer type. *Brain Research*, 824(2) : 300–3.
- Yan, Y., Wang, C. (2007). Abeta-40 protects non-toxic Abeta-42 monomer from aggregation. *Journal of Molecular Biology*, 369(4) : 909–16.
- Yasojima, K., Schwab, C., McGeer, E. G., McGeer, P. L. (2000). Human neurons generate C-reactive protein and amyloid P: upregulation in Alzheimer's disease. *Brain Research*, 887(1) : 80–89.
- Yen, P. M. (2001). Physiological and molecular basis of thyroid hormone action. *Physiological Reviews*, 81(3) :1097–142.
- Yen, P. M., Ando, S., Feng, X., Liu, Y., Maruvada, P., Xia, X. (2006). Thyroid hormone action at the cellular, genomic and target gene levels. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 246(1-2) : 121-7
- Yoshimasu, F., Kokmen, E., Hay, I. D., Beard, C. M., Offord, K. P., Kurland, L. T. (1991). The association between Alzheimer's disease and thyroid disease in Rochester, Minnesota. *Neurology*, 41 : 1745–1747.
- Yoshimura, Y. (2003). Phosphorylation of tau protein to sites found in Alzheimer's disease brain is catalyzed by Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase II as demonstrated tandem mass spectrometry. *Neuroscience Letters*, 353(3) : 185–188.
- Yu, J., Tang, Y.-Y., Feng, H.-B., Cheng, X.-X. (2014). A behavioral and micro positron emission tomography imaging study in a rat model of hypothyroidism. *Behavioural Brain Research*, 271 : 228–33.

- Zhang, L., Blomgren, K., Kuhn, H. G., Cooper-Kuhn, C. M. (2009). Effects of postnatal thyroid hormone deficiency on neurogenesis in the juvenile and adult rat. *Neurobiology of Disease*, 34(2), 366–74.
- Zhang, Y. Y., Fan, Y. C., Wang, M., Wang, D., Li, X. H. (2013). Atorvastatin attenuates the production of IL-1 β , IL-6, and TNF- α in the hippocampus of an amyloid β 1-42-induced rat model of Alzheimer's disease. *Clin Interv Aging*, 8:103-10.
- Zhang, Y., Fan, Y., Yu, X., Wang, X., Bao, S., Li, J., Fan, C., Shan, Z., Teng, W. (2014) Maternal Subclinical Hypothyroidism Impairs Neurodevelopment in Rat Offspring by Inhibiting the CREB Signaling Pathway. *Mol Neurobiol*.
- Zhao, J., O'Connor, T., Vassar, R. (2011). The contribution of activated astrocytes to A β production: implications for Alzheimer's disease pathogenesis. *Journal of Neuroinflammation*, 8(1) : 150.
- Zheng, H., Koo, E. H. (2006). The amyloid precursor protein: beyond amyloid. *Molecular Neurodegeneration*, 1 : 5.
- Zhong, L., Gerges, N. Z. (2010). Neurogranin and synaptic plasticity balance. *Communicative & Integrative Biology*, 3(4) : 340–2.
- Zhuo, J.-M., Prescott, S. L., Murray, M. E., Zhang, H.-Y., Baxter, M. G., Nicolle, M. M. (2007). Early discrimination reversal learning impairment and preserved spatial learning in a longitudinal study of Tg2576 APPsw mice. *Neurobiology of Aging*, 28(8) : 1248–57.
- Zilka, N., Kazmerova, Z., Jadhav, S., Neradil, P., Madari, A., Obetkova, D., Bugos, O., Novak, M. (2012). Who fans the flames of Alzheimer's disease brains? Misfolded tau on the crossroad of neurodegenerative and inflammatory pathways. *Journal of Neuroinflammation*, 9(1) : 47.
- Zoeller, R. T. (2003). Challenges confronting risk analysis of potential thyroid toxicants. *In Risk Analysis*, 23 : 143–162.

