



**HAL**  
open science

# D-sérine : un maillon central de la physiopathologie amyloïde ?

Eva Ploux

► **To cite this version:**

Eva Ploux. D-sérine : un maillon central de la physiopathologie amyloïde?. Médecine humaine et pathologie. Normandie Université, 2022. Français. NNT : 2022NORMC405 . tel-03826793

**HAL Id: tel-03826793**

**<https://theses.hal.science/tel-03826793v1>**

Submitted on 24 Oct 2022

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

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



Normandie Université

## THÈSE

**Pour obtenir le diplôme de doctorat**  
**Spécialité SCIENCES DE LA VIE ET DE LA SANTE**  
**Préparée au sein de l'Université de Caen Normandie**

### **D-sérine: un maillon central de la physiopathologie amyloïde?**

**Présentée et soutenue par**  
**EVA PLOUX**

**Thèse soutenue le 30/05/2022**  
**devant le jury composé de**

M. ALAIN BUISSON	Professeur des universités, Université Grenoble Alpes	Rapporteur du jury
M. MICHEL VIGNES	Professeur des universités, Université de Montpellier	Rapporteur du jury
MME SILVIA SACCHI	Professeur associé, Università degli Studi dell'Insubria	Membre du jury
MME CATHERINE BELZUNG	Professeur des universités, UNIVERSITE DE TOURS	Président du jury
M. THOMAS FRERET	Professeur des universités, Université Caen Normandie	Directeur de thèse
M. JEAN-MARIE BILLARD	Directeur de recherche, Université Caen Normandie	Co-directeur de thèse

**Thèse dirigée par THOMAS FRERET (Mobilités : vieillissement, pathologie, santé - COMETE) et JEAN-MARIE BILLARD (Mobilités : vieillissement, pathologie, santé - COMETE)**



UNIVERSITÉ  
CAEN  
NORMANDIE



Normande de Biologie Intégrative,  
Santé, Environnement



COMETE  
UMR 1075 UNICAEN / INSERM







## Remerciements

Mes remerciements vont en premier lieu aux membres de mon jury de thèse. Un grand merci aux Professeurs Alain Buisson et Michel Vignes d'avoir accepté d'évaluer mes travaux de thèse, en qualité de rapporteurs. Mes remerciements vont également au Docteur Silvia Sacchi et au Professeure Catherine Belzung, merci d'avoir pris le temps d'examiner mes travaux de thèse. Je suis ravie et honorée de pouvoir défendre ces derniers devant un jury expert dans différentes thématiques de ce projet.

Un doctorant est rattaché à un laboratoire de recherche mais également à une structure universitaire et une école doctorale. C'est pourquoi je remercie l'université de Caen Normandie et l'ensemble des membres de l'école doctorale ED NBISE pour leur accueil et l'investissement remarquable dont ils font part auprès de leurs doctorants.

Merci à ma direction de thèse : au Professeur Thomas Fréret et au Docteur Jean-Marie Billard. Merci de m'avoir accepté à vos côtés et de m'avoir fait découvrir le métier de chercheur par tous ses aspects.

J'ai eu la chance d'intégrer un laboratoire accueillant, soucieux du bien-être de ses étudiants et dynamique, aussi bien au niveau scientifique que dans la diffusion de nos recherches et de nos connaissances scientifiques générales au grand public.

En effet, l'acquisition de nouvelles connaissances n'a de sens que si celles-ci sont partagées. Un grand merci à l'ensemble des membres du laboratoire pour les échanges scientifiques que nous avons pu avoir sur les différents projets entrepris à COMETE. Ces derniers concernent aussi bien les pathologies associées à des troubles cognitifs, que l'étude de l'activité physique, les rythmes biologiques, les mobilités ou bien l'adaptation sensorimotrice. Cette diversité est l'une des richesses les plus précieuses du laboratoire et c'est également l'une des facettes que j'ai le plus appréciée ces dernières années.

Un projet de thèse s'intègre généralement dans un projet de recherche au sens plus large du terme. A ce titre, je souhaite remercier les nombreux acteurs qui ont contribué, de près ou de loin, à l'avancée de ce projet de recherche au delà de ceux réalisés par mes soins :

Je remercie l'association France Alzheimer et l'ensemble des donateurs pour le financement ayant permis la réalisation des travaux accomplis dans le cadre de ce projet. Merci également aux collaborateurs, venant de France ou de l'international : le Dr Herman Wolosker, le Dr Darrick Balu et le Dr Jean-Pierre Mothet.

Un immense merci à mes collègues technicien(e)s de laboratoire, assistante ingénieure ou bien ingénieur : Stacy, Gérald, Mélanie, Mélody, Sophie et Daniel. Certains résultats présentés ici ont été acquis à vos côtés, que ce soit en me formant ou bien en travaillant directement en binôme avec vous ; c'est pourquoi je suis heureuse que ce manuscrit reflète également votre travail quotidien et votre investissement dans les différents projets du laboratoire. Vous m'avez été d'une

aide précieuse tout au long de ma thèse que ce soit par la transmission de vos connaissances techniques, de votre rigueur mais également par vos encouragements.

Un grand merci également à mes semblables : Candice, Kouakou, Solenn et Caroline. Merci pour l'aide active et le soutien inconditionnel dont vous avez fait preuve durant cette aventure.

Je souhaite également remercier le CEMABIO et particulièrement Monsieur Eli. Merci pour votre aide dans l'acquisition des photographies microscopiques et la création du programme de comptage automatique des plaques amyloïdes. Merci pour votre bienveillance envers les étudiants et votre pédagogie remarquable. Merci également à Monsieur Coupez pour m'avoir suivi avec patience et optimisme ces dernières années.

J'ai une pensée particulière pour les animaux qui ont été reproduits, utilisés et euthanasiés dans le but d'obtenir ces résultats et qui vous accompagneront tout au long de ce manuscrit. Un objectif bienveillant doit parfois passer par des actes difficiles. Merci à l'ensemble des membres du laboratoire pour l'attention et le respect que vous avez envers ces animaux. Dans ce contexte, je tenais également à remercier Valentine et toutes les personnes ou associations (dont le GRAAL) impliquées dans la réhabilitation d'animaux issus de l'expérimentation animale.

Ce doctorat aura également été pour moi l'occasion de découvrir les associations et fondations en lien avec la Maladie d'Alzheimer. Au-delà de France Alzheimer je me suis également rapprochée de l'association Vaincre Alzheimer. J'ai pu suivre certaines de leurs nombreuses actions et je les remercie pour l'engagement diversifié et l'investissement dont ils font preuve, aussi bien envers les patients, leurs proches, mais également envers les chercheurs et les étudiants.

Pour finir, j'ai eu la chance de pouvoir réaliser dans le cadre de ma thèse un stage d'observation au sein de l'équipe gériatrique du CHU de Caen. Il m'était apparu important d'avoir une vision concrète de la pathologie sur laquelle je travaillais, et de me rappeler que le but ultime de ces recherches est d'aider des personnes dans le besoin. Dans ce contexte, je remercie le Docteur Descatoire de m'avoir accueilli au sein de son équipe. Je tiens également à remercier chaleureusement le Docteur Cedric Villain pour m'avoir permis d'obtenir ce stage et par la même occasion d'avoir eu ce premier contact, si précieux, avec les patients.

J'espère pouvoir devenir un jour un des rouages de cette grande équipe multidisciplinaire que représente la recherche et la pratique médicale.

## Valorisations scientifiques

### Publications :

**E Ploux**, V Bouet, I Radzishevsky, H Wolosker, T Freret, J-M Billard. Serine Racemase Deletion Affects the Excitatory/Inhibitory Balance of the Hippocampal CA1 Network. International Journal of Molecular Sciences, MDPI, 2020.

**E Ploux**, Thomas Freret, Jean-Marie Billard. D-serine in physiological and pathological brain aging. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics, 2021.

### Congrès internationaux :

#### Communications orales

**E Ploux**, L. Gorisse, I Radzishevsky, H Wolosker, T Freret J-M Billard. DEPLETED D-SERINE LEVEL TO DECIPHER NEW THERAPEUTIC DRUG AGAINST ALZHEIMER DISEASE. Juves Pro Medicina, Poland, 2020.

#### Communications affichées

T Freret, **E Ploux**, L. Gorisse, I Radzishevsky, H Wolosker, J-M Billard. IMPACT OF D-SERINE DEPLETION IN THE  $\beta$ -AMYLOID CASCADE RELATED TO ALZHEIMER'S DISEASE. Annual Meeting of the Society for Neuroscience, Chicago, United States, 2019.

**E Ploux**, L. Gorisse, I Radzishevsky, H Wolosker, T Freret J-M Billard. A ROBUST LINK BETWEEN D-SERINE AND AMYLOID PATHOLOGY IN A MOUSE MODEL. 4th International Conference of D-Amino Acid Research, Tokyo, Japan, 2019.

**E Ploux**, L. Gorisse, I Radzishevsky, H Wolosker, T Freret J-M Billard. D-SERINE IS INVOLVED IN THE  $\beta$ -AMYLOID-RELATED PATHOPHYSIOLOGY IN ALZHEIMER'S DISEASE. 14eme Colloque de la Société des Neurosciences, Marseille, France, 2019.

J-M Billard, **E Ploux**, L. Gorisse, T Freret. D-SERINE CONTRIBUTES TO  $\beta$ -AMYLOID-DEPENDENT PATHOPHYSIOLOGY IN ALZHEIMER'S DISEASE. 11th FENS Forum of Neuroscience, Berlin, Germany, 2018.

### Congrès nationaux

#### Communications affichées

**E Ploux**, L. Gorisse, J-M Billard, T Freret. D-SERINE CONTRIBUTES TO  $\beta$ -AMYLOID-DEPENDENT PATHOPHYSIOLOGY IN ALZHEIMER'S DISEASE. XXIIe Journées de l'École doctorale Normande de Biologie Intégrative, Santé & environnement, Caen, France, 2019.



## Liste des abréviations :

<b>A<math>\beta</math></b> : amyloid beta	<b>I/O</b> : input/output
<b>A<math>\beta</math>o</b> : oligomère A $\beta$	<b>IRMf</b> : imagerie par résonance magnétique fonctionnel
<b>A<math>\eta</math></b> : éta-amyloïde	<b>KO, -/-</b> : knockout
<b>aa</b> : acide aminé	<b>LCR</b> : liquide céphalo-rachidien
<b>AD</b> : Alzheimer disease	<b>LTD</b> : long term depression
<b>aCSF</b> : artificial cerebral serum fluid	<b>LTP</b> : long term potentiation
<b>ADN</b> : acide désoxyribonucléique	<b>MA</b> : maladie d'Alzheimer
<b>AICD</b> : amyloid precursor protein intracellular domain	<b>MCI</b> : midl cognitive impairment
<b>AMPA</b> : $\alpha$ -amino-3-hydroxy-5methyl-4-isoxazolepropionic acid	<b>MMSE</b> : mini-mental state examination
<b>ANOVA</b> : analyse of variance	<b>MSD</b> : Meso Scale Discovery
<b>APP</b> : amyloid protein precursor	<b>MWM</b> : Morris water maze
<b>ARN</b> : acide ribonucléique	<b>NBQX</b> : 2,3-dioxo-6-nitro-7-sulfamoyl-benzo[f]quinoxaline
<b>Asc</b> : Alanine-sérine-cystéine transporteur	<b>NMDA</b> : N-méthyl-D-aspartate
<b>ASCT</b> : Alanine-Sérine-cystéine-Thréonine transporteur	<b>OS</b> : oxidative stress
<b>BCA</b> : acide bicinchonique	<b>PB(S)</b> : phosphate buffer (saline)
<b>CA</b> : <i>Cornus Ammonis</i> , corne d'Amon	<b>PCF</b> : Prefrontal cortex
<b>CE</b> : Cortex enthorinal	<b>PDZ</b> : protein domain Z
<b>CAMKII</b> : protéine-kinase calmoduline-Ca <sup>2+</sup> -dépendante	<b>PHGDH</b> : phosphoglycérate 3-déshydrogénase
<b>CPF</b> : Cortex préfrontal	<b>PF</b> : plateforme
<b>CTF<math>\alpha</math></b> : fragment C-terminal $\alpha$	<b>PPF</b> : perpulse facilitation
<b>DAAO</b> : D-amino-acid-oxidase	<b>PSD-95</b> : Post-synaptic density protein 95
<b>DISC1</b> : Disrupted-In-Schizophrenia-1	<b>PSEN1</b> : preseniline 1
<b>DG</b> : dentate gyrus	<b>PSEN2</b> : preseniline 2
<b>DNF</b> : dégénérescences neurofibrillaires	<b>PSV</b> : presynaptic volley
<b>DsdA</b> : D-serine deaminase	<b>PVC</b> : chlorure de polyvinyle
<b>DSM5</b> : Diagnostic and Statistical Manual 5	<b>sAPP<math>\alpha</math></b> : $\alpha$ -APP soluble
<b>D-ser</b> : D-sérine	<b>sEPSC</b> : spontaneous excitatory postsynaptic current
<b>FAD</b> : Familial Alzheimer's disease	<b>SLA</b> : Sclérose latérale amyotrophique
<b>fEPSP</b> : field Excitatory post-synaptic potential	<b>s.o</b> : stratum oriens
<b>FV</b> : fiber volley	<b>s.r</b> : stratum radiatum
<b>GABA</b> : acide $\gamma$ -aminobutyrique	<b>SLA</b> : sclérose latérale amyotrophique
<b>GD</b> : gyrus denté	<b>s.l-m</b> : stratum lacunosum-moleculare
<b>GFAP</b> : Glial fibrillary acidic protein	<b>s.l</b> : stratum lucidum
<b>Gly</b> : glycine	<b>SR</b> : serine racemase
<b>HFS</b> : high frequency stimulation	<b>SUB</b> : subiculum
<b>HPC</b> : hippocampus	<b>TBS</b> : teta burst stimulation
<b>HPLC</b> : high performance liquid chromatography	<b>TCA</b> : acide trichloroacétique
	<b>WT</b> : wild-type

## Listes des illustrations

### Figures

**Figure 1 :** Représentation schématique des formes sporadiques vs. familiales de la maladie d'Alzheimer et des facteurs de risque associés.

**Figure 2 :** Représentation schématique du développement de la maladie d'Alzheimer d'après le Diagnostic and Statistical Manual 5 (DSM5) et en fonction de la progression des modifications cérébrales, des modifications cognitives/comportementales et de la perte d'autonomie.

**Figure 3 :** Représentation schématique des principaux troubles cognitifs et comportementaux généralement rencontrés dans la maladie d'Alzheimer.

**Figure 4 :** Représentation schématique de la formation hippocampique et l'organisation de son circuit synaptique chez l'Humain et le rongeur. Tirée de l'article original publié par Roux, 2021 : "Memory Disorders Related to Hippocampal Function: The Interest of 5-HT4Rs Targeting" dans le journal IJMS.

**Figure 5 :** Représentation schématique d'une coupe hippocampique chez le rongeur et des différentes couches qui le composent : s.o pour stratum oriens ; s.r pour stratum radiatum ; s.l-m pour stratum lacunosum-moleculare ; s.l pour stratum lucidum. Tiré du chapitre original provenant de "Encyclopedia of the Neurological Sciences Reference Work", second Edition, 2014.

**Figure 6 :** Représentation schématique de la désorganisation des microtubules neuronaux par la phosphorylation de la protéine Tau et la formation des dégénérescences neurofibrillaires toxiques. Illustration de © Designua | Dreamstime.com.

**Figure 7 :** Illustration du clivage de l'APP et ses métabolites, selon la voie non-amyloïde et la voie amyloïde, adapté de l'article original publié par Patterson, 2008 : « Diagnosis and treatment of dementia: 1. Risk assessment and primary prevention of Alzheimer disease » dans le journal CMAJ.

**Figure 8 :** Représentation de l'évolution de l'amyloïdogénèse, de la pathologie Tau et les DNF associés, l'atrophie cérébrale et l'activation hippocampique par IRM fonctionnel (IRMf) dans la Maladie d'Alzheimer. Adapté de l'article original publié par Toniolo, 2020 : "Modulation of Brain Hyperexcitability: Potential New Therapeutic Approaches in Alzheimer's Disease" dans le journal IJMS.

**Figure 9 :** Compilation schématique de certaines particularités fonctionnelles & morphologiques du récepteur NMDA.

**Figure 10 :** Schémas simplifiés des mécanismes moléculaires mis en jeu lors de la LTP et LTD NMDA-dépendantes. Tirée de l'article original publié par Benarroch, 2018 : « Glutamatergic synaptic plasticity and dysfunction in Alzheimer disease » dans le journal Neurology.

**Figure 11 :** Schéma illustrant une partie des cibles de l'A $\beta$  sur la synapse tripartite glutamatergique excitatrice, comprenant le neurone présynaptique, postsynaptique et également l'astrocyte. Tiré de l'article original publié par Tu, 2014 : « Oligomeric A $\beta$ -induced synaptic dysfunction in Alzheimer's disease » dans le journal Molecular Neurodegeneration.**Figure 12 :** Illustration schématique : de la synthèse de la D-sérine par la sérine-racémase (SR) à partir de la L-sérine, sa dégradation par la SR ou bien la D-amino-acid-oxydase (à gauche) et plusieurs organes dans lesquels elle a été identifiée (à droite).

**Figure 13 :** Représentation schématique du modèle de la navette à sérine entre les astrocytes et les neurones.

**Figure 14** : Schéma présentant le principe de capture et de détection des différents isomères A $\beta$  au sien d'un même puit, à partir de kit MSD V-PLEX A $\beta$  peptide panel 1.

**Figure 15** : Photographie du dispositif d'électrophysiologie ex vivo extracellulaire montrant les différents éléments nécessaires à l'enregistrement du signal.

**Figure 16** : Schéma représentant les trois composantes du signal enregistrées au niveau du stratum radiatum de l'aire CA1 en réponse à la stimulation des collatérales de Schaeffer : 1) artéfact de stimulation, 2) volée afférente (FV pour fiber volley), 3) champ postsynaptique excitateur (fEPSP pour field excitatory post-synaptic potential).

**Figure 17** : Schéma illustrant la Paired-Pulse facilitation (PPF).

**Figure 18** : Schéma représentant le principal général des différentes composantes de la potentialisation à long terme (LTP). 1) ligne de base stabilisée lors des 15 minutes précédant la stimulation 2) stimulation conditionnante HFS (1sec x 100Hz) 3) période d'analyse de la plasticité à long-terme dont l'amplitude est mesurée sur les 15 dernière minutes de l'expérience.