Annexes

Liste des abréviations

Aβ : β -amyloïde	MAP2K : Mitogen-Activated Protein Kinase Kinase
ADAM : A Disintegrin And Metalloproteinase	MAP3K : Mitogen-Activated Protein Kinase Kinase Kinase
ADL : Activity of Daily Living	MCI : Mild Cognitive Impairment
ADN : Acide DésoxyriboNucléique	MCT : Transporteurs de monocarboxylate
AICD : APP Intracellular Domain	MIT : Monoiodothyrosine
ANOVA : Analysis of variance	MMI : Méthimazole
Aph-1 : Anterior pharynx-defective phenotype 1	MMSE : Mini-mental State Examination
APP : Amyloid Precursor Protein	MSK : Mitogen and Stress activated Kinase
APLP : Amyloid Precursor-Like Protein	NMDA : N-méthyl-D-aspartate
ApoE : Apolipoprotéine E	NPI : NeuroPsychiatric Inventory
ARN : Acide RiboNucléique	OATP : Transporteurs d'anions organiques
ATS : Antihyroidien de synthèse	OMS : Organisation Mondiale de la Santé
AVC : Accident Vasculaire Cérébral	PAPI : Pyroglutamyl aminopeptidase I
AVQ : Activité de la Vie Quotidienne	PCR : Polymérase chain reaction
BACE : β -site APP Cleaving Enzyme	Pen-2 : Presenilin enhancer 2
BSA : Bovine Serum Albumin	PFA : Paraformaldéhyde
CA1 : Corne d'Ammon 1	PI3K : Phosphatidylinositol-3 kinase
CaM : Calmoduline	PHF : Paired Helical Filament
CaN : Calcineurine	PIB : Peptidylprolyl isomerase B
CaMKII : Calcium/calmodulin-dependent protein kinase II	PKA : Protéine Kinase A
CaMKIV : Ca ²⁺ /calmodulin-dependent protein kinase IV	PKC : Protéine Kinase C
CDK5 : Cyclin-Dependent Kinase 5	PLT : Potentialisation à Long Terme
Cq : Quantification cycle	POP : Prolylomogopeptidase
CREB : cAMP Response Element Binding protein	PP : Protéine Phosphatase
CRP : Protéine C réactive	PS : Préséniline
D1 : Désiodases de type 1	PSD-95 : Postsynaptic density protein 95
D2 : Désiodases de type 2	PTU : Propylthiouracile
DAD : Disability Assessment for Dementia	RAWM : Radial Arm Water Maze
DIT : Diiodothyrosine	RC3 : Neurogranine
DNF : Dégénérescences Neurofibrillaires	RCPG : Récepteurs Couplés aux Protéines G
DO : Densité optique	REAL.FR : Recherche sur la maladie d'Alzheimer en France
DSM : Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorder	RSK : Ribosomal S6 Kinase
EGR1 : Early Growth Response protein 1	RT : Rétro-transcription
ERK : Extracellular signal-Regulated Kinase	RTK : Récepteurs Tyrosine/Kinases
GAP43 : neuromoduline	SIDA : Syndrome d'Immunodéficience Acquise
GDP : Guanodine diphosphate	SNC : Système Nerveux Central
Grb-2 : Growth factor receptor bound protein 2	SPCD : Symptômes Psychologiques et Comportementaux des Démences
GSK3β : Glycogen synthase kinase 3 β	T3 : Triiodothyronine
GTP : Guanodine triphosphate	T4 : Thyroxine
HAS : Haute Autorité de Santé	TACE : Tumor necrosis α converting enzyme
HRE : Hormone Response Element	TBG : Thyroxine-Binding Globulin
HRP : Peroxydase de raifort	Tg : Thyroglobuline
HT : Hormones thyroïdiennes	TLR : Toll Receptor
IADL : Instrumental Activities of Daily Living	TMB : Tétraméthylbenzidine
IDE : Insulin Degrading Enzyme	TNF : Tumor Necrosis Factor
IL : Interleukine	TPO : Thyropéroxydase
IMC : Indice de Masse Corporelle	TR : Récepteur nucléaire à la triiodothyronine
IRM : Imagerie par Résonance Magnétique	TRE : Thyroid Hormone Response Element
JNK : Jun kinases	TRH : Thyroid Releasing Hormone
Lat : Transporteurs d'acides aminés de type L	TSH : Thyroid Stimulating Hormone
LCR : Liquide Céphalo-rachidien	TSHR : Thyroid Stimulating Hormone Receptor
MA : Maladie d'Alzheimer	TTR : Transthyrétine
MAP : Microtubule-Associated Proteins	VIH : Virus de l'Immunodéficience Humaine
MAPK : Mitogen Activated Protein Kinase	

Liste des figures

- Figure 1** : Représentation schématique de l'évolution des symptômes au cours de la MA.
- Figure 2** : Structure des différents membres de la famille de protéines APP.
- Figure 3** : Trafic intracellulaire de la protéine APP.
- Figure 4** : Maturation protéolytique de la protéine APP.
- Figure 5** : Evolution des dépôts amyloïdes au cours du développement de la maladie d'Alzheimer
- Figure 6** : Représentation schématique du gène codant pour la protéine Tau humaine.
- Figure 7** : Représentation schématique des domaines fonctionnels de Tau
- Figure 8** : Kinases de la protéine Tau.
- Figure 9** : Formation des DNF.
- Figure 10** : Topographie des lésions neurofibrillaires chez un patient atteint de MA.
- Figure 11** : Mécanismes inflammatoires au cours de la MA
- Figure 12** : Corrélation positive entre le score obtenu au MMSE et l'augmentation du nombre total de synapses.
- Figure 13** : Représentation schématique des voie calcique et ERK-MAPK.
- Figure 14**. Evolution de l'atrophie cérébrale globale.
- Figure 15** : Hypothèse de la cascade amyloïde
- Figure 16** : Structure chimique des hormones thyroïdiennes.
- Figure 17** : Synthèse des hormones thyroïdiennes
- Figure 18** : Fonction des gènes dont l'expression est régulée positivement par la T3.
- Figure 19** : Régulation de la production des HT par l'axe hypothalamo-hypophysaire
- Figure 20** : Principales étapes d'activation et d'inactivation des hormones thyroïdiennes par les désiodases
- Figure 21** : Effets des antithyroïdiens sur le métabolisme général des hormones thyroïdiennes.
- Figure 22** : Dispositif du Cyclotron
- Figure 23** : Dispositif du Plus-Maze
- Figure 24** : Dispositif de l'Open-field
- Figure 25** : Labyrinthe aquatique avec la plate-forme située sous l'eau
- Figure 26** : Dispositif du RAWM
- Figure 27** : Dispositif du labyrinthe en Y
- Figure 28**: Design expérimental
- Figure 29** : Evolution de l'activité locomotrice des rats
- Figure 30** : Effet de 5 semaines de traitement PTU sur l'activité locomotrice totale, le nombre de redressement et le temps passé dans la zone centrale dans le test de l'Open-field.
- Figure 31** : Effet de 5 semaines de traitement PTU sur le temps passé et le nombre d'entrées dans les bras ouverts du labyrinthe en croix surélevé.
- Figure 32** : Effet de 5 semaines de traitement PTU sur la vitesse de nage des rats dans le labyrinthe aquatique de Morris.
- Figure 33** : Effet de 5 semaines de traitement PTU sur les capacités d'apprentissage spatial des rats dans le labyrinthe aquatique de Morris.
- Figure 34** : Effet de 5 semaines de traitement PTU sur les performances mnésiques des animaux évaluées dans le labyrinthe aquatique de Morris
- Figure 35** : Effet du traitement sur la croissance pondérale des animaux
- Figure 36** : Effet du statut thyroïdien sur les taux d'ARNm codant pour TR α , TR β et RC3
- Figure 37** : Effet du statut thyroïdien sur l'état de phosphorylation de la protéine Tau, l'expression et l'activation de la kinase p38-MAPK et l'expression protéique de la phosphatase PP2B.
- Figure 38** : Effet du statut thyroïdien sur les niveaux d'expression des ARNm codant pour des marqueurs d'inflammation.
- Figure 39** : Effet du statut thyroïdien sur l'expression protéique des marqueurs d'inflammation.
- Figure 40** : Effet du statut thyroïdien sur le taux protéique de certains indicateurs de la voie calcique.
- Figure 41** : Effet du statut thyroïdien sur le taux protéique de certains indicateurs de la voie ERK-MAPK

Figure 42 : Effet du statut thyroïdien sur le pourcentage de temps passé dans les bras ouverts et le nombre d'entrées dans les bras ouverts du labyrinthe en croix surélevé.

Figure 43 : Effet du statut thyroïdien sur l'apprentissage et la mémoire spatiale dans le RAWM.

Figure 44 : Effet du statut thyroïdien sur le DTC.

Figure 45 : Effet du statut thyroïdien sur le pourcentage de premières visites effectuées dans chaque bras lors de la rétention à 4h

Figure 46 : Effet du statut thyroïdien sur le pourcentage de premières visites effectuées dans chaque bras lors de la rétention à 24h

Liste des tableaux

Tableau I: Percentage of Alzheimer's disease patients with behaviors present in the three stages of dementia severity as measured by the MMSE.