**Figure 19** : Schéma de la cage d'actimétrie munie des faisceaux infrarouges parallèles.

**Figure 20** : Schéma du dispositif de l'openfield et des zones centrale et périphérique, délimitées virtuellement.

**Figure 21** : Schéma du dispositif de la boîte noire et blanche.

**Figure 22** : Schéma du dispositif du labyrinthe en Y utilisé pour le test de l'alternance spontanée.

**Figure 23** : Dispositif de la Piscine de Morris et de la séparation virtuelle en 4 quadrants.

**Figure 24** : Représentation schématique de l'apprentissage spatial et la mémoire de référence dans le MWM selon le protocole utilisé dans cette étude.

**Figure 25** : Activité locomotrice spontanée horizontale et verticale lors du test de la boîte d'actimétrie.

**Figure 26** : Pourcentage du temps passé dans le compartiment blanc de la boîte noire et blanche et pourcentage de distance passée dans le centre de l'openfield.

**Figure 27** : Activité locomotrice spontanée horizontale et verticale évaluées par le test de la boîte d'actimétrie.

**Figure 28** : Pourcentage de temps passé dans le centre de l'openfield et le pourcentage de distance parcourue dans le centre.

**Figure 29** : Pourcentage d'alternances réalisées lors du test du labyrinthe en Y.

**Figure 30** : Apprentissage spatial, mémoire de référence et flexibilité cognitive évalués par le test du MWM.

**Figure 31** : Dosage des taux de L-sérine hippocampique selon les trois âges étudiés.

**Figure 32** : Dosage des taux de glutamate hippocampique selon les trois âges étudiés.

**Figure 33** : Tableau résumant les principaux résultats obtenus au cours de cette thèse chez les souris 5xFAD et l'implication de la D-sérine associée.

**Figure 34** : Schéma proposant une implication dynamique des taux D-sérine au cours de l'évolution de la maladie d'Alzheimer et des possibles mécanismes à l'origine des fluctuations.

## Encadrés

**Encadré 1** : Formation hippocampique

**Encadré 2** : Récepteur NMDA et plasticités synaptiques

# Table des matières

<b>I. Introduction</b> .....	<b>14</b>
A. <i>La maladie d'Alzheimer &amp; la pathologie amyloïde</i> .....	14
1. Généralités sur la maladie d'Alzheimer.....	14
2. Aspects cliniques .....	15
3. La pathologie amyloïde : caractéristique histopathologique centrale .....	19
4. Diagnostic & traitements symptomatiques de la MA .....	41
B. <i>La D-sérine</i> .....	43
1. Synthèse/dégradation .....	43
2. Localisation cellulaire .....	45
3. Turn-over synaptique .....	45
4. Implications physiologiques et pathologiques de la D-sérine .....	48
C. <i>Objectif : implication de la D-sérine dans la pathologie amyloïde, à l'aide d'un modèle murin innovant.</i> .....	74
<b>II. Méthodologie</b> .....	<b>76</b>
A. <i>Animaux</i> .....	78
1. Provenance et conditions d'hébergement .....	78
B. <i>Caractérisation du profil amyloïde</i> .....	78
1. Préparation des tissus .....	79
2. Dosage protéique par méthode BCA.....	79
3. Dosage A $\beta$ par le kit MSD V-PLEX A $\beta$ peptide panel 1 (4G8).....	79
1. Coloration au Rouge Congo.....	80
C. <i>Étude du profil inflammatoire et d'expression de la SR</i> .....	81
D. <i>Détermination des taux d'acides aminés cérébraux par technique d'HPLC</i> .....	82
E. <i>Enregistrements électrophysiologiques par dérivation extracellulaire</i> .....	83
1. Préparation des tranches d'hippocampe .....	83
2. Dispositif expérimental .....	83
3. Enregistrements des potentiels de champs par dérivation extracellulaire .....	86
4. Application d'agents pharmacologiques .....	87
5. Protocoles de stimulation .....	87
F. <i>Étude comportementale</i> .....	90
1. Évaluation de l'activité locomotrice spontanée .....	90
2. Évaluation des comportements liés à l'anxiété.....	91
3. Évaluation des performances mnésiques.....	93
G. <i>Analyses statistiques</i> .....	98
<b>III. Résultats</b> .....	<b>102</b>
A. <i>Article 1 : Serine Racemase Deletion Affects the Excitatory/Inhibitory Balance of the Hippocampal CA1 Network</i> .....	102

B.	Article 2 (en préparation) :	<b>Early involvement of D-serine in <math>\beta</math>-amyloid-dependent pathophysiology</b> .....	122
C.	Données complémentaires à l'article 2 :	.....	156
<b>IV.</b>	<b>Discussion</b> .....		<b>170</b>
A.	Implication de la D-sérine dans la pathologie amyloïde.....		171
B.	Une modulation dynamique des taux de D-sérine dans la MA ? .....		178
C.	Utilisation des modèles animaux dans la recherche sur la MA : exemple des souris 5xFAD .....		180
<b>V.</b>	<b>Conclusion et perspectives</b> :.....		<b>184</b>
<b>VI.</b>	<b>Références</b> .....		<b>188</b>



## INTRODUCTION



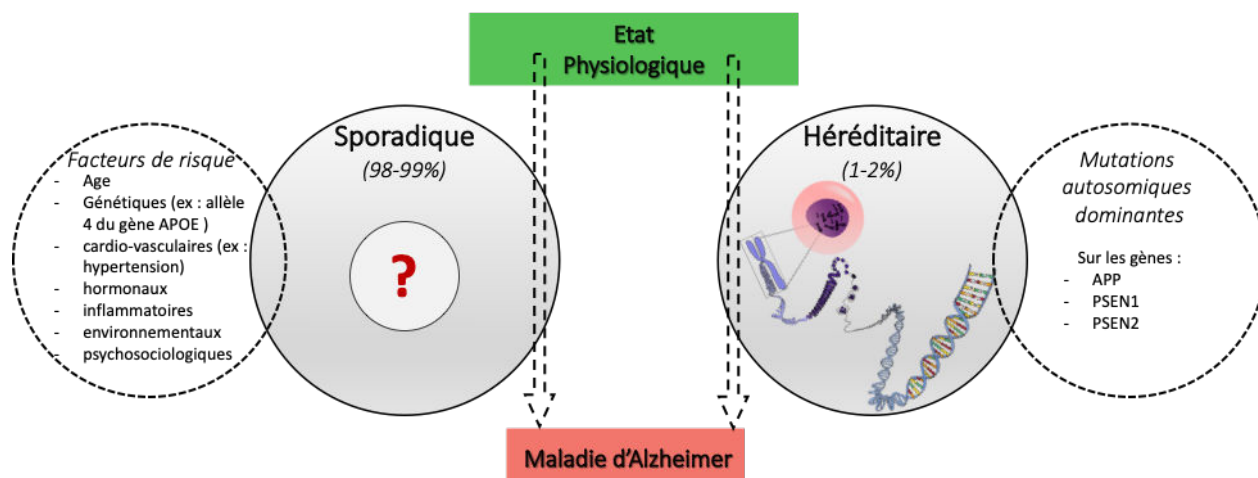


## I. Introduction

### A. La maladie d'Alzheimer & la pathologie amyloïde

#### 1. Généralités sur la maladie d'Alzheimer

La maladie d'Alzheimer (MA) est une pathologie neurologique complexe, caractérisée par un déclin cognitif progressif dont l'évolution amène à une perte d'autonomie. Caractérisée au début du XX<sup>ème</sup> siècle par le psychiatre Aloïs Alzheimer, la prise en charge d'Auguste Deter a permis d'établir les bases de la symptomatologie et des lésions histopathologiques cardinales de la maladie. Bien que cette femme fût seulement âgée d'une cinquantaine d'année lors de sa prise en charge, le diagnostic de cette pathologie ne présente qu'une incidence faible avant 65 ans. La prévalence de la MA double presque tous les 5 ans après 65 ans, pour arriver à 15% de la population aux alentours de 80 ans (Qiu *et al.*, 2009). Le cas d'Auguste n'est toutefois pas isolé et correspondrait à des patients présentant le plus souvent une forme dite « familiale » de la maladie, en raison de sa transmission autosomique dominante (Figure 1). Cette forme représente approximativement 1-2% des cas sur l'ensemble des patients atteints de la MA (Potter *et al.*, 2020). La forme ayant la plus forte incidence est appelée « sporadique » du fait de son étiologie encore imprécise. En effet, son déterminisme multifactoriel résulterait d'un mélange complexe de facteurs génétiques, cardio-vasculaires, hormonaux, inflammatoires, environnementaux et psychosociologiques. Un des facteurs les plus connus et étudiés, hormis l'âge avancé, correspond à un déterminisme génétique et plus précisément à la présence de l'allèle 4 du gène APOE (Michaelson, 2014). Codant pour l'apolipoprotéine E, la présence de cet allèle entraîne un risque trois fois supérieur de développer la maladie. De façon non-exhaustive, d'autres facteurs de risque peuvent être énumérés comme les régimes alimentaires riches en graisses saturées, l'hypertension, l'alcool, le tabac, la pollution environnementale, un faible niveau d'éducation ou encore une activité physique faible (Armstrong, 2019 ; Silvia *et al.*, 2019).



**Figure 1 :** Représentation schématique des formes sporadiques vs. familiales de la maladie d'Alzheimer et des facteurs de risque associés.

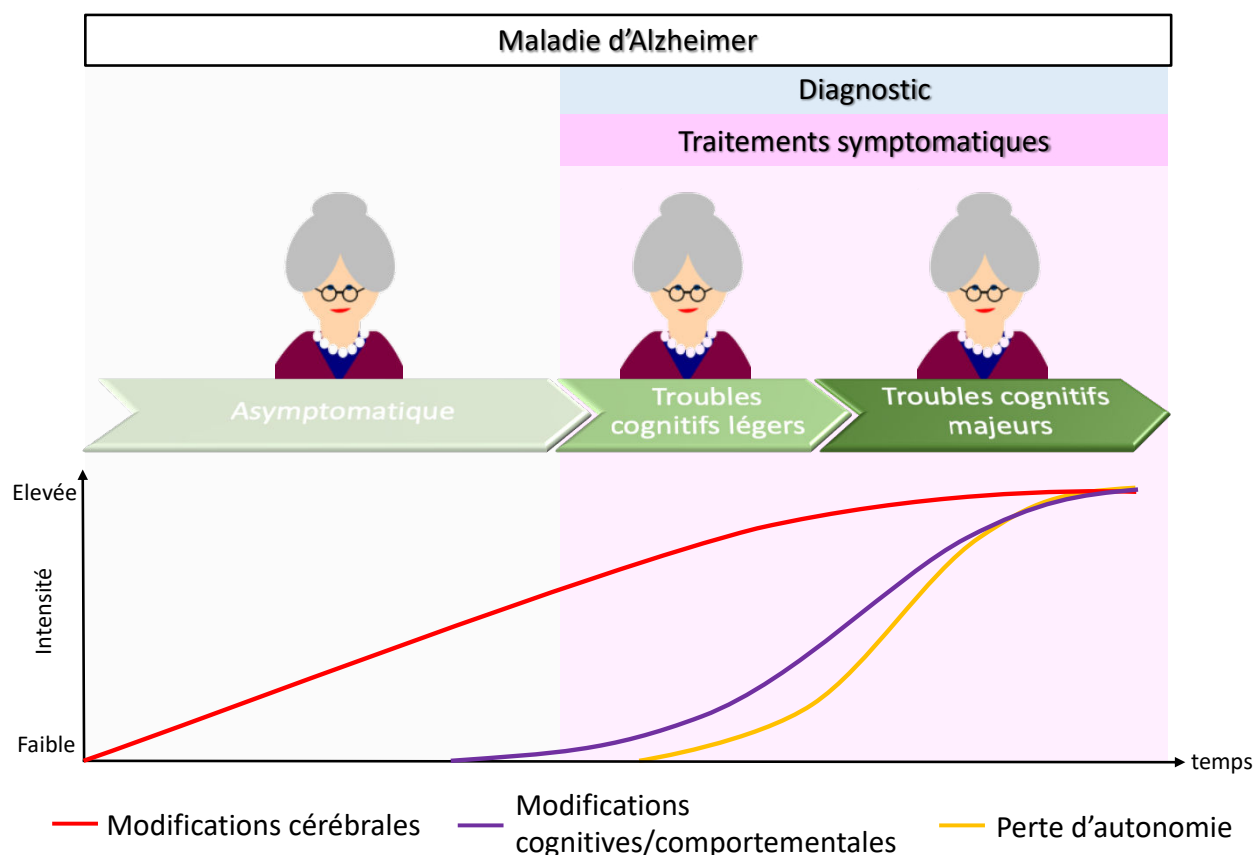
A noter que près des deux tiers des personnes atteintes de la MA sont des femmes (Alzheimer's association, 2017). Cette augmentation de fréquence serait liée à leur espérance de vie plus grande, mais également à des facteurs de risque beaucoup plus nombreux que chez les hommes, allant de la dépression, à la chute du taux d'œstrogènes après la ménopause, en passant par des complications liées à la grossesse (Ferretti *et al.*, 2018 ; Rahman *et al.*, 2020).

## 2. Aspects cliniques

La communauté scientifique et médicale découpe l'évolution de la MA suivant un schéma typique composé d'une phase asymptomatique suivie de différentes phases symptomatiques (Figure 2).

La première phase, asymptomatique, s'accompagne d'atteintes cérébrales qui pourraient débiter 10 à 20 ans avant l'arrivée des premiers changements comportementaux (Sperling *et al.*, 2014 ; Dubois *et al.*, 2016). Plusieurs éléments pourraient expliquer le fait que les premières modifications moléculaires, cellulaires et fonctionnelles ne se reflètent pas au niveau comportemental pendant toutes ces années. Le premier correspond à une étape initiale de fragilisation des mécanismes impliqués et qui ne laisseraient apparaître aucun signe extérieur. De façon complémentaire, des phénomènes de compensations importants des réseaux neuronaux -

dits résilients – pourraient apparaître, jusqu'à un point de rupture marquant la déclaration des premiers symptômes.

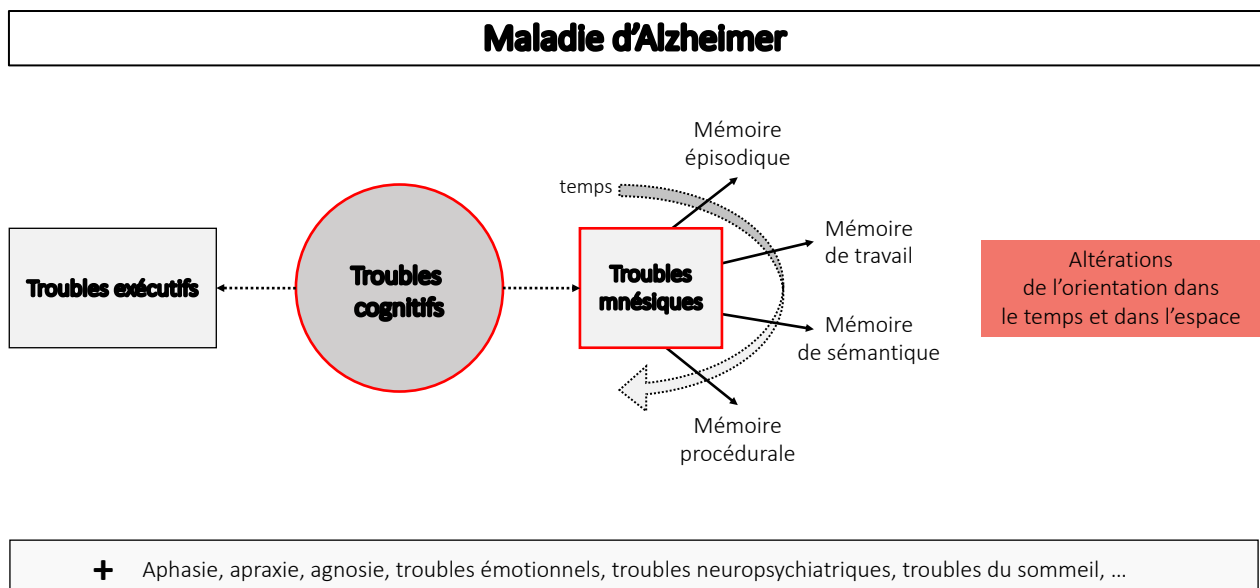


**Figure 2 :** Représentation schématique du développement de la maladie d'Alzheimer d'après le *Diagnostic and Statistical Manual 5 (DSM5)* et en fonction de la progression des modifications cérébrales, des modifications cognitives/comportementales et de la perte d'autonomie.

L'entrée dans la phase symptomatique amène généralement à une plainte émanant du patient lui-même ou de son entourage. Par ailleurs, bien que le développement et le décours du syndrome cognitivo-comportemental puisse être assez hétérogène, les domaines impactés sont souvent identiques pour la grande majorité des patients. Le DSM5 (*Diagnostic and Statistical Manuel 5*) propose un découpage en deux phases symptomatiques appelées : trouble cognitif léger et trouble cognitif majeur (Figure 2).

Au centre du tableau clinique se situent les processus mnésiques qui vont être altérés de façon précoce et s'aggravés au fil du temps (Figure 3). Dans les formes typiques, les déficits de la mémoire épisodique apparaissent en premier. Ces modifications concernent à la fois les processus d'encodage, de stockage et de récupération (Tromp *et al.*, 2015). Avec l'avancement de la maladie, les atteintes mnésiques se propagent à la mémoire de travail (Baudic *et al.*, 2006 ; Zokaei *et al.*, 2019, 2020) ; puis plus tardivement à la mémoire sémantique (Salmon *et al.*, 1999 ; Adlam *et al.*, 2006). De son côté, la mémoire procédurale, préservée dans les premiers stades, se dégrade vers les stades avancés de maladie.

Différentes composantes spatio-temporelles des processus cognitifs vont particulièrement être impactées (Delpolyi *et al.*, 2007 ; Ballessen *et al.*, 2012), aussi bien au sein des processus de mémoire épisodique, que dans ceux liés à la mémoire de travail. En outre, les problèmes d'orientation dans le temps et dans l'espace sont particulièrement révélateurs : ainsi les patients atteints de la MA se perdent sur un trajet habituel, ne savent plus se situer dans le temps et n'arrivent plus à réaliser de nouveaux apprentissages spatiaux.



**Figure 3 :** Représentation schématique des principaux troubles cognitifs et comportementaux généralement rencontrés dans la maladie d'Alzheimer.

En parallèle, d'autres sphères cognitives sont progressivement impactées, avec par exemple une perturbation des fonctions exécutives (Baudic *et al.*, 2006 ; Stopford *et al.*, 2012 ; Allain *et al.*, 2013 ; Guarino *et al.*, 2019). La présence de troubles de flexibilité cognitive, d'attention, de planification et d'inhibition va avoir un impact direct sur le quotidien de la personne atteinte. Associée aux troubles mnésiques, elle ne sera alors plus capable de préparer des recettes de cuisine, d'envoyer un courrier, de recevoir des amis, ou de réaliser de nombreuses autres situations de tous les jours. De surcroît, une anosognosie vis-à-vis des troubles cognitifs est également observée (Salmon *et al.*, 2005), en particulier lors des premières années de la maladie.

Par la suite se superposent des troubles d'aphasie, de dysorthographe, d'apraxie, des perturbations du rythme diurne, une altération des schémas veille-sommeil (Volicer *et al.*, 2001 ; Toljan & Homolak, 2021) mais également l'apparition de troubles émotionnels (Mendez, 2021). Ainsi, une anxiété marquée est souvent présente chez ces personnes avec l'apparition d'une irritabilité, et progressivement des syndromes dépressifs, associés à de l'agitation, de l'agressivité et des hallucinations lors des dernières phases de vie (Zhao *et al.*, 2016 ; Siafarikas *et al.*, 2018 ; Wiels *et al.*, 2021 ; Agüera-Ortiz *et al.*, 2021).

Pris dans leur ensemble, ces changements comportementaux impactent profondément la personnalité propre du malade, et par conséquent sa vie sociale. Dans les dernières phases de vie, la personne devient totalement dépendante pour toutes les activités de la vie quotidienne et les difficultés motrices croissantes aboutissent à une grabatisation de la personne. A ce triste constat, de multiples complications annexes surviennent dans les derniers stades, comme la malnutrition, le risque d'étouffement pendant les repas, les infections ou autres complications qui sont souvent la cause directe de la mort des personnes atteintes de la MA.

Cette description, non exhaustive, reflète les modifications comportementales des cas typiques de la MA. Cependant au sein même de cette catégorie, une grande variabilité est généralement notée, tant dans la vitesse de progression de la maladie, que dans l'intensité des symptômes.

### 3. La pathologie amyloïde : caractéristique histopathologique centrale

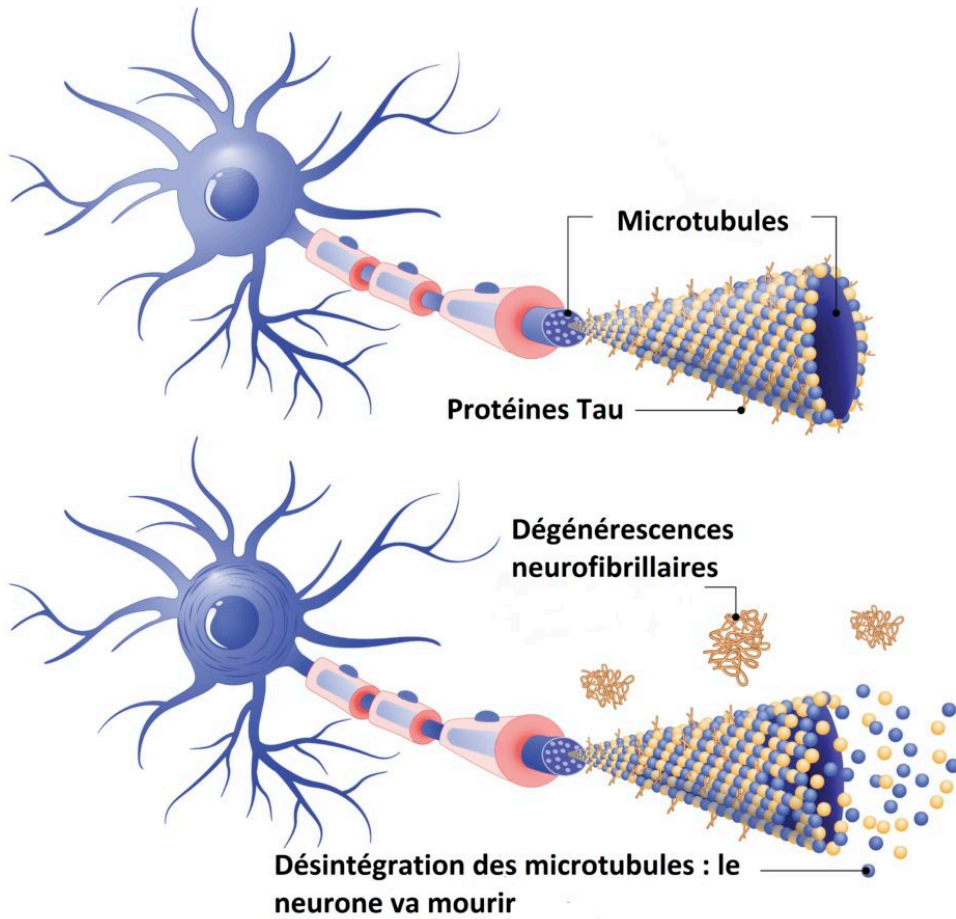
Dans le but de développer/améliorer la prise en charge thérapeutique des patients atteints de la MA, les mécanismes physiopathologiques qui sous-tendent les atteintes comportementales observées ont fait l'objet d'une recherche intense ces dernières décennies et celle-ci a permis d'améliorer un peu plus notre compréhension de l'étiologie de la maladie.

Les caractéristiques histopathologiques rapportées à ce jour sont multiples, mais les principales peuvent être divisées en deux grandes catégories. D'une part les lésions dites « positives », avec une **phosphorylation de la protéine Tau couplée à des dégénérescences neurofibrillaires (DNF) et l'amyloïdogénèse** ; et d'autre part les lésions dites « négatives » correspondant à une **perte neuronale et synaptique** et à des **altérations fonctionnelles des réseaux neuronaux**. A ces deux grandes catégories de signes pathologiques sont également associées des atteintes vasculaires et inflammatoires (Zlokovic *et al.*, 2011 ; Klohs, 2021 ; de Oliveira *et al.*, 2021).

Ce manuscrit se bornera à ne décrire que succinctement la phosphorylation de la protéine Tau et les DNF par l'illustration de la Figure 6, et se concentra sur le versant de l'amyloïdogénèse, en étudiant son impact sur les lésions dites « négatives ». Plusieurs revues bibliographiques sur la pathologie Tau et les DNF dans la MA peuvent être consultées pour une vision plus détaillée : Chong *et al.*, 2018 ; Gao *et al.*, 2018 ; Naseri *et al.*, 2019.

Il est néanmoins important de préciser qu'à ce jour, l'hypothèse actuelle expliquant la physiopathologie des déficits cognitifs présents dans la MA repose sur l'impact en symbiose de l'amyloïdogénèse et de la pathologie Tau associés aux DNF neurotoxiques (Gallardo & Holtzman, 2019 ; Busche *et al.*, 2020 ; Zhang *et al.*, 2021).

## Neurone sain



## Maladie d'Alzheimer

*Figure 6 : Représentation schématique de la désorganisation des microtubules neuronaux par la phosphorylation de la protéine Tau et la formation des dégénérescences neurofibrillaires toxiques. Illustration de © Designua | Dreamstime.com.*

### a) Métabolisme du peptide $\beta$ -amyloïde

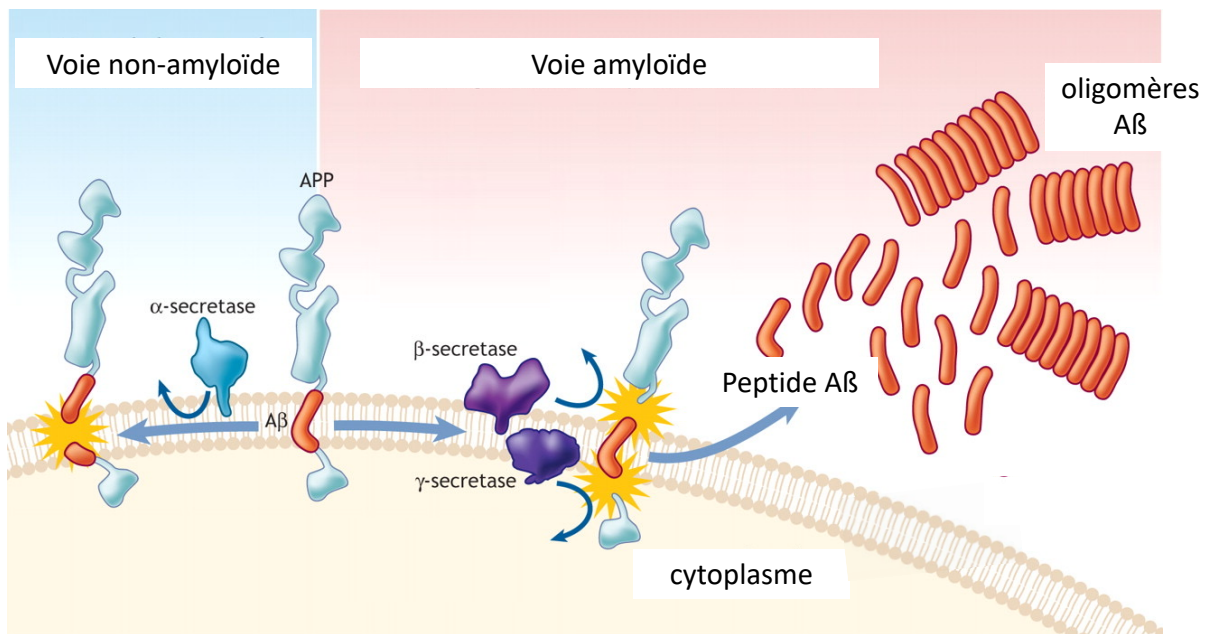
La présence de plaques composées de peptides  $\beta$ -amyloïde ( $A\beta$ ) agrégés représente l'une des caractéristiques histopathologiques majeures de la MA (Alzheimer *et al.*, 1906). Ces plaques constituent une lésion extraneuronale qui se retrouve au cours du vieillissement cérébral, aussi bien physiologique que pathologique, mais en des proportions très différentes.

La production du peptide A $\beta$  provient du clivage d'une molécule précurseur nommée APP pour « amyloid protein precursor » (Glennner & Wong, 1984). L'APP est synthétisée dans le réticulum endoplasmique puis transporté vers le complexe de Golgi, où il termine sa maturation, avant d'être transporté vers la membrane plasmique. Le précurseur peut alors être clivé par différentes enzymes (Figure 7) suivant une voie soit non-amyloïde (la plus empruntée en condition physiologique) soit amyloïde (Thinakaran & Koo, 2008).

La voie non amyloïde permet de prévenir la génération d'A $\beta$ , car l'APP est d'abord reconnu par l' $\alpha$ -sécrétase, générant des fragments  $\alpha$ -APP solubles (sAPP $\alpha$ ) et le fragment C-terminal  $\alpha$  (CTF $\alpha$ ). Ce dernier est ensuite clivé par la  $\gamma$ -sécrétase, produisant des fragments P3 et AICD (amyloid precursor protein intracellular domain) non toxiques.

L'entrée dans la voie amyloïde, privilégiée dans la MA, est réalisée lorsque l'APP est clivée successivement par les enzymes  $\beta$  puis  $\gamma$ -sécrétase, induisant la libération du peptide A $\beta$  sous forme monomérique (O'Brien & Wong, 2011 ; Figure 7). Toutefois, plusieurs travaux ont montré que la production de la forme monomérique du peptide A $\beta$  pouvait être aussi un événement physiologique en faible quantité qui joueraient un rôle dans la régulation des mécanismes de plasticité synaptique, essentiels à l'élaboration de nombreux processus mnésiques (Puzzo & Arancio, 2013 ; Morley & Farr, 2014). La toxicité de l'A $\beta$  apparaîtrait lorsque la balance entre sa production et sa dégradation se déséquilibre, amenant de fait une importante accumulation et à son agrégation dans les tissus.





**Figure 7 :** Illustration du clivage de l'APP et ses métabolites, selon la voie non-amyloïde et la voie amyloïde, adapté de l'article original publié par Patterson, 2008 : « *Diagnosis and treatment of dementia : 1. Risk assessment and primary prevention of Alzheimer disease* » dans le journal CMAJ.

Lors de sa production, différentes tailles du peptide A $\beta$  peuvent être générées (Roher *et al.*, 2017). En condition physiologique, une proportion très majoritaire de la forme composée de 40 acides aminés (A $\beta_{40}$ ) est retrouvée (Zhang *et al.*, 2011). Une forme plus longue (dite A $\beta_{42}$ ) est aussi produite, mais avec un pourcentage moindre et qui est associée à une plus grande pathogénicité (McGowan *et al.*, 2005 ; Qiu *et al.*, 2015). Si les taux d'A $\beta$  totaux sont grandement augmentés dans le tissu cérébral des patients atteints de la MA, le ratio A $\beta_{40}$ /A $\beta_{42}$  est lui diminué et pourrait constituer un facteur déterminant dans le développement de la toxicité dans la maladie (De Jonghe *et al.*, 2001 ; Karran *et al.*, 2011). L'importance de ce ratio dans la physiopathologie amyloïde réside dans les caractéristiques différentes de ces deux sous-types peptidiques, avec notamment un fort potentiel d'agrégation du peptide A $\beta_{42}$  contrairement à la forme A $\beta_{40}$  (Jan *et al.*, 2008 ; Yin *et al.*, 2007 ; Chang & Chen, 2014). Comme cela sera détaillé par la suite, l'augmentation des taux du peptide A $\beta_{42}$  dans la MA peut provenir de mutations affectant les acteurs de sa formation ; mais également d'un dysfonctionnement au niveau des mécanismes de clairance de l'A $\beta$ . En effet, le peptide A $\beta_{42}$  est lui-même en partie responsable de la diminution

de son élimination en régulant négativement la P-glycoprotéine, un transporteur impliqué dans sa clairance (Mawuenyega *et al.*, 2010 ; Park *et al.*, 2014 ; Baranello *et al.*, 2015).

Le peptide A $\beta$  monomérique peut s'assembler soit sous la forme d'oligomères solubles (A $\beta$ <sub>o</sub>), ou bien sous des formes insolubles formant alors des protofibrilles, les fibrilles et enfin les plaques amyloïdes. Bien que ces plaques aient été proposées lors de leur caractérisation comme la forme la plus nocive, des preuves accumulées au cours des deux dernières décennies arguent pour que la forme A $\beta$ <sub>o</sub> soit la plus dommageable pour les cellules cérébrales (Kayed & Lasagna-Reeves, 2013 ; Huang & Liu, 2020). L'impact des A $\beta$ <sub>o</sub> serait d'autant plus important qu'ils peuvent être générés à la fois de manière extracellulaire et intracellulaire, contrairement aux formes insolubles s'agrégeant seulement dans le milieu extracellulaire.

A noter qu'indépendamment de l'A $\beta$ , d'autres produits de clivage de l'APP ont été découverts récemment, tel que l'éta-amyloïde (A $\eta$ ), et qui pourraient également jouer un rôle dans la MA (Willem *et al.* 2015 ; Ward *et al.*, 2017). Si l'impact de l'A $\eta$  sur les déficits cognitifs n'a pas encore été très bien défini, il a toutefois été rapporté que ces peptides (A $\eta$ - $\alpha$  et A $\eta$ - $\beta$ ) pouvaient affecter le fonctionnement synaptique au sein des réseaux hippocampiques (Mensch *et al.*, 2021).

### *b) Mutations*

Le métabolisme de l'APP a rapidement été mis en relation avec les formes familiales de la MA chez lesquelles de nombreuses mutations à transmission autosomique dominante ont été découvertes. Ces mutations concernent essentiellement trois gènes, celui de l'APP, de la préséniline 1 (PSEN1) et celui de la préséniline 2 (PSEN2). Concernant les deux derniers, ces gènes permettent la synthèse protéique de deux des constituants de la  $\gamma$ -sécrétase (Oikawa & Walter, 2019).

- Mutations sur le gène APP

Actuellement, 24 mutations liées à l'APP et considérées comme pathogènes ont été répertoriées dans la base de données « Alzheimer Disease & Fronto temporal Dementia Mutation Database

(AD-FTD Mutation Database) ». Il a été montré que ces mutations entraînaient une augmentation de l'accumulation amyloïde et une diminution du ratio  $A\beta_{40/42}$  (Bertram *et al.*, 2010 ; Bertram & Tanzi, 2012). Par ailleurs, comme le gène de l'APP se trouve sur le chromosome 21, la prévalence d'être atteint de la MA est supérieure dans la population des personnes atteintes du syndrome de Down (plus communément appelé « Trisomie 21 »), comparativement à celle de la population générale (Castro *et al.*, 2017).

- Mutations sur les gènes des présénilines 1 et 2

Le gène PSEN1 est le plus fréquemment impliqué dans la MA de forme autosomique dominante, où plus de 180 mutations de ce gène ont été répertoriées à ce jour (AD-FTD Mutation Database). Beaucoup plus rares, les mutations du gène PSEN2 sont actuellement au nombre de 13 et représentent 6% des familles avec transmission autosomique dominante. De plus, si près de 70% de ces mutations ont une pathogénicité avérée, des données complémentaires sont encore nécessaires pour les 30% restants.

Sachant que les formes familiales et les formes sporadiques partagent de nombreuses similitudes sur le plan clinique, une meilleure connaissance des mécanismes impliqués dans les cas familiaux peut donc s'avérer essentiels pour la compréhension des mécanismes associés aux cas sporadiques.

### *c) Impacts de l'accumulation amyloïde sur les processus cognitifs*

Contrairement à la pathologie Tau et l'accumulation intra-neuronale des DNF, le processus d'amyloïdogénèse a longtemps été considéré comme dissocié des stades cliniques (Nelson *et al.*, 2012). Actuellement, les liens entre la charge amyloïde et les performances cognitives sont surtout évoqués au cours des stades très précoces, voir précliniques de la maladie. Ces liens résulteraient d'une fragilisation des réseaux neuronaux (Pike *et al.*, 2007 ; Chételat *et al.*, 2010). Ainsi lorsque la maladie évolue vers les stades symptomatiques du trouble cognitif léger ou majeur, l'accumulation amyloïde atteindrait ou aurait déjà atteint un plateau déconnecté de l'évolution clinique.