Tableau II : Sites de phosphorylation de la protéine Tau.

Tableau III : Exemples de gènes régulés par la triiodothyronine dans le cerveau

Tableau IV: Séquences amont (F) et aval (R) des amorces utilisées pour l'amplification en RT qPCR et taille des amplicons.

Tableau V : Effet du statut thyroïdien sur les taux de T3 sérique

Tableau VI : Effet du statut thyroïdien sur le taux de peptides A β -42 dans l'hippocampe

Tableau VII : Bilan des résultats expérimentaux

Résumé

La maladie d'Alzheimer (MA) est une maladie multifactorielle et à ce jour aucune cause des formes sporadiques de la maladie, qui représente plus de 99% des cas, n'a été mise en évidence. Des données émergentes de la littérature suggèrent l'existence d'un lien entre les dysfonctionnements thyroïdiens et la MA. Dans ce contexte, l'objectif de cette étude était de préciser l'implication de l'hypothyroïdie dans les processus neuropathologiques de la MA. En utilisant un modèle de rats rendus hypothyroïdiens par un traitement au propylthiouracile (PTU), nous avons montré que l'hypothyroïdie favorise la mise en place de lésions caractéristiques de la MA dans l'hippocampe, structure du cerveau précocement altérée dans la maladie et qui joue un rôle crucial dans les processus de mémoire. Une étude d'IRM *in vivo* a révélé une diminution progressive du volume cérébral des rats hypothyroïdiens. Dans l'hippocampe, l'hypothyroïdie s'accompagne d'une augmentation de la production de peptides amyloïdes, d'une hyperphosphorylation de la protéine Tau et d'une augmentation de la libération de plusieurs cytokines pro-inflammatoires. Ces lésions, caractéristiques de la MA, sont associées à des troubles de la mémoire spatiale à court et long terme et à une altération de deux voies de signalisation connues pour jouer un rôle important dans les processus de plasticité synaptique et de mémoire : la voie calcique et la voie ERK-MAPK. Afin d'évaluer le potentiel de restauration de ces lésions, une partie des rats hypothyroïdiens a reçu des injections intra-péritonéales de triiodothyronine (T3), forme active des hormones thyroïdiennes. Nos résultats montrent que l'administration de T3 permet de restaurer les déficits de mémoire spatiale à court terme, mais pas à long terme. En outre, ce même traitement permet de restaurer les niveaux de cytokines pro-inflammatoires, de peptides amyloïdes ainsi que les voies « calcique » et « ERK-MAPK ». Ces données renforcent l'existence d'un lien entre l'hypothyroïdie et la MA : elles suggèrent que l'hypothyroïdie pourrait représenter un facteur important pouvant impacter le risque de développer des formes sporadiques de la MA. Elles permettent aussi de proposer un modèle physiopathologique pertinent pour l'exploration d'approches préventives.

Abstract

Alzheimer's disease (AD) is a multifactorial disease and to date no single cause for the sporadic forms, which accounts for over 99% of the cases, has been established. Converging evidence suggests a possible link between thyroid dysfunctions and AD. The aim of the present study was to explore the possibility that adult hypothyroidism represents an etiopathogenic mechanism of AD. In this context, using a hypothyroid rat model induced by propylthiouracil (PTU) treatment, we report that hypothyroidism is associated with several AD-associated hallmarks in the hippocampus, a brain structure affected in early stages of AD and which plays a crucial role in memory processes. *In vivo* MRI revealed a progressive decrease in cerebral volume of hypothyroid-rats. In the hippocampus, hypothyroidism resulted in Tau hyperphosphorylation, increased levels of amyloid peptide and of several pro-inflammatory cytokines. These AD-related pathological hallmarks were associated with impaired short- and long-term spatial memory and alteration of hippocampal signalling pathways important for synaptic plasticity and memory, including calcium and ERK-MAPK pathways. To test the potential reversion of PTU-induced lesions, we injected hypothyroid rats with triiodothyronine (T3), the active form of thyroid hormone. Our results show that intraperitoneal injections of T3 restored spatial short-term, but not long-term memory in hypothyroid-treated rat. Furthermore, levels of pro-inflammatory cytokines, amyloid peptide and of proteins involved in calcium and ERK-MAPK signalling were restored. These data strengthen the link between hypothyroidism and AD, supporting the idea that hypothyroidism may represent an important factor impacting the risk for developing sporadic forms of AD. They also present a physiopathological model pertinent for the future exploration of preventive approaches.