Chez l'animal, la pathologie amyloïde a été associée à un panel de déficits cognitifs - incluant de nombreuses atteintes retrouvées chez les patients Alzheimer (Webster *et al.*, 2014 ; Nakai *et al.*, 2021). Notamment, des altérations de capacités mnésiques associées à une composante spatiale, comme dans la mémoire de référence ou de type épisodique (Hsiao *et al.*, 1996 ; Dodart *et al.*, 1999 ; Xian *et al.*, 2020 ; Sanchez-Varo *et al.*, 2021), mais également certains processus de mémoire travail (Hsiao *et al.*, 1996). De nombreuses autres sphères cognitives impactées dans la MA ont également été retrouvées altérées dans les modèles animaux. Ces atteintes comportementales ont plus précisément été retrouvées chez des animaux contrôles recevant des injections d'A $\beta$  par voie intracérébrale, dans des modèles transgéniques possédant une ou plusieurs mutations des formes familiales, ainsi que chez des animaux exprimant les caractéristiques histopathologiques centrales après transfections virales (Audrain *et al.*, 2016 ; Nakai *et al.*, 2021). L'utilisation de modèles animaux apparaît donc pertinente dans l'étude des mécanismes physiopathologiques de l'accumulation amyloïde en lien avec la MA (revues : Drummond & Wisniewski, 2017 ; Newman *et al.*, 2017).

*d) Impacts de l'accumulation amyloïde sur la neurodégénérescence et l'activité cérébrale*

Toutes les régions cérébrales ne sont pas vulnérables de la même façon aux processus du vieillissement physiologique mais également en conditions pathologiques. Les aires impliquées dans les processus cognitifs et principalement les fonctions mnésiques sont celles qui apparaissent être les plus fragiles. La formation hippocampique fait partie de ces régions particulièrement vulnérables (West *et al.*, 2007 ; Bartsch & Wulff, 2015 ; Pandya & Patani, 2021) et sera la région d'intérêt de ce manuscrit. De manière à mieux comprendre l'importance des modifications rapportées au sein de cette région dans la MA (Moodley & Chan, 2014 ; Mufson *et al.*, 2015), une description morphologique et fonctionnelle de la formation hippocampique, associée son rôle dans les processus mnésiques et d'apprentissages, est disponible dans l'encadré 1 de ce manuscrit.

## ENCADRE 1

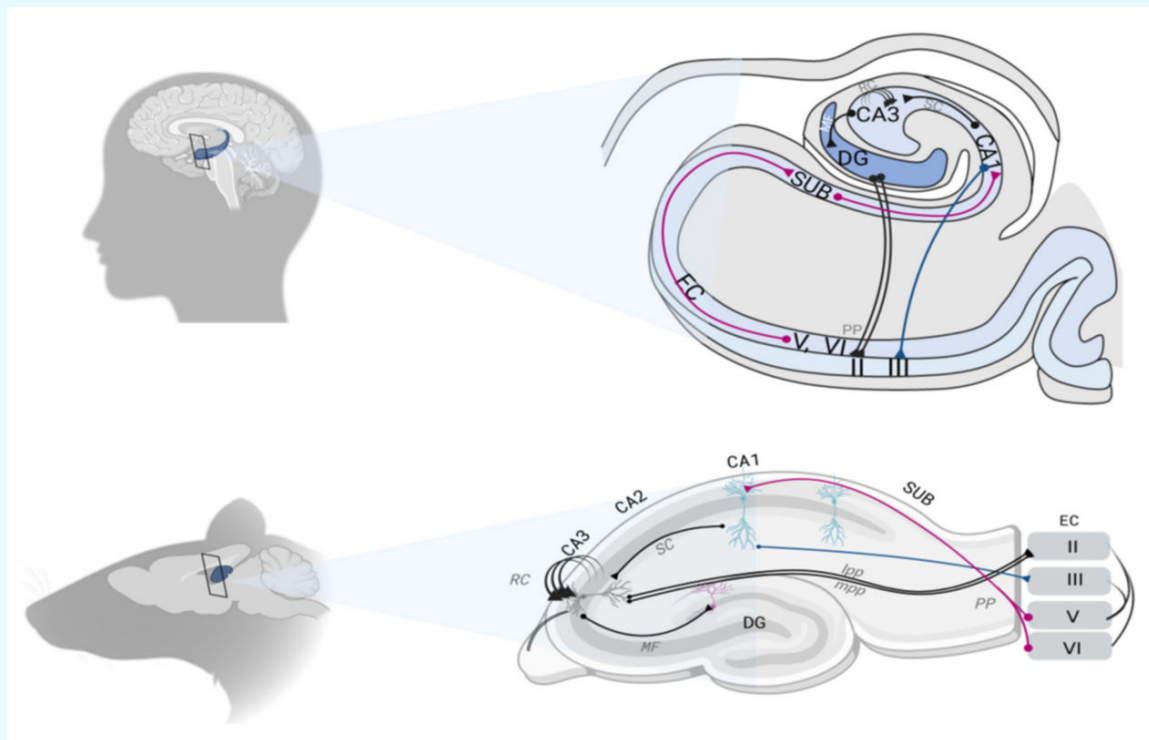
### Formation hippocampique :

Dès la moitié du 20<sup>ème</sup> siècle, il a été suggéré que des groupes de cellules travailleraient ensemble pour représenter les informations perçues et que ces assemblées de neurones seraient réparties sur de larges zones corticales (Hebb, 1949). Dans un même temps, il a également été introduit l'idée que le comportement serait guidé par des représentations de la mémoire, organisées comme une carte cognitive (Tolman, 1948). A partir de là, la compréhension des mécanismes de stockage de l'information et des régions cérébrales impliquées a particulièrement progressé grâce à l'observation des lésions cérébrales, à la fois chez les patients amnésiques mais également chez l'animal. En outre, le cas d'Henry Gustav Molaison - ou plus communément appelé HM (1953) - a permis de mettre l'hippocampe à l'avant-garde de la recherche sur les bases neurobiologiques de la mémoire et les cas cliniques ont plus généralement ouvert tout un champ de recherche sur cette région cérébrale.

En effet, de nombreuses études ont été réalisées chez l'humain et l'animal afin d'essayer de caractériser l'hippocampe et son implication dans les différents types d'apprentissages et de mémoire. En 1971, à l'aide d'enregistrements hippocampiques, O'Keefe et Dostrovsky firent la découverte des « cellules de lieu » au sein du sous-champs CA1 (O'Keefe & Dostrovsky, 1971 ; Saphiro, 2001). Ces cellules ont la particularité de s'activer spécifiquement lorsqu'une personne se trouve dans un lieu précis. D'après ces observations, ils émirent l'hypothèse que la carte cognitive se localiserait dans l'hippocampe et que les cellules de lieu seraient le substrat neuronal de cette carte. C'est alors que l'hippocampe devient une structure référente dans la recherche sur la navigation et la mémoire spatiale. Ces découvertes ont poussé les chercheurs à accentuer leurs recherches, ce qui a permis entre autres de découvrir la plasticité synaptique fonctionnelle et particulièrement la potentialisation à long terme (Bliss & Lomo, 1973 ; Nicoll, 2017). Ce modèle prééminent de la base cellulaire des processus mnésiques a été retrouvé dans le cortex cérébral mais également au sein des cellules de la formation hippocampique comme cela sera abordé dans l'encadré 2 de ce manuscrit.

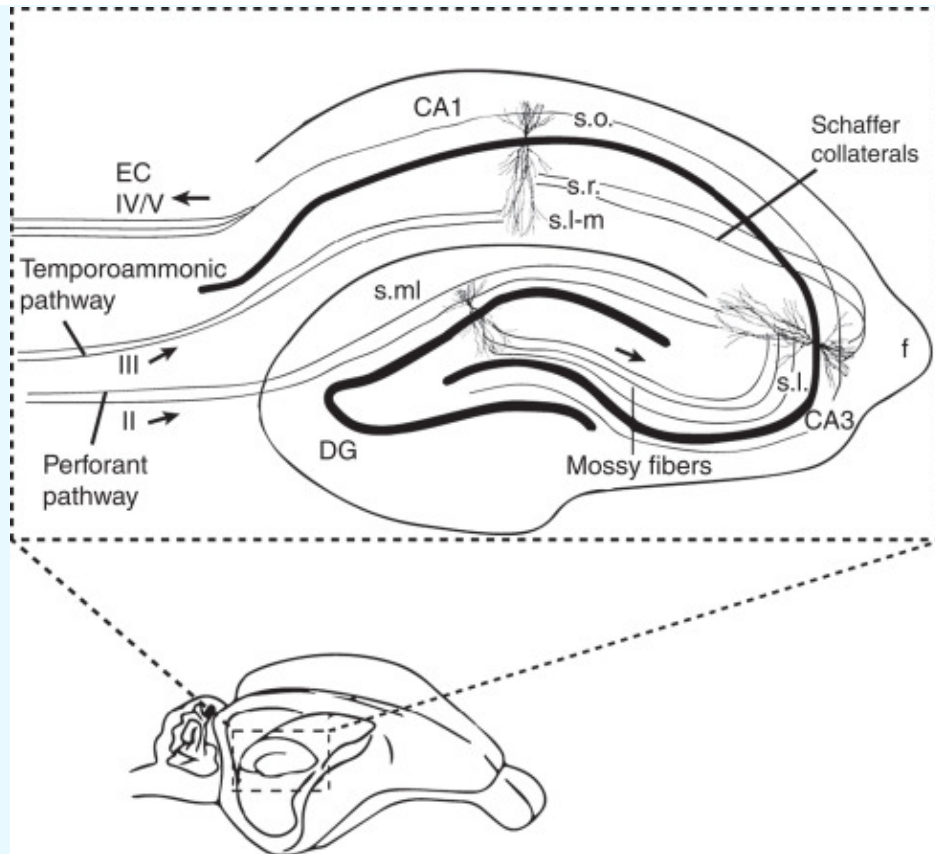
### Anatomie de la formation hippocampique et de ses circuits intrinsèques :

Pour revenir à une description plus structurelle, l'hippocampe est présent au sein du lobe temporal et est composé au sens strict du terme d'une structure nommée « Corne d'Amon, CA », elle-même composée de sous-régions : CA1, CA2, CA3 et CA4. Plusieurs structures adjacentes à l'hippocampe peuvent être ajoutées et constituer "la formation hippocampique". Dans ce cas le Gyrus Denté (GD), le cortex entorhinal (CE) et le subiculum sont ajoutés à la CA (Figure 4).



**Figure 4 :** Représentation schématique de la formation hippocampique et l'organisation de son circuit synaptique chez l'Humain et le rongeur. Tirée de l'article original publié par Roux, 2021 : "Memory Disorders Related to Hippocampal Function: The Interest of 5-HT4Rs Targeting" dans le journal IJMS. EC pour Entorhinal cortex ou Cortex entorhinal. DG pour Dentate gyrus ou Gyrus denté. SUB pour subiculum.

La formation hippocampique forme un réseau multisynaptiques (Figures 4 et 5) suivant un schéma particulier où chaque sous-région va former des connexions spécifiques qui les distinguent les unes des autres. Comme illustré en Figure 5, le circuit débute avec le CE qui constitue la principale entrée corticale de l'hippocampe. Les projections d'une de ses couches superficielles vont en direction du GD via « la voie perforante », puis directement vers le sous-champs CA3. Les neurones d'une seconde couche superficielle du CE vont également se projeter vers l'aire CA1 de l'hippocampe. A son tour Le GD se projette vers la sous-région CA3 via la voie « des fibres moussues » qui elle-même se projette dans la sous-région CA1 par la voie « des collatérales de Schaeffer ». Les axones de l'aire CA3 ont également la particularité d'envoyer des collatérales faisant des synapses sur d'autres neurones, en plus de leurs projections vers le CA1. Cette dernière va envoyer ses prolongements vers le subiculum qui contacte en retour le cortex entorhinal.



**Figure 5 :** Représentation schématique d'une coupe hippocampique chez le rongeur et des différentes couches qui le composent : s.o pour stratum oriens ; s.r pour stratum radiatum ; s.l-m pour stratum lacunosum-moleculare ; s.l pour stratum lucidum. Tiré du chapitre original provenant de "Encyclopedia of the Neurological Sciences Reference Work", second Edition, 2014.

Une connectivité le long de l'axe longitudinal a également été trouvée chez les rongeurs. En effet, selon son versant dorsal ou ventral la formation hippocampique est impliquée de manière différente dans la mémoire et la cognition émotionnelle et spatiale (Bannerman *et al.*, 2004 ; Fanselow & Dong, 2010). En effet, en position ventrale la formation hippocampe a principalement été impliquée dans les composantes émotionnelles des processus mnésiques ; alors que la partie dorsale a principalement été relié à la composante spatiale. Ces spécificités ont été reliées aux sorties, ou efférences, différentes selon cette ségrégation. La formation hippocampique ventrale possède des projections importantes avec l'amygdale ou encore une partie de l'hypothalamus ; alors que la partie dorsale a des sorties vers le septum latéral et les corps mamillaires.

Un axe transversal peut également être décrit au sein du circuit hippocampique et se compose de différentes couches décrites dans la Figure 5.

## Implication des sous-régions hippocampiques :

Les synapses du GD avec le sous-champ CA3 sont particulièrement impliquées dans la séparation de pattern (Leutgeb *et al.*, 2007). Cette capacité correspond en quelques sorte à un réducteur d'interférence qui permet de distinguer deux informations proches. En d'autres termes, elle permet de lever l'ambiguïté des entrées sensorielles provenant d'expériences similaires. La sous-région CA3 a montré une spécialisation dans la complétion de pattern qui permet de réactiver l'ensemble d'un contexte précédemment encodé, à partir d'une partie de l'entrée initiale et non de l'information en entier, via un processus de généralisation (Grande *et al.*, 2019). De son côté, la sous-région CA1, sortie principale de l'hippocampe, va être impliquée dans l'organisation temporelle des cellules de lieux - décrites ci-dessus. De plus, cette sous-région va effectuer une représentation précise d'un contexte dans son entier (Barrientos & Tiznado, 2016). Cela lui est permis par le fait que l'entrée directe du CE n'est pas suffisante seule pour déclencher un potentiel d'action dans l'aire CA1, mais nécessite une entrée CA3 simultanée. Les nombreuses recherches sur cette sous-région a permis d'élargir ses fonctions avec un rôle important dans les aspects temporels de la mémoire. En conséquence, les deux types d'afférences vers les cellules CA1 permettraient une comparaison des informations entrantes par le CE de l'événement actuel, avec les informations provenant du CA3 qui représentent des informations familières. De surcroît, ses rétroprojections vers le cortex soutiennent son implication dans les processus de consolidation mnésique.

Le lien entre l'intégrité de la formation hippocampique et la MA est apparue très tôt. En effet, les analyses post-mortem des patients Alzheimer ont rapidement rapporté une atrophie très importante du tissu cérébral au sein de cette région (Schuff *et al.*, 2002, 2009 ; Mueller *et al.*, 2010 ; Sabuncu *et al.*, 2011). La perte d'un pourcentage significatif de cellules (principalement neuronales) a rapidement été caractérisée et mise en relation avec les troubles mnésiques hippocampo-dépendants présents chez la majorité des patients (Moodley & Chan, 2014). Cependant le lien entre l'atrophie hippocampique et les atteintes cognitives est plus complexe qu'il n'y paraît. En effet, deux types de mort cellulaire peuvent être observés chez les patients et dans les modèles animaux liés à cette maladie.

Comme énoncé précédemment, le premier type correspond à une neurodégénérescence très importante, retrouvée lors des stades symptomatiques, et qui s'aggrave au fur et à mesure de l'avancée de la maladie. Toutefois, contrairement à ce qui était pensé initialement, cette mort



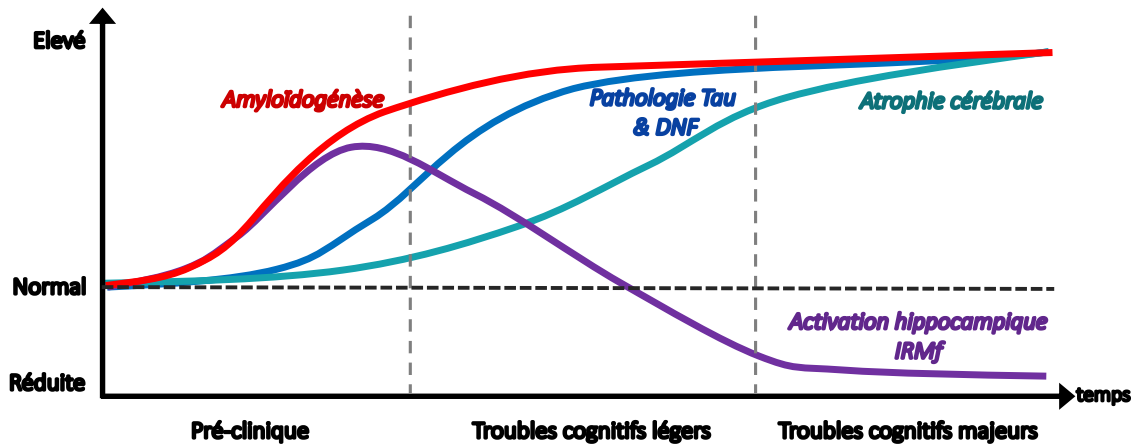
neuronale majeure ne contribuerait qu'à l'aggravation du syndrome comportemental, sans être à l'origine des déficits cognitifs hippocampo-dépendants. Cette atrophie n'est d'ailleurs pas restreinte à l'hippocampe, mais généralisée à de nombreuses zones cérébrales, principalement corticales (Braak & Braak, 1991 ; Hyman *et al*, 2012).

Le second type de neurogénescence interviendrait précocement et serait le résultat des premières altérations au sien des connexions neuronales (Davies *et al.*, 1987 ; Masliah *et al.*, 1991 ; Terry *et al.*, 1991 ; Selkoe, 2002 ; Palop & Mucke, 2010). Ce type de neurodegenerescence a en partie été relié à la pathologie amyloïde mais avant l'établissement des plaques amyloïdes et participerait à l'établissement des premiers déficits cognitifs. A noter que la pathologie Tau aurait également son rôle à jouer par la suite mais dans une moindre mesure. Ainsi, plusieurs études proposent que l'initiation des modifications cognitives hippocampo-dépendantes seraient plus corrélées à une dérégulation précoce de la plasticité des réseaux neuronaux qu'à l'atrophie massive de la structure par la suite (Selkoe, 2002 ; Palop & Mucke, 2010).

De nombreux travaux se sont intéressés aux modifications fonctionnelles des réseaux neuronaux dans la MA et une dichotomie intéressante en est ressortie (Figure 8). D'une part, une activation excessive des réseaux neuronaux - comprenant principalement les régions hippocampiques avec le lobe temporal médian et de plusieurs régions corticales – peut être détectée durant les années qui précèdent le diagnostic de MA (Sperling *et al.*, 2010). Cette hyperactivité a été observée dans de nombreuses études examinant des individus ayant la forme familiale ou bien à risques génétiques de MA (Dickerson *et al.*, 2005 ; Celone *et al.*, 2006 ; Quiroz *et al.*, 2010 ; Bakker *et al.*, 2012 ; Sepulveda-Falla *et al.*, 2012), comme les porteurs de l'allèle APOE4 (Bookheimer *et al.*, 2000 ; Trivedi *et al.*, 2008 ; Kunz *et al.*, 2015).

Pendant de nombreuses années, cette modification cérébrale a été considérée comme une réponse compensatoire à la détérioration des circuits neuronaux, de sorte qu'un effort cognitif plus important était nécessaire pour obtenir des performances comparables (Bondi *et al.*, 2005).

Cependant, des études plus récentes suggèrent que l'hyperactivité des réseaux neuronaux liés aux processus mnésiques, proviendrait au contraire d'une perturbation de la communication neuronale par des processus d'excitotoxicité dans lesquels les neurones et leurs connexions disparaîtraient in fine en raison d'une suractivation (Busche *et al.*, 2012, 2015). En outre, des études longitudinales ont également permis de corrélérer le degré de cette hyperactivité précoce avec les déclinés mnésiques apparaissant par la suite (Bookheimer *et al.*, 2000 ; Leal *et al.*, 2017). Dans une seconde phase de la progression de la maladie, les réseaux neuronaux basculeraient progressivement dans un niveau d'hypoactivité (Celone *et al.*, 2006 ; Persson *et al.*, 2008 ; Busche & Konnerth, 2016).



**Figure 8** : Représentation de l'évolution de l'amyloïdogénèse, de la pathologie Tau et les DNF associés, de l'atrophie cérébrale et de l'activation hippocampique par imagerie par résonance magnétique fonctionnelle (IRMf) dans la Maladie d'Alzheimer. Adapté de l'article original publié par Toniolo, 2020 : "Modulation of Brain Hyperexcitability: Potential New Therapeutic Approaches in Alzheimer's Disease" dans le journal *IJMS*.

Concernant l'origine de ces modifications fonctionnelles, l'hyperactivité neuronale précoce a été reliée à la pathologie amyloïde. L'hypoactivité quant à elle pourrait avoir une double origine. Elle pourrait être la conséquence tardive de l'hyperactivation provoquée par l'amyloïdogénèse, mais pourrait également être la réponse des effets toxiques provenant de la synergie entre la pathologie amyloïde et celle des DNF (Figure 8). Malgré l'amélioration significative des techniques d'investigation dans le domaine de la recherche biomédicale, l'analyse des mécanismes cellulaires

et moléculaires impactés chez l'homme reste difficilement accessible, et en particulier dans les phases les plus précoces et de ce fait plus difficilement identifiables. L'utilisation de modèles animaux reflétant une ou plusieurs caractéristiques retrouvées dans la MA apparaît alors indispensable pour une caractérisation plus fine des mécanismes impliqués. Ces modifications de l'activité des réseaux neuronaux ont d'ailleurs été retrouvées dans plusieurs modèles animaux transgéniques présentant une amyloïdogénèse accentuée, tels que les souris 5xFAD, 3xTg-AD, APP23xPS45 et APP/PS1 (Busche *et al.*, 2012 ; Davis *et al.*, 2014 ; Korzhova *et al.*, 2021 ; Vitale *et al.*, 2021). Dès lors, les études ont tenté de déterminer de quelle façon la plasticité synaptique au sein des réseaux hippocampiques était impactée par l'A $\beta$ .

## ENCADRE 2

### Récepteur NMDA & plasticité synaptique

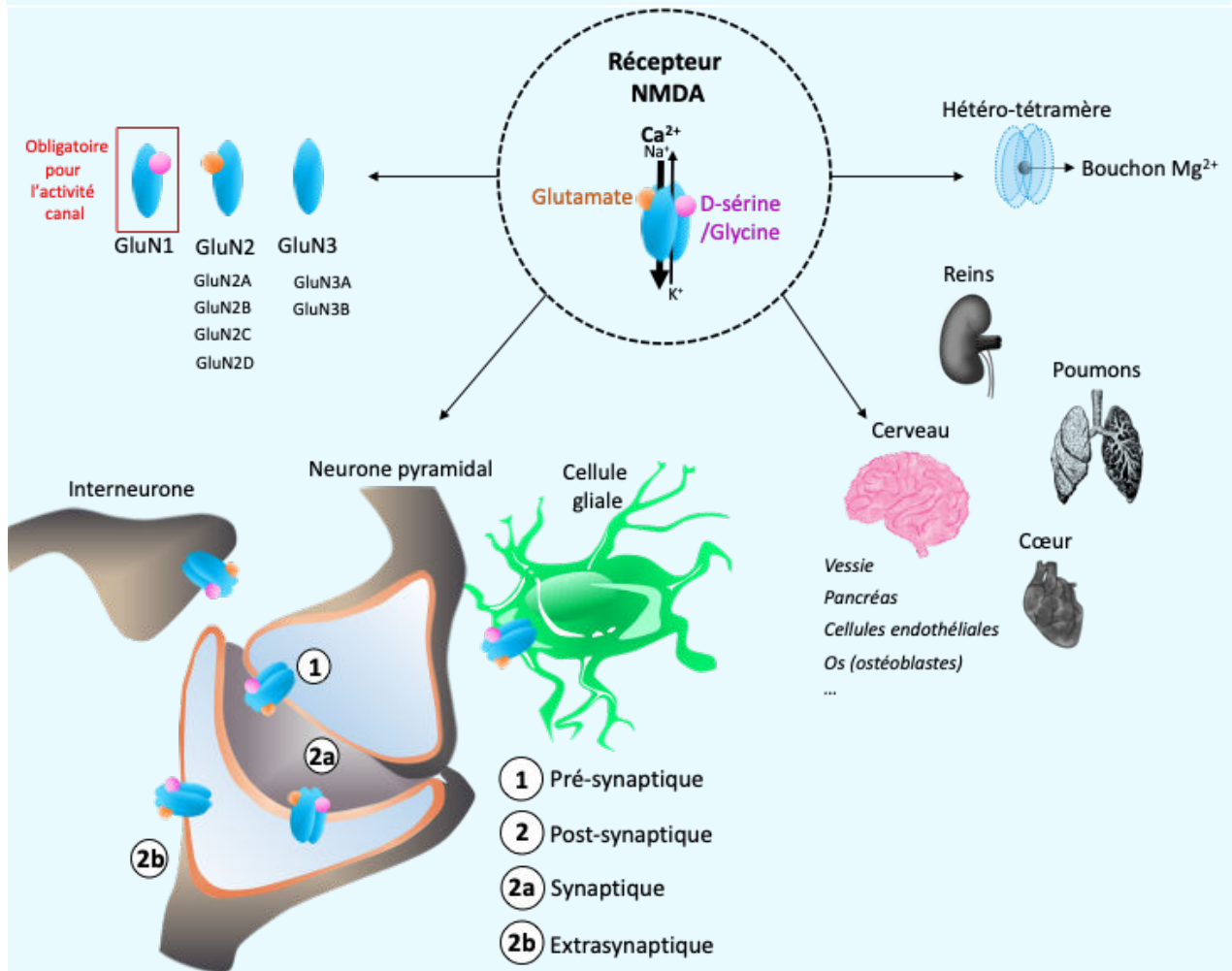
Cet encadré a pour but de présenter une vue générale du **récepteur N-méthyl-D-aspartate (NMDA-R)** du glutamate, d'un point de vue morphologique et fonctionnel. Pour une vision plus complète et détaillée de ce récepteur, plusieurs revues sont disponibles à la lecture : Paoletti *et al.*, 2011 ; Hansen *et al.*, 2018.

Tout d'abord, l'expression de ce récepteur a été retrouvée pour différents types cellulaires (Figure 9). Néanmoins, s'ils ont été identifiés sur les interneurons Gabaergiques (Booker *et al.*, 2021) et les cellules gliales comme les astrocytes (Palygin *et al.*, 2011 ; Skowronska *et al.*, 2019 ; Verkhratsky & Chvatal, 2020) ou les microglies (Kaindl *et al.*, 2008, 2012), ils restent toutefois majoritairement associés aux neurones pyramidaux (Pongrácz *et al.*, 1992). De plus, comme illustré sur la Figure 10, les NMDA-R neuronaux peuvent être classifiés en différentes catégories en fonction de leur position dans le réseau cellulaire : récepteurs sur les fibres présynaptiques et récepteurs sur les neurones postsynaptiques (majoritairement) avec une localisation dans la fente synaptique ou dans la zone extrasynaptique.

Le NMDA-R est un récepteur canal perméable aux cations divalents comme le  $Ca^{2+}$  ainsi qu'aux cations monovalents comme le  $Na^+$  et le  $K^+$ . Il s'agit d'un hétérotétramère composé de l'association de différentes sous-unités, incluant les types GluN1, GluN2, GluN3. Différents sous-types de sous-unités ont également été caractérisés comme GluN2A, GluN2B, GluN2C, GluN2D et GluN3A, GluN3B. Au niveau hippocampique, la majorité des NMDA-R est constituée de l'association de deux sous-unités GluN1 couplées à deux sous-unités GluN2A ou GluN2B. Néanmoins, les combinaisons ne forment pas toujours des di-hétéromères mais peuvent également être composé d'un seul type de sous-unité ou bien de tri-hétéromères. Une caractéristique essentielle réside dans la présence obligatoire d'au moins une sous-unité GluN1 pour avoir une activité canal. De plus, la nature de la combinaison en sous-unités des NMDA-R a son importance car elle détermine les caractéristiques fonctionnelles de ces récepteurs (Cull-Candy & Leszkiewicz, 2004). En effet, les différentes sous-unités diffèrent par leurs propriétés cinétiques d'ouverture et de fermeture du canal et de leur sensibilité au blocage par le magnésium.

Comme schématisée Figure 9, l'activation du NMDA-R a la particularité de nécessiter à la fois la fixation de son agoniste au niveau d'un site spécifique porté par la sous-unité GluN2 ; mais également la fixation d'un co-agoniste sur un second site présent sur la sous-unité GluN1 (Martineau *et al.*, 2006). Comme l'indique son nom, le NMDA-R a été caractérisé pharmacologiquement par l'agoniste N-méthyl-D-aspartate, mais son agoniste endogène majoritaire est le glutamate, neurotransmetteur exciteur prédominant dans le système nerveux central (Hansen *et al.*, 2021). Concernant le co-agoniste, il fut

initialement identifié comme l'acide-aminé glycine, d'où le nom de « site glycine » attribué à cet espace de fixation (Johnson & Ascher, 1987). Cependant, un second co-agoniste a été identifié par la suite : l'acide-aminé D-sérine qui serait majoritaire dans le néocortex (Schell *et al.*, 1995). Au niveau hippocampique, les études proposent une préférence distincte pour chacun de ces co-agonistes en fonction du territoire concerné : la D-sérine comme co-agoniste préférentiel aux synapses CA3-CA1 et la glycine comme étant principalement impliquée dans les synapses entre le cortex entorhinal et le DG (Le bail *et al.*, 2015).



**Figure 9 :** Compilation schématique de certaines particularités fonctionnelles & morphologiques du récepteur NMDA.

Au niveau fonctionnel, le NMDA-R participe au développement du cerveau ou du cervelet (Ewald & Cline, 2009), mais également à la maturation des synapses glutamatergiques à l'âge adulte (Wu *et al.*, 1996 ; Anderson *et al.*, 2004). Grâce à sa propriété d'intégration de l'activité synaptique et à sa perméabilité au calcium, ce récepteur est associé à la survie des neurones mais surtout a été

étudié pour son rôle essentiel dans la plasticité morphologique et fonctionnelle du SNC, incluant notamment la potentialisation à long-terme (ou LTP pour long-term potentiation ; Volianski *et al.*, 2015) et la dépression à long-terme (ou LTD pour long-term depression, Lüscher & Malenka, 2012). Les deux étant des mécanismes cellulaires associés à la formation de certains types d'apprentissages et de processus mnésiques (Escobar & Derrick, 2007).

La LTP est un renforcement persistant de l'activité d'une connexion synaptique. Un des acteurs le plus étudié initiant ce type de plasticité est le NMDA-R, on parle alors de « LTP-NMDA-dépendante ». Les bases moléculaires sous-tendant cette plasticité sont maintenant bien comprises, comme l'illustre la Figure 10. La LTP-NMDA-dépendante se base en partie sur plusieurs propriétés exceptionnelles de NMDA-R et notamment sa perméabilité au  $\text{Ca}^{2+}$  ainsi que son blocage voltage-dépendant par le  $\text{Mg}^{2+}$ .

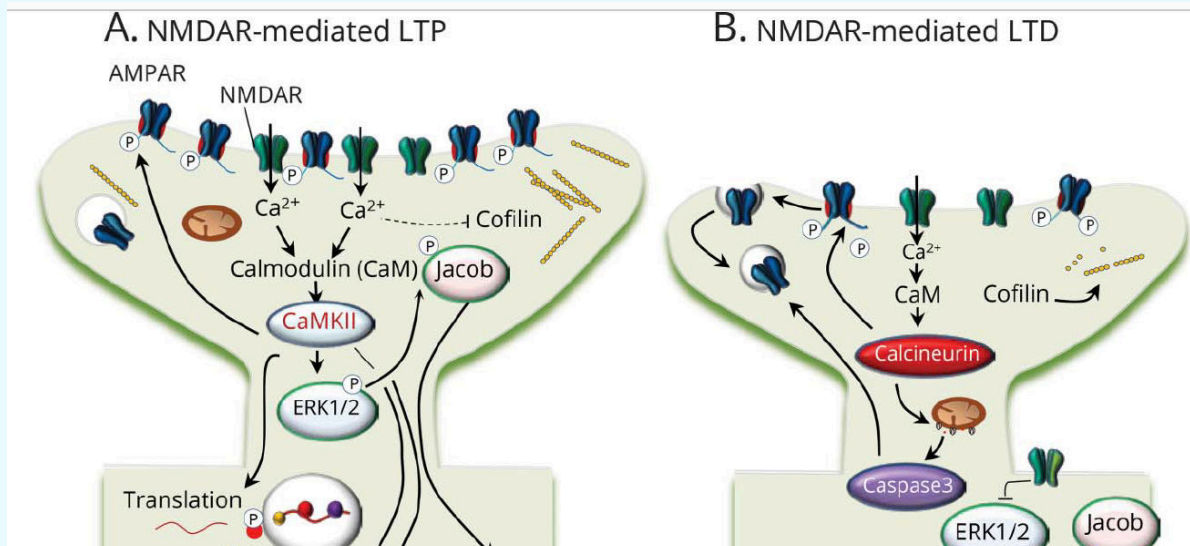
Au cours d'une transmission synaptique à basse fréquence, le glutamate libéré par les terminaisons présynaptiques se lie à la fois aux récepteurs AMPA (acide  $\alpha$ -amino-3-hydroxy-5-méthyl-4-isoxazolepropionique), kaïnate et aux NMDA-R n'entraînant qu'une modification mineure et transitoire du potentiel membranaire de repos des neurones postsynaptiques. Dans ces conditions, le pore du canal des NMDA-R est bloqué par le  $\text{Mg}^{2+}$ , empêchant ainsi ces récepteurs de contribuer significativement à la transmission synaptique basale.

En revanche, en réponse à de brefs trains de stimulation à haute fréquence au niveau des fibres présynaptiques, une libération forte et prolongée de glutamate se produit qui va entraîner une dépolarisation importante et prolongée du potentiel de membrane. Cette saute de potentiel va avoir pour conséquence d'expulser le  $\text{Mg}^{2+}$  du pore du canal des NMDA-R. Le  $\text{Ca}^{2+}$  peut alors entrer au sein des épines dendritiques du neurone postsynaptique, mécanisme qui correspond à la phase d'induction de la LTP. A noter que de très nombreuses d'études en électrophysiologie montrent que la LTP hippocampique *ex vivo* peut être induite par de nombreux protocoles différents de stimulation dont les plus utilisés sont la stimulation à haute fréquence (HFS pour high frequency stimulation) ou bien la stimulation de type thêta burst (TBS) (Larson & Munkacsy, 2015).

De nombreuses études ont confirmé que l'augmentation de la concentration calcique intraneuronale par l'ouverture de canaux associés aux NMDA-R, constitue un signal de second messenger à l'origine du renforcement de la transmission synaptique entre les neurones. Comme l'illustre la Figure 10, l'entrée de  $\text{Ca}^{2+}$  en réponse à la dépolarisation massive des neurones va induire cette potentialisation de la transmission en activant une succession de cascades de transduction du signal faisant intervenir différents acteurs, dont la protéine-kinase calmoduline  $\text{Ca}^{2+}$ -dépendante (CAMKII). Cette protéine joue un rôle particulièrement important en améliorant par phosphorylation la conductance des récepteurs AMPA tout en facilitant simultanément leur adressage à la membrane et la résultante étant une croissance accélérée des épines dendritiques

postsynaptiques. En conséquence, lorsque du glutamate est libéré lors d'une stimulation suivante, il pourra se fixer sur plus de récepteurs ou sur des récepteurs mieux phosphorylés, ce qui a pour effet d'augmenter la force de la transmission synaptique.

Le NMDA-R peut donc être considéré comme un détecteur de coïncidence. Les canaux calciques qui leur sont associés ne s'ouvriront que si deux évènements surviennent simultanément : à la fois la dépolarisation suffisante de la membrane postsynaptique afin de lever le bouchon de  $Mg^{2+}$  ; et dans en même temps l'arrivée et la fixation de l'agoniste et du co-agoniste sur leur site spécifique. Ces propriétés peuvent expliquer plusieurs caractéristiques propres à la LTP. Premièrement, le fait que l'induction de la LTP requiert une activité importante et simultanée des éléments pré et postsynaptiques. D'autre part, la spécificité de ce phénomène qui peut s'expliquer par le fait que les canaux associés aux NMDA-R ne s'ouvriront qu'aux contacts synaptiques activés où l'agoniste et le co-agoniste sont libérés, restreignant de la sorte l'expression de la LTP à ces sites. Elles expliquent aussi la propriété d'associativité, en considérant qu'une terminaison afférente faiblement stimulée ne va libérer que peu de glutamate, ne pouvant ainsi dépolariser suffisamment la cellule post-synaptique pour lever le blocage des ions  $Mg^{2+}$ . Mais ce niveau pourra être atteint si des fibres afférentes voisines sont fortement stimulées, l'associativité permettant alors l'induction de LTP.



**Figure 11** : Schémas simplifiés des mécanismes moléculaires mis en jeu lors de la LTP et LTD NMDA-dépendantes. Tirée de l'article original publié par Benarroch, 2018 : « Glutamatergic synaptic plasticity and dysfunction in Alzheimer disease » dans le journal *Neurology*.

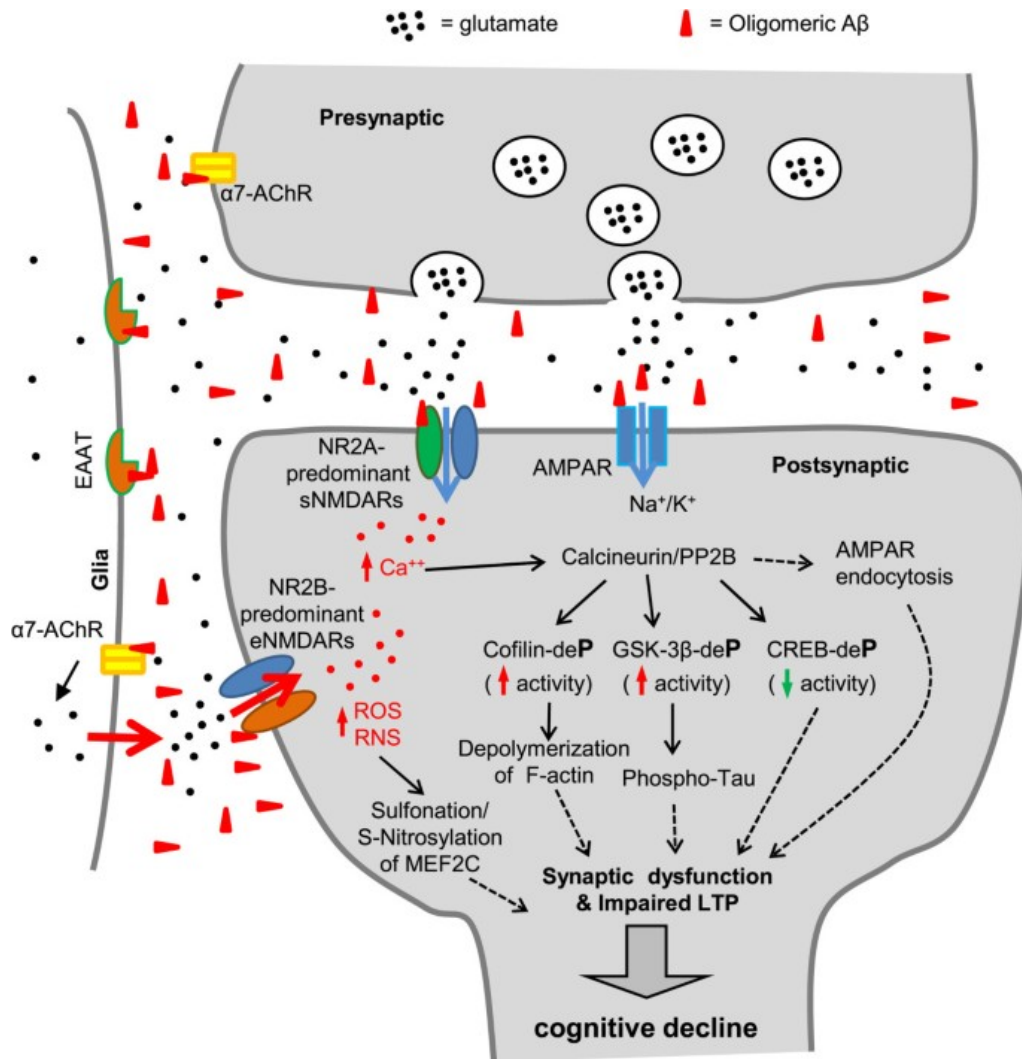
De son côté, la dépression à long terme est en partie le mécanisme inverse de la LTP car il s'agit d'un affaiblissement de la force de la transmission synaptique. Comme le schématise la Figure 10,

un des mécanismes connus pour provoquer la LTD implique également les récepteurs AMPA et NMDA. Cette fois-ci, à la suite d'une stimulation répétée à basse fréquence, une activation modeste des NMDA-R va provoquer une augmentation également modeste et progressive du  $Ca^{2+}$  postsynaptique, qui va activer des protéines phosphatases dont le seuil d'activation est plus bas que celui des protéines kinases. Cette activation de phosphatase va entraîner une diminution la densité des AMPA-R à la membrane postsynaptique ainsi qu'une déphosphorylation de ces récepteurs. Ces atteintes vont rendre le neurone moins sensible au glutamate libéré par le neurone présynaptique et induire le rétrécissement de l'épine dendritique, parallèlement à une diminution de la force synaptique (Luscher & Malenka, 2012). Bien que cela puisse sembler contre-intuitif, la LTD pourrait être tout aussi importante que la LTP dans certains processus cognitifs. En effet, à l'heure actuelle, il est pensé que la LTD est importante dans l'effacement des vieux souvenirs et dans des circonstances nécessitant une adaptabilité comportementale comme les processus de flexibilité cognitive (Nicholls *et al.*, 2008 ; Collingridge *et al.*, 2010).

*e) Impacts de l'A $\beta$  sur la transmission synaptique glutamatergique hippocampique : focus sur les récepteurs NMDA*

Les études basées sur le tissu post-mortem de patients, les modèles animaux, les cultures de neurones ou même les organoïdes ont permis d'identifier que l'A $\beta$  possède un grand nombre de cibles impliquées dans la communication neuronale (Ondrejcek *et al.*, 2010 ; Palop & Mucke, 2010 ; Sivanesan *et al.*, 2013). Cette diversité révèle la complexité à faire émerger une image précise de l'impact de l'amyloïdogénèse sur les processus amenant à terme à des déficits cognitifs.





**Figure 11** : Schéma illustrant une partie des cibles de l'Aβ sur la synapse tripartite glutamatergique excitatrice, comprenant le neurone présynaptique, postsynaptique et également l'astrocyte. Tiré de l'article original publié par Tu, 2014 : « Oligomeric Aβ-induced synaptic dysfunction in Alzheimer's disease » dans le journal *Molecular Neurodegeneration*.

Au niveau des cellules neuronales, de nombreuses recherches se sont particulièrement concentrées sur l'impact de l'amyloïdogénèse sur la transmission glutamatergique et notamment au niveau de l'hippocampe (Rudy *et al.*, 2015 ; Findley *et al.*, 2019 ; Conway, 2020). Prises dans leur ensemble, les données de la littérature mettent en lumière la toxicité de l'Aβ sur un acteur clé de la plasticité synaptique hippocampique : le récepteur N-méthyl-D-aspartate (NMDA-R, voir l'Encadré 2 pour une vision générale) du glutamate (Mota *et al.*, 2014). Ainsi, les altérations de ce récepteur par l'Aβ pourraient participer aux modifications fonctionnelles de l'activité des réseaux

neuronaux et à terme à une partie des déficits cognitifs retrouvés dans la MA. Une partie de ces altérations (Figure 11) vont être décrites dans le paragraphe suivant, et plusieurs revues récentes donnent une vue plus complète des effets toxiques de l'A $\beta$  au niveau synaptique (Zhang *et al.*, 2016 ; Wang & Reddy, 2017 ; Liu *et al.*, 2019 ; Babaei *et al.*, 2021).

Au niveau hippocampique, une partie des altérations de la transmission glutamatergique a été associée à une accumulation anormale du glutamate au niveau synaptique. En effet, de nombreuses études ont rapporté que le peptide impacterait l'activité des cellules astrocytaires, entraînant une recapture plus faible et une libération plus élevée de glutamate (Masliah *et al.*, 1996 ; Jacob *et al.*, 2007 ; Walton & Dodd, 2007 ; Scott *et al.*, 2011 ; Talantova *et al.*, 2013). Ces altérations engendreraient par conséquent une augmentation de la concentration de ce neurotransmetteur dans la fente synaptique amenant à deux conséquences distinctes.

- La première serait une augmentation de la fréquence d'activation ou de la cinétique d'ouverture des NMDA-R synaptiques. Ceci conduirait à une augmentation importante et continue de Ca<sup>2+</sup> intracellulaire. Deux conséquences ont été identifiées : soit des processus d'excitotoxicité (Cascella & Cecchi, 2021 ; Fani *et al.*, 2021), soit à une désensibilisation puis une internalisation des récepteurs, amenant *in fine* à une hypoactivité neuronale.

- La deuxième conséquence serait un « débordement » du glutamate en dehors de la fente synaptique pouvant alors activer des NMDA-R extrasynaptiques. Or, une activation des NMDA-R extrasynaptiques a été montré comme augmentant la production d'A $\beta$  (Bordji *et al.*, 2010). De plus, il a été montré que ces récepteurs se composent préférentiellement de la sous-unité GluN2B, suggérée comme favorisant la mort neuronale en stimulant des voies apoptotiques (Ferreira *et al.*, 2012 ; Lujan *et al.*, 2012 ; Parsons & Raymond, 2014 ; Rush & Buisson, 2014).

Néanmoins, le glutamate ne peut pas activer à lui seul les NMDA-R, ce qui souligne la nécessité de poursuivre les recherches concernant l'implication des co-agonistes dans les mécanismes sous-tendant les dérégulations induites par l'A $\beta$ .

Parallèlement, une diminution de la transmission inhibitrice a également été identifiée comme pouvant participer à la dérégulation de la balance excitation/inhibition entraînée par l'amyloïdogénèse (Petrache *et al.*, 2019 ; Martin-Belmonte *et al.*, 2020 ; Ruiten *et al.*, 2020 ; Kazim *et al.*, 2021).

Enfin, certaines études suggèrent qu'en plus d'être corrélée l'établissement de certains déficits cognitifs, la dérégulation des systèmes de neurotransmissions excitateurs *versus* inhibiteurs contribuerait à l'activité épileptiforme régulièrement présente dans les phases précoces de la MA (Stoiljkovic *et al.*, 2018 ; Vossel *et al.*, 2013, 2016, 2017 ; Dejakaisaya *et al.*, 2021 ; Ranasinghe *et al.*, 2021).

De part leurs rôles physiologiques, il n'est pas étonnant que la dérégulation des NMDA-R par l'A $\beta$  ait été associée à l'altération de différents types de plasticité synaptique. Ces altérations ont été retrouvées à la fois par des investigations cliniques - à partir d'enregistrements électrophysiologiques de tissus hippocampiques provenant de patients (Walsh & Selkoe 2002), mais également dans des études précliniques rapportant une diminution de la LTP et/ou une augmentation de la LTD (Kim *et al.*, 2001 ; Li *et al.*, 2009, 2011 ; Clark *et al.*, 2015 ; Lei *et al.*, 2016 ; O'Riordan *et al.*, 2018).

Bien qu'une grande quantité d'études se soit intéressée aux impacts de l'A $\beta$  sur l'expression de la plasticité synaptique, les mécanismes impliqués semblent complexes et demeurent imprécis à certains niveaux. Comprendre les bases cellulaires et moléculaires expliquant comment l'A $\beta$  altère la plasticité synaptique et *in fine* les capacités cognitives selon l'avancée dans la pathologie, pourrait aider à développer des thérapies plus efficaces contre la MA. Ainsi, la poursuite d'études sur l'altération des NMDA-R et sur l'implication de ses agonistes/co-agonistes apparaît être une stratégie pertinente pour l'identification de nouvelles cibles d'intérêt dans ce contexte.

#### 4. Diagnostic & traitements symptomatiques de la MA

Actuellement, le diagnostic de la MA reste probabiliste, reposant essentiellement sur l'observation clinique et se basant sur l'évolution de la dégradation des performances cognitives. Un second aspect non négligeable du diagnostic repose sur l'élimination de toute autre forme de démence ou d'autres pathologies pouvant expliquer ces déclin cognitifs. Trois degrés de probabilités ont ainsi été établis : possible, probable et certain. En d'autres termes, un diagnostic définitif de la MA ne peut être établi à ce jour qu'avec un examen histopathologique post-mortem du cerveau. Cela afin de s'assurer de la présence des caractéristiques neuropathologiques cardinales de la MA, comme la présence de plaques amyloïdes, de DNF et d'une atrophie marquée au niveau hippocampique.

Toutefois, les progrès technologiques de ces dernières décennies, associées à l'approfondissement de nos connaissances dans les caractéristiques pathologiques, inspirent actuellement le développement de biomarqueurs sensibles (Lashley *et al.*, 2018 ; Rabito *et al.*, 2020) dans le but d'aider développer des outils pour un diagnostic précoce de la MA.

Dans l'optique de compenser l'absence de traitement curatif, le meilleur moyen de soulager le patient consiste actuellement à essayer de ralentir au mieux la progression de la maladie. Cela implique dès lors une approche multimodale, combinant les traitements médicamenteux aux interventions psychosociales, familiales et environnementales. A l'heure actuelle, peu de traitements ont été mis sur le marché et leur efficacité reste limitée, comme l'illustre le déremboursement des traitements « anti-Alzheimer » par le gouvernement Français en 2018 (Haute Autorité de Santé). Ces traitements médicamenteux se concentrent sur le rétablissement du fonctionnement normal des systèmes cholinergique et glutamatergique. En effet, l'observation d'une diminution de la transmission cholinergique au cours de la MA (Giacobini *et al.*, 2003 ; Bekdash *et al.*, 2021) a entraîné le développement de stratégies thérapeutiques. Le mécanisme d'action vise à rétablir une concentration normale d'acétylcholine dans la fente synaptique en bloquant son élimination par l'acétylcholinestérase. Il existe actuellement trois médicaments de cette classe commercialisés en France : le donepezil (ARICEPT®), la rivastigmine (EXELON®) et la galantamine (REMINYL®). La seconde classe correspond à celle des antagonistes

des NMDA-R. Cette classe médicamenteuse vise à s'opposer à la toxicité liée à la suractivation de ces récepteurs au glutamate, comme abordé précédemment, mais dans des stades avancés de la maladie (Parsons *et al.*, 2007). Il n'existe aujourd'hui qu'un seul représentant de cette classe : la mémantine (EBIXA®).

Bien que ces traitements offrent un certain répit symptomatique, l'amélioration est modeste et temporaire, en partie due à une intervention trop tardive face aux altérations cérébrales irréversibles. En effet, pendant des décennies, la recherche de thérapies médicamenteuses s'est principalement concentrée sur un traitement visant à stopper l'amyloïdogénèse et les mécanismes qui régissent l'apparition des DNF. À l'exception des résultats réévalués comme positif de l'Aducanumab (Dhillon *et al.*, 2021 ; Salloway *et al.*, 2022) - une monothérapie récente ciblant l'A $\beta$  - les essais cliniques dans ces domaines n'ont pas réussi à démontrer l'efficacité de nouvelles molécules / nouveaux traitements. L'enjeu actuel est donc de mieux comprendre les mécanismes initiaux de la MA pour permettre un dépistage précoce et l'identification de cibles thérapeutiques pertinentes, afin de pouvoir à terme améliorer la qualité de vie des patients et leur entourage. C'est dans ce cadre que s'inscrit ce projet de thèse qui vise à déterminer si la D-sérine – en tant que co-agoniste des NMDA-R – est un acteur central de la pathologie amyloïde, en particulier à ses stades précoces.

## B. La D-sérine

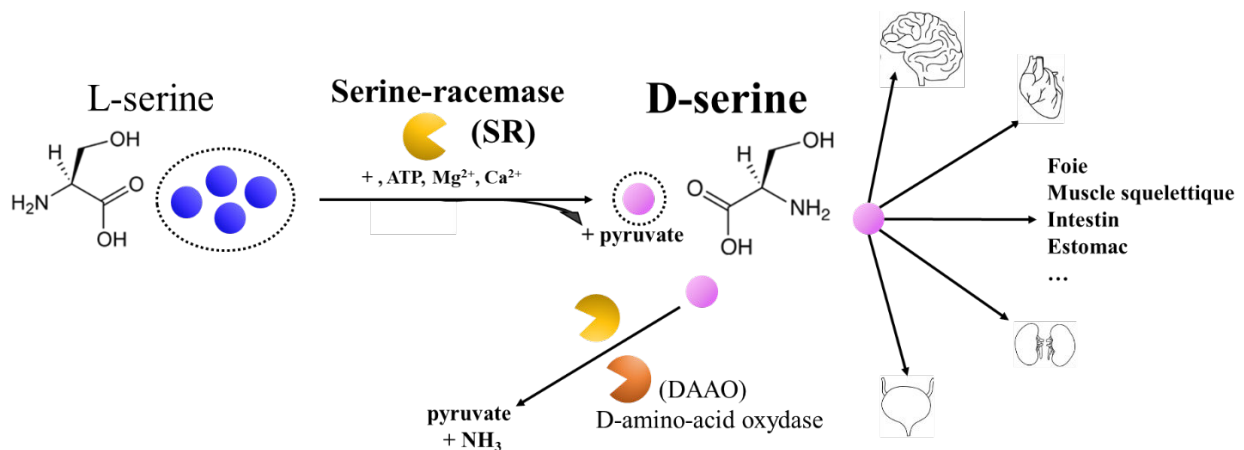
La D-sérine fait partie de la grande famille des acides aminés (aa), molécules pouvant être retrouvées sous forme libre ou bien entrant dans la composition des peptides/protéines pour les L-aa. A l'exception de la glycine, les aa possèdent un carbone asymétrique, appelé centre chiral, qui les rendent optiquement actif. Cette particularité leur permet de dévier la lumière soit vers la gauche, soit vers la droite, selon s'ils appartiennent aux formes dites « lévogyres » dans le premier cas, ou bien « dextrogyres » dans le second. Ces énantiomères, les L-aa *versus* D-aa, peuvent avoir des propriétés (affinité/efficacité) physiologiques différentes, mais également des voies de synthèse, de dégradation ou même de transports qui leur sont propres.

### 1. Synthèse/dégradation

L'histoire de la D-sérine est relativement récente. En effet, les acides aminés dextrogyres ont longtemps été considérés comme restreints au monde des bactéries. Ce n'est qu'à la fin des années 80, qu'un premier constituant dextrogyre a été découvert chez le rongeur et chez l'homme, *i.e.* D-aspartate (Dunlop, 1986). Il faudra attendre quelques années supplémentaires et notamment le développement des techniques d'HPLC (*high performance liquid chromatography* ou chromatographie en phase liquide à haute performance) pour différencier sans ambiguïté les énantiomères et décrire ainsi pour la première fois, la présence de D-sérine dans le cerveau de rongeurs (Hashimoto *et al.*, 1992). Par la suite, la D-sérine a été décrite chez d'autres mammifères, dont l'homme (Miyoshi *et al.*, 2009, 2011). La D-sérine est présente dans de nombreux organes (Guevara & Mani, 2016) dont le cerveau et dans des proportions significatives allant jusqu'à 1/3 de la sérine totale selon les régions étudiées (Hashimoto *et al.*, 1993) (Figure 12).

La question de son origine s'est alors posée. Une première hypothèse fut celle d'une origine exogène, par l'alimentation ou par la flore bactérienne. Toutefois, ce postulat fut rapidement réfuté (Nagata *et al.*, 1994) en laissant place à celle de l'origine endogène avec la découverte de l'enzyme sérine-racémase (SR, Wolosker *et al.*, 1999). Cette enzyme permet la synthèse de D-

sérine à partir de son précurseur qui n'est d'autre que son énantiomère, la L-sérine (Dunopl & Neidle, 1997). Le passage de la forme lévogyre à dextrogyre s'effectue avec une racémisation de 4 molécules de L-sérine pour obtenir 1 molécule de D-sérine et 3 molécules de pyruvate (De Miranda *et al.*, 2002 ; Figure 12). De plus, la SR a la particularité d'être bidirectionnelle. En outre, elle peut effectuer des réactions d' $\alpha$  et  $\beta$  éliminations à partir de L- ou D-sérine, amenant à la production de pyruvate et d'ammonium, suggérant également une action catabolique.



**Figure 12** : Illustration schématique : de la synthèse de la D-sérine par la sérine-racémase (SR) à partir de la L-sérine, sa dégradation par la SR ou bien la D-amino-acid-oxydase (à gauche) et plusieurs organes dans lesquels elle a été identifiée (à droite).

En second lieu vint la question de sa dégradation. Actuellement, deux voies possibles ont été identifiées. La première est représentée par l'enzyme D-amino-acid-oxydase (DAAO), dont l'expression a été trouvée inversement liée aux taux de D-sérine dans différentes régions de cerveaux de rongeurs (Schell *et al.*, 1995 ; Wang & Zhu 2003 ; Puyal *et al.*, 2006). De plus, les taux de D-sérine ont été retrouvés augmentés dans des conditions où la DAAO est impactée, aussi bien dans des modèles d'animaux transgéniques (Nagata *et al.*, 1992) que par inhibition pharmacologique (Park *et al.*, 2006). Toutefois, il est important de souligner que cette relation n'est pas homogène dans toutes les régions cérébrales, en particulier dans certaines zones corticales et dans la formation hippocampique, où les taux de D-sérine ne se modifient que très peu lorsque la DAAO est inhibée (Nagata, 1992 ; Hamase *et al.*, 2005). Ces observations ont amené à la possibilité d'une seconde méthode de dégradation de la D-sérine dans ces régions. Il

a donc été suggéré que celle-ci était assurée par l'action de la SR avec ses réactions d' $\alpha$  et  $\beta$  éliminations (Foltyn *et al.*, 2005).

## 2. Localisation cellulaire

Au niveau central, la D-sérine et la SR ont été initialement vues comme exclusivement présentes dans les astrocytes lors des premières années qui ont suivi sa découverte. Cela a conduit à l'hypothèse d'un rôle de gliotransmetteur de la D-sérine (Wolosker *et al.*, 1999 ; Schell *et al.*, 1995 ; Puyal *et al.*, 2006). Cependant, comme récemment débattu dans la littérature (Kartvelishvily *et al.*, 2006 ; Mothet *et al.*, 2019), les études favorables à cette vue ne disposaient pas des contrôles appropriés pour affirmer définitivement l'origine gliale de la D-sérine. La génération d'anticorps anti-SR plus sélectifs, de meilleures techniques de détection de la D-sérine, associée à l'utilisation de souris transgéniques présentant une délétion de la SR sélective à certains types cellulaires (neuronale *versus* astrocytaire) ont permis de mettre un terme à ce débat. En effet, il a depuis démontré qu'en conditions basales, l'enzyme était exprimée préférentiellement dans les cellules de type neuronal, incluant les cellules pyramidales et les interneurons (Miya *et al.*, 2008 ; Benneyworth *et al.*, 2012).

Cependant, si la présence de SR apparaît physiologiquement neuronale, plusieurs études récentes indiquent qu'une expression au sein de certains types de cellules gliales apparaîtrait en conditions pathologiques. Par exemple dans des conditions inflammatoires spécifiques, les astrocytes réactifs et les microglies activées pourraient exprimer la SR pour synthétiser et libérer de la D-sérine (Wu *et al.*, 2004 ; Li *et al.*, 2018 ; Balu *et al.*, 2019).

## 3. Turn-over synaptique

Actuellement aucun transporteur spécifique de la D-sérine n'a été identifié, que ce soit pour sa libération ou bien sa recapture. Toutefois, ce champ d'investigation s'intensifie depuis plusieurs années et la famille des transporteurs des aa neutres est actuellement montrée comme



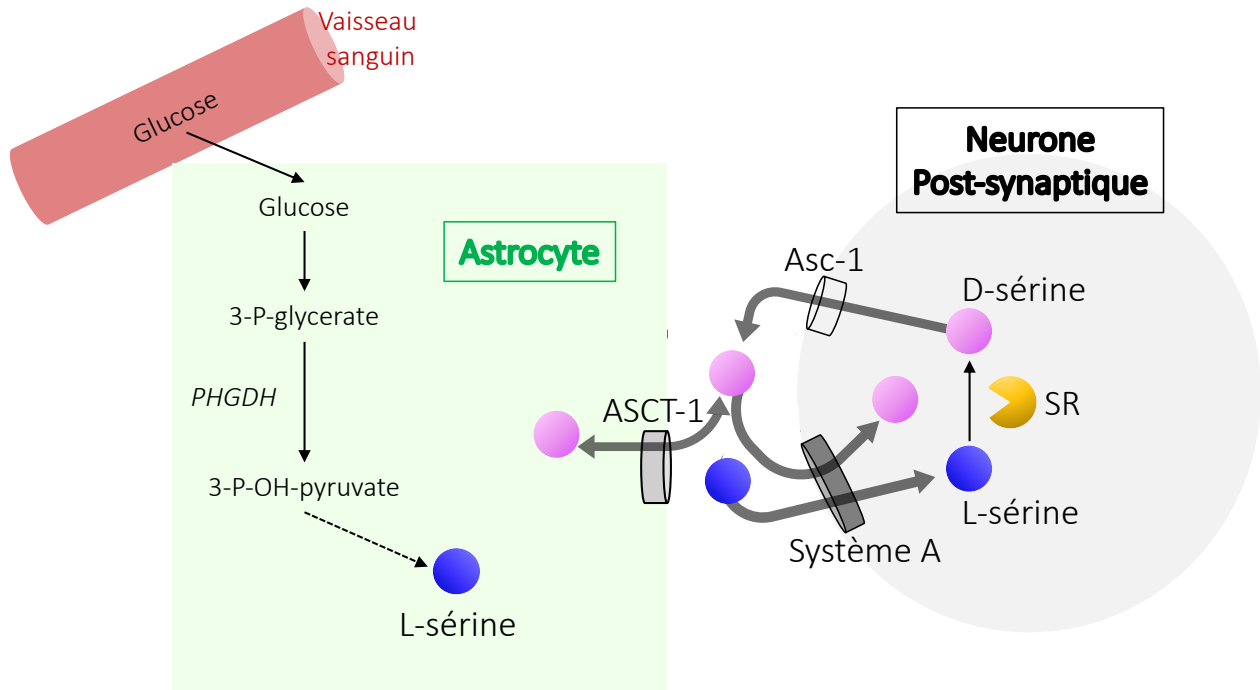
essentielle dans le turn-over synaptique de la D-sérine. Les transporteurs impliqués peuvent être de type « Alanine-Sérine-cystéine-Thréonine » (ASCT) et « Alanine-sérine-cystéine » (Asc).

La famille des transporteurs Asc comprend plusieurs sous types, mais seul l'Asc-1 est présent dans le cerveau (Rosenberg *et al.*, 2013). Ce transporteur laisse passer la L- et D-sérine - avec une forte affinité pour cette dernière - et est exprimé préférentiellement dans les neurones (Fukasawa *et al.*, 2000, Nakauchi *et al.*, 2000, Helboe *et al.*, 2003).

La famille ASCT comprend deux sous types présents dans le cerveau : ASCT1 et ASCT2. Cependant, ASCT2 ne transporte pas la D-sérine contrairement à l'ASCT1 qui transporte à la fois l'alanine, la cystéine et la thréonine en plus de la L- et D-sérine (Utsunomiya-Tate *et al.*, 1996 ; Kaplan *et al.*, 2018).

Un nouveau système transportant la D-sérine a récemment été identifié (Bodner *et al.*, 2020). Dénommé « système A », ce dernier est composé des transporteurs Slc38a1 et Slc38a2 et permet à la fois le passage de la D-sérine, la L-sérine mais également la glutamine ; en permettant le passage extracellulaire au niveau intracellulaire des neurones post-synaptiques. Cette information est importante car elle propose que les disponibilités de l'agoniste principal et du co-agoniste du NMDA-R peuvent liées intimement.

En rassemblant les nombreuses données concernant la régulation synaptique de la D-sérine, l'équipe du Pr Herman Wolosker associée à notre groupe propose l'hypothèse d'une **navette à sérine** entre les neurones et les astrocytes qui est présentée en Figure 13.



**Figure 13** : Représentation schématique du modèle de la navette à sérine entre les astrocytes et les neurones.

Ce modèle débute par le transport du glucose du sang vers les astrocytes. Cette étape initiale est importante, car la plus grande partie de la L-sérine cérébrale, synthétisée *de novo*, nécessite du glucose. Celui-ci est transformé en 3-phosphoglycérate (3-P-glycerate), qui est à son tour converti en 3-phospho-hydroxypyruvate (3-P-OH-pyruvate) par l'enzyme phosphoglycérate 3-déshydrogénase (PHGDH). Cette étape précède la biosynthèse finale de L-sérine par les astrocytes, précurseur qui est alors libéré dans le milieu extracellulaire *via* les transporteurs ASCT-1. La L-sérine est alors captée par les neurones, principalement *via* le système A, où elle est convertie en D-sérine par la SR. Celle-ci est ensuite libérée du compartiment neuronal par le transporteur Asc-1. Une fois dans la fente synaptique, la D-sérine peut être recaptée soit au niveau astrocytaire grâce aux transporteurs ASCT-1, soit au niveau neuronal par le système A. En partie basée sur ce modèle, de récentes études proposent une régulation de type « autocrine » de la D-sérine (Li *et al.*, 2013 ; Coyle *et al.*, 2020).

La régulation de la D-sérine peut apparaître complexe, et une des raisons pouvant l'expliquer est qu'une régulation fine de sa disponibilité à la synapse est primordiale pour maintenir l'intégrité des fonctions dans lesquelles elle est impliquée et qui vont être abordées dans la section suivante.

#### 4. Implications physiologiques et pathologiques de la D-sérine

##### a) *Processus physiologiques*

La D-sérine a été impliquée dans de nombreux processus physiologiques comme le sommeil (Dai *et al.*, 2019), certains processus de la physiologie rénale ou encore des processus liés à la vision (Hesaka *et al.*, 2021 ; Stevens *et al.*, 2003). Toutefois, c'est au sein du système nerveux central que son rôle a été le plus étudié (Bardaweel *et al.*, 2014). C'est sur ce dernier que se concentre ce manuscrit de thèse, et plus particulièrement sur l'implication de la D-sérine dans les processus cognitifs et ses atteintes par l'amyloïdogénèse.

Si la D-sérine a été identifiée comme pouvant se lier au récepteur glutamatergique  $\delta 2$  (GluD2, Naur *et al.*, 2007) au niveau des cellules Purkinje du cervelet, elle est surtout reconnue comme co-agoniste endogène des NMDA-R au niveau des synapses du cerveau antérieur. C'est en 1997, que l'équipe du Pr Schell s'est intéressée pour la première fois au lien entre la D-sérine et les NMDA-R, en montrant à l'aide de marquages immunohistochimiques que ce D-aa possédait une distribution superposable à celle de ces récepteurs (Schell *et al.*, 1997). L'un comme l'autre était en effet présent en grande quantité dans le cortex, la formation hippocampique, l'amygdale ou bien le bulbe olfactif. Des études par microdialyse ont également montré que la concentration extracellulaire en D-serine était comparable à celle de la glycine dans plusieurs aires cérébrales (Hashimoto *et al.*, 1995). De plus, il a été montré que la dégradation sélective de la D-sérine par la DAAO atténuait considérablement l'activation des récepteurs NMDA (Mothet *et al.*, 2000). Associés, ces résultats ont permis de considérer définitivement la D-sérine comme un co-agoniste endogène majeur des récepteurs NMDA, au même titre que la glycine.

L'affinité de la D-sérine pour les NMDA-R, comparée à celle de la glycine, varie selon différents paramètres (cf. Encadré 2). D'une part, en période post-natale, la D-sérine apparaît avoir une d'affinité plus forte pour les NMDA-R contenant la sous-unité GluN2A, tandis que la glycine aurait plus d'affinité pour la sous-unité GluN2B (Le Bail *et al.*, 2014 ; Ferreira *et al.*, 2017). Ceci est à rapprocher de la localisation synaptique *versus* extra-synaptique de ces sous-unités suggérant l'idée que les NMDA-R synaptiques et extra-synaptiques ne seraient pas activés par le même co-agoniste endogène. La D-sérine serait ainsi d'avantage associée aux récepteurs synaptiques et la glycine aux récepteurs extra-synaptiques (Papouin *et al.*, 2012). D'autre part, il est suggéré que la D-sérine serait le principal agoniste endogène des NMDA-R dans les aires cérébrales impliquées dans des processus mnésiques, tandis que la glycine serait préférentiellement impliquée dans la moelle épinière et le tronc cérébral (Mothet *et al.*, 2000). Cependant cette dichotomie pourrait être encore plus compliquée. En effet, au sein même de la formation hippocampique, la D-sérine serait particulièrement concernée dans les champs de la corne d'Amon, alors que la glycine serait plus importante dans le gyrus denté (Le Bail *et al.*, 2014). Enfin la nature du co-agoniste endogène principal pourrait évoluer au cours du développement post-natal comme montré dans la région hippocampique (Fuchs *et al.*, 2006 ; Le Bail *et al.*, 2014).

Étant donné son rôle de co-agoniste indispensable à l'activation des NDMA-R, la D-sérine régule de nombreuses fonctions, dont le neurodéveloppement, la synaptogénèse (Diniz *et al.*, 2012) et l'expression de différentes formes de plasticités synaptiques, qu'elles soient de type morphologique ou fonctionnelle (Yang *et al.*, 2003 ; Junjaud *et al.*, 2006 ; Zhang *et al.* 2008 ; Billard *et al.*, 2012). Compte tenu de l'importance de ces plasticités pour la genèse de nombreux processus cognitifs, la nécessité d'une régulation fine de la navette à sérine apparaît comme un mécanisme essentiel et comme une cible importante des processus pathologiques.

## b) *Processus pathologiques*

Un dysfonctionnement d'un ou plusieurs acteurs liés à la disponibilité de la D-sérine à la synapse peut dès lors entraîner une altération du développement neuronal, ou bien participer à la physiopathologie de nombreuses affections neurologiques ou neuropsychiatriques, dont des exemples non exhaustifs sont présentés ci-dessous :

- Troubles anxieux

L'anxiété et les troubles liés aux traumatismes sont associés à des réactions de peur excessives, comprenant souvent une incapacité à éteindre la peur apprise, un comportement d'évitement accru, ainsi qu'une altération de la cognition et de l'humeur. Il existe une littérature abondante démontrant l'importance de la fonction du NMDA-R dans la régulation de ces comportements (Barkus *et al.*, 2010). La D-sérine attire maintenant l'attention en tant que principal co-agoniste NMDA-R dans les régions limbiques du cerveau impliquées dans les troubles neuropsychiatriques. Les différents systèmes qui régulent la disponibilité synaptique de la D-sérine pourraient en effet être ciblés pour améliorer la gestion pharmacologique des troubles liés à l'anxiété (Wolosker & Balu, 2020).

- Schizophrénie

La D-sérine a été suggérée comme intervenant dans l'hypothèse d'une étiologie de la schizophrénie faisant appel à un hypofonctionnement des NMDA-R. Une modification de la disponibilité endogène de D-sérine a été proposée comme l'une des causes sous-jacentes de cette hypofonction (Cheng *et al.*, 2021). Les preuves cliniques associant la D-sérine et la Schizophrénie comprennent par exemple : une diminution du ratio D/L-sérine dans le liquide céphalo-rachidien (LCR) et des niveaux de protéine de la SR dans le cortex frontal et la région hippocampique chez des patients Schizophrènes (Hashimoto *et al.*, 2005 ; Bendikov *et al.*, 2007), des polymorphismes du gène SR (Yamada *et al.*, 2005 ; Morita *et al.*, 2007) ainsi que des polymorphismes de la DAAO et de son régulateur pI672 dans la maladie (Caldinelli *et al.*, 2013 ; Pollegioni *et al.*, 2018 ; Cheng *et al.*, 2021). En effet, quelques variants génétiques de la SR identifiés chez l'homme ont également été associés à cette maladie, comme le rapporte la plus grande étude d'association

pangénomique (GWAS) concernant les risques génétiques pour la Schizophrénie. Cette étude incluait plus de 100 000 témoins et près de 40 000 sujets atteints de schizophrénie. Cent-huit sites génomiques ont été révélés comme ayant atteint un seuil significatif, dont l'un contenait le gène de la SR. De plus, de récentes études ont rapporté qu'une dérégulation du complexe SR/DISC1 (Disrupted-In-Schizophrenia-1) contribue également à la schizophrénie. DISC1 stabilise la SR en s'y liant et la perturbation du complexe SR/DISC1 a été montrée comme induisant des modifications comportementales semblables à ceux retrouvés dans la Schizophrénie (Jacobi *et al.*, 2019).

En conséquence, la D-sérine a été proposée comme agent thérapeutique pour le traitement de la schizophrénie. Dans plusieurs essais cliniques contrôlés, son assimilation exogène a atténué certains symptômes tout en améliorant la cognition de patients atteints de Schizophrénie chronique (Van Horn *et al.*, 2013). Cependant un consensus n'est pas encore atteint et la recherche clinique et préclinique se poursuit dans cette voie.

- Accidents vasculaires cérébraux et traumatismes cérébraux

Les troubles aigus tels que l'ischémie et les traumatismes physiques cérébraux ont été mis en relation avec une suractivation des NMDA-R qui induirait des dommages neuronaux pouvant être prévenus par des bloqueurs de l'activité NMDA-R, tel que la mémantine (Mustafa *et al.*, 2010 ; Lopez-Valdés *et al.*, 2014). En parallèle, une augmentation des niveaux de D-sérine a été trouvée dans des modèles d'ischémie simulée et provoquant une mort neuronale (Katsuki *et al.*, 2004). De plus, la neurotoxicité et le volume d'infarctus sont considérablement diminués après l'occlusion de l'artère cérébrale moyenne chez les souris SR-KO dépourvus de D-sérine, appuyant l'implication toxique de l'acide aminé dans ce type d'affection (Mustafa *et al.*, 2010).

- Sclérose latérale amyotrophique (SLA)

La SLA représente une maladie neuromusculaire caractérisée par un dysfonctionnement et la mort des motoneurones entraînant une paralysie mortelle. Chez les patients atteints de SLA, une activation anormale des NMDA-R induit une excitabilité excessive dans les réseaux neuronaux, suivie d'une neurodégénérescence avec la perte des motoneurones du cerveau et de la moelle

épineière. Plusieurs études ont rapporté une augmentation des niveaux de D-sérine et de l'expression de la SR dans des modèles de souris transgéniques de la SLA (Sasabe *et al.*, 2007, 2012). De plus, les patients atteints de SLA ont une altération des transporteurs du glutamate et de la D-sérine dans la moelle épinière et le cortex moteur, ce qui pourrait expliquer la suractivation des NMDA-R (Sasabe *et al.*, 2012). Paradoxalement, l'administration de D-sérine à des souris mimant la SLA abaisse les niveaux de D-sérine dans la moelle épinière, entraînant des changements dans l'apparition et la survie qui sont très similaires à la délétion SR (Thompson *et al.*, 2012).

- Maladie d'Alzheimer

Un autre exemple de l'implication de la D-sérine dans les maladies neurodégénératives est celui de la MA. Une mini-revue publiée dans le cadre de cette thèse, et repris ci-dessous, présente un regroupement des données actuellement disponibles montrant l'implication de la D-sérine dans les processus du vieillissement physiologique et pathologique, avec une considération du cas de la MA (Ploux *et al.*, 2021). Cette mini-revue introduit également le cadre de la problématique et de l'objectif de cette thèse.

Mini-revue :

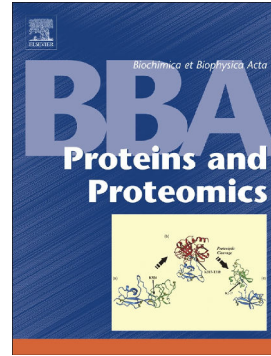
**D-serine in physiological and pathological brain aging.**

**E Ploux**, Thomas Freret, Jean-Marie Billard. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics*, 2021.



D-serine in physiological and pathological brain aging

E. Ploux, T. Freret, J.-M. Billard



PII: S1570-9639(20)30189-8

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2020.140542>

Reference: BBAPAP 140542

To appear in: *BBA - Proteins and Proteomics*

Received date: 8 July 2020

Revised date: 10 September 2020

Accepted date: 13 September 2020

Please cite this article as: E. Ploux, T. Freret and J.-M. Billard, d-serine in physiological and pathological brain aging, *BBA - Proteins and Proteomics* (2020), 10.1016/j.bbapap.2020.140542

© 2020 Published by Elsevier.

## D-serine in physiological and pathological brain aging

E. Ploux<sup>a,\*</sup> [eva.ploux@unicaen.fr](mailto:eva.ploux@unicaen.fr), T. Freret<sup>a</sup> and J-M Billard<sup>a,\*</sup> [jean-marie.billard@inserm.fr](mailto:jean-marie.billard@inserm.fr)

<sup>a</sup>Normandie Univ, UNICAEN, INSERM, CYCERON, COMETE, 14000 Caen, France.

\*Corresponding authors at: UNICAEN COMETE, UMR S-1075, Bat GMPc, Campus Horowitz, Bd Henri Becquerel, CS14032 Caen Cedex 5, France.

### Abstract

Among aging-induced impairments, those affecting cognitive functions certainly represent one the most major challenge to face to improve elderly quality of life. In last decades, our knowledge on changes in the morphology and function of neuronal networks associated with normal and pathological brain aging has rapidly progressed, initiating the development of different pharmacological and behavioural strategies to alleviate cognitive aging. In particular, experimental evidences have accumulated indicating that the communication between neurons and its plasticity gradually weakens with aging. Because of its pivotal role for brain functional plasticity, the *N*-Methyl-D-Aspartate receptor subtype of glutamate receptors (NMDAr) has gathered much of the experimental interest. NMDAr activation is regulated by many mechanisms. Among is the mandatory binding of a co-agonist, such as the amino acid D-serine, in order to activate NMDAr. This mini-review presents the most recent information indicating how D-serine could contribute to mechanisms of physiological cognitive aging and also considers the divergent views relative of the role of the NMDAr co-agonist in Alzheimer's disease.

**Keywords:** synaptic plasticity, NMDA receptors, serine racemase, Alzheimer's disease, glutamate, L-serine

## 1. Introduction

Beyond increasing life expectancy, improving health status of elderly is now one of the most current important challenge to face in the field of research on “aging processes”. Aging is a natural biological process that affects the entire body. Notably, while affecting the brain, cognitive decline and especially memory processes alterations, would play a pivotal role in the poor quality of life of elders.

Although initially associated with neuronal loss, underpinning mechanisms of brain aging still remain debated despite an extensive literature [1-5]. This may be related in part to limits of the initial stereological methods used to estimate the neuronal density [6-8]. To date, the theory that prevails does not consider the decrease in cells number as a hallmark of physiological aging, but rather to its pathological aspect such as Alzheimer disease (AD) affording neuronal and synaptic losses [3-5, 9-11].

Essential relay in the formation of many types of memory traces, the hippocampal formation has been particularly studied, both in humans and animals [12-15]. Hence, in rodents [16, 17], a decreased ability to consolidate long-term memory has been linked to a weaker capacity to express long-term potentiation (LTP) of synaptic transmission (reviewed in [18]). Besides, a rapid decay of hippocampal LTP was correlated to poor spatial memory performances in aging rats, which probably contributes to the increased propensity to forget spatial information [19]. Overall, age-induced decrease in synaptic plasticity efficiency would impair capacity to encode and/or consolidate new memories and would be in part responsible for loss of pre-existing ones [20-22]. These synaptic functional alterations and the subsequent cognitive deficits have been linked in part to a progressive deregulation of the activation of NMDA receptors (NMDAr). NMDAr is a subtype of glutamate receptors generally views as critical to drive synaptic plasticity in many brain areas [23-26]. In addition to glutamate, NMDAr activation requires the binding of a co-agonist at its specific site. Initially attributed to glycine [27-29], subsequent studies showed that D-serine could also play this role. Indeed, both the specific degradation of the amino acid D-serine by the enzyme D-amino acid oxidase (DAAO) [30] and the genetic deletion of its synthesizing enzyme serine racemase (SR) [31, 32], significantly altered NMDAr activation. These results therefore led to consider D-serine as the main endogenous co-agonist of synaptic NMDAr and further experiments confirmed the pivotal role of this amino acid in the regulation of functional plasticity at many synapses throughout the brain (reviewed in [33]).

## 2. D-serine in physiological aging

Alterations of functional plasticity associated with cognitive impairments observed across aging naturally raised the question for a role of D-serine. Thereafter, it was observed that a supplementation with the amino acid was able to prevent age-induced deregulation of NMDAr activation and to restore hippocampal synaptic plasticity [34-37]. Beyond the decrease in NMDAr density (or its subunits) initially evoked [38-41], these promising results rather argue for a pivotal role of D-serine in functional mechanisms underlying cognitive aging [42, 43].

The beneficial effect of a D-serine supplementation could reflect a significant decrease in D-serine levels with age, as supported in rodent hippocampal assays [34-36]. Interestingly, this decrease is also found in human plasma levels [44]. Another explanation could have been a decrease in the degree of NMDAr saturation, but autoradiographic studies performed in aged rodents did not reveal changes in the specific affinity of the co-agonist binding site [34, 35, 45]. Besides, other results from preclinical investigations performed in rodents indicate that the decrease in D-serine levels could rely on a weaker SR expression both at protein and messenger RNA levels [34-36], though whether the activity of the D-serine synthesizing enzyme is altered at the same time remains to be determined. On the other hand, the expression of the catabolizing enzyme DAAO is not affected in aged animals, indicating that an acceleration of the degradation of the amino acid does not contribute to the age-related decrease in D-serine levels [34-36]. The synaptic availability of D-serine is also dependent on the activity of the Asc-1 subtype of neutral amino acid transporters, which supports the release of D-serine from neurons [46, 47]. A recent investigation indicates that Asc-1 activity remained unchanged in the aging hippocampus [48]. Considering that mechanisms underlying the degradation and release of D-serine are not altered in physiological aging, alterations in synthesis therefore appears as the critical mechanism underlying the age-related decrease of the NMDAr co-agonist availability [42, 43].

The decrease in SR expression and D-serine production possibly results from the development of the oxidative stress (OS) that normally occurs with aging [49-52]. Indeed, both deficits do not occur in the LOU/C rat [36], a model of successful aging characterized by a high degree of resistance to OS [53-56]. They are also prevented in aged animals receiving a long-term treatment with the reducing compound N-acetyl-cysteine in which the extent of OS is minimized [57]. An increased oxidation of sulfhydryl groups of SR [58] and/or changes in its dimer active conformation [59] may be viewed as possible mechanisms underlying the age-related SR deregulation by OS. Interestingly, aged LOU/C rats show not only intact synaptic

plasticity and NMDAr activation but also preserved memory abilities [55, 56, 60]. Compelling all these available functional and behavioural data therefore indicates that a preservation of SR activity and a robust synaptic availability of D-serine in cerebral tissues is essential to maintain potent cognitive capacities in physiological aging (Figure 1). It is interesting to note that the impaired learning of olfactory conditioning in aged drosophila, which also display decreased D-serine levels, was reversed by feeding flies with the amino acid [61]. Nevertheless, a supplementation with D-serine to prevent memory deficits in aged mammals has not been considered yet although treatment with the related agonist Dcycloserine is clearly beneficial in aged rodents [62, 63]. This is presumably because long-term treatment with D-serine induced serious side effects, nephro- and hepato-toxicity notably [64, 65].

### **3. D-serine in Alzheimer's disease**

Although our knowledge on pathophysiological mechanisms underlying the onset and development of Alzheimer's disease (AD) has increased exponentially these last decades, its aetiology is far from being fully clarified. Indeed, AD is complex and multifactorial, with a notable overlap between familial and sporadic forms. Its symptomatology has been associated with a convoluted and multiple mechanisms, including an increase in the production of the  $\beta$ amyloid ( $A\beta$ ) peptide that accumulates intracellularly while also aggregates in extracellular deposits, and enhanced intraneuronal neurofibrils with hyperphosphorylated TAU protein. These typical features are accompanied with gliosis and synaptotoxicity that finally results in neuronal loss and brain atrophy (see [66] for a review).

The NMDAr represents one of the most predominant extracellular targets for AD-related pathology. Indeed, even though still matter of debates, impairments of NMDAr are viewed as core pathophysiological mechanisms of the disease [67-69]. Whereas synaptic glutamate loss of availability is known to contribute to pathology [70, 71], changes in D-serine levels and putative underlying processes remain so far subject of controversial views.

The first link between D-serine and AD came from biochemical investigations. Indeed, either cerebrospinal fluid (CSF) or plasma changes in amino acid levels were observed in AD patients [72-80]. Unfortunately, divergent results appear from one study to another, regarding the magnitude but also the direction of these changes (Table 1). One possibility to account for the discrepancies could be found on the Braak stage of the patients sampled since D-serine levels

are thought to progressively increase in the CSF across the progression of the pathology [78]. Further, increased expression of the D-serine synthesizing enzyme was found in the hippocampus of Braak stage III-IV AD patients [81]. However, a significant rise of the coagonist in the pathophysiology of the disease has been questioned by a subsequent analysis but the Braak stage in this study was not clearly defined [72]. Finally, it's worth mentioning that an increase level of extracellular transcript of the phosphoglycerate dehydrogenase (PHGDH) was recently reported in subjects at presymptomatic stage, i.e. before being diagnosed AD [82]. PHGDH catalyzes serine biosynthesis in the brain from glucose [83]. Therefore, the elevation of its extracellular RNA may argue for an increase of D-serine brain level during presymptomatic stage of the disease.

Similarly, this issue does not make consensus in the field of preclinical investigations ([78, 84-86], see Table 1). In fact, an increase of D-serine levels in hippocampal tissues has been observed in several animal models of AD, including those with intracerebroventricular injections of soluble oligomers of the A $\beta$  peptide (A $\beta$ o) and genetic strains bearing several mutations associated with familiar forms of AD [78]. Thus, preliminary results in the 5xFAD mouse model of AD displaying high and chronic elevation of A $\beta$ o charge show a limited but significant increase in D-serine levels (Ploux et al, abstract IDAR 2019). It has been previously demonstrated *in-vitro* that A $\beta$ o could promote transcriptional expression of SR and stimulate D-serine release from both activated microglial cells [87, 88] and neurons [70]. More recently, induction of SR expression has also been found *in vitro* in reactive neurotoxic astrocytes [89] and *in-vivo* in the TgF344 rat model of AD [81]. Quite interestingly, SR knockout mice display significant reduced brain lesion after acute injections of A $\beta$ o [90]. Finally, our preliminary results indicate that the impairment of hippocampal synaptic plasticity and memory deficits associated with the increased D-serine levels in 5xFAD mice are rescued by a concomitant deletion of the SR gene. Altogether, this set of results supports the view that D-serine is required for the induction and development of the A $\beta$ o-dependent pathophysiology.

However, this view is not so straightforward (Figure 2). Indeed, observations from two transgenic mice models have extended the debate into the preclinical field on how D-serine contributes to AD. In fact, a decreased synthesis of L-serine from glucose through PHGDH astrocytic enzyme has recently been reported in 3xTg-AD mice [84]. Astrocytic L-serine was proposed to regulate NMDAR activity to sustain D-serine production by neurons [91] that would thus explain the altered synaptic plasticity observed in AD. The deficits of functional

plasticity in the hippocampus and memory impairments in these 3xTg-AD mice [84] are rescued by long-term treatments with either D- or L-serine, confirming the view of severe metabolic dysfunction as a leading hallmark and cause of AD as previously proposed (see [92]).

Besides, a weaker amount of the NMDAr co-agonist was observed in Amyloid Precursor Protein (APP) knock out mice [93]. This suggests that in addition to changes induced by increased synthesis of soluble A $\beta$ , the native protein is capable by itself to regulate D-serine homeostasis.

The question of the potential modification of D-serine levels in AD and its opposite directions found in the literature, points out several important aspects, notably due to predominant role of D-serine as a NMDAr co-agonist, that remain to be solved. Several explanations could account for the controversial results resumed above. First, as recently emphasized [94], the quantification of D-serine levels must comply with strict procedures allowing a precise and specific detection of the amino acid. However, all studies aimed at quantifying D-serine did not fulfil all the validation criteria. Second, as discussed by Le Douce and colleagues [84]), results may differ from one animal model to another since each of them reproduces only partially and differently the mechanisms and severity of AD-associated pathophysiology. As for examples, the intraneuronal A $\beta$  rates may be very different among the animal models of amyloidogenesis. Also, levels of soluble A $\beta$  are not defined in the study of Le Douce [84] which may be too low to impact SR activity. On the other hand, the glycemia and carbohydrate status of the 5xFAD mice used in the study of Ploux et al has not yet been considered, thus questioning putative changes in L-serine availability. Advantages and limits of modelling the disease in animals has been largely considered in the literature but our review, even by focussing on the specific role of D-serine in AD, indicates that this question still remains an important and open issue [95].

### **3. Conclusion**

Together, the results of clinical and preclinical studies show an undeniable variation in D-serine levels in both physiological and pathological aging. Regarding the first aspect, studies agree on a decrease in the availability of the amino acid that would directly impact functional synaptic plasticity and memory capacities. These data are particularly stimulating to initiate the search of future pharmacological treatments to compensate for the loss of D-serine. In contrast, a therapeutic perspective regarding the pathological aspect of aging still remains utopic since the view of how the amino acid behaves in both humans and animal models of AD does not make

consensus. Nevertheless, one may speculate that the opposite decrease or increase in D-serine levels reported along AD-related studies could be speculated as reflecting the slow development of the disease and particularly of its amyloid progression. In conditions of low A $\beta$  production, the alteration of glucose intake and consequently the reduced production of the precursor L-serine could be considered as a critical mechanism that decreases D-serine levels in the early stages of the disease. Then, as the A $\beta$  production elevates, this mechanism could be overpassed by the direct stimulation of SR activity, thus enhancing D-serine levels. This interesting schema has now to be precisely evaluated and represents an essential milestone since it means that the best effective therapeutic strategy of delivery of the amino acid should closely depend on the stage of the disease.

A further point remains also to be considered for the evaluation of D-serine in AD. As recently demonstrated, epigenetic mechanisms play a key role in the regulation of cerebral D-serine levels [96]. Therefore, the evaluation of the impact of epigenetics in the expression of D-serine degradation (DAAO) and synthesis (SR) enzyme genes should represent a major issue in AD.

On the other hand, this review indicates that there is still clearly a crucial need of animal models really mimicking the slow progression and the changes in A $\beta$  and Tau protein levels of human AD. Hopefully, a new generation of models such as those currently developed with viral-mediated gene transfer [97, 98] will certainly allow for more consistent results and clearer understanding of the involvement of D-serine in the pathophysiology of AD.

**Figure 1:** Schematic representation of changes in D-serine availability at CA3/CA1 hippocampal synapses during physiological aging.

Once formed from glucose in astrocytes, the precursor L-serine shuttles to the neuronal compartment to be converted into D-serine by serine racemase (SR). After being released in the synaptic cleft, D-serine binds to NMDAr, together with glutamate, allowing activation of the receptor. During the aging processes, the progressive installation of the oxidative stress decreases the expression or the dimerization of SR, thus reducing D-serine synthesis. Consequently, NMDAr activation is altered that impairs the expression of functional plasticity such as long-term potentiation in neuronal networks and, ultimately of the memory encoding.



**Figure 2:** Schematic representation of changes in D-serine homeostasis at CA3/CA1 hippocampal synapses during the progressive installation of amyloid-related pathophysiology of AD.

At early stages of the disease with low levels of soluble A $\beta$  oligomers (left), glucose catabolism is impacted that decreases the synthesis of the precursor L-serine, thus reducing D-serine levels. This leads to weaker NMDAr activation, impaired functional plasticity in neuronal networks and ultimately deficits of memory processes.

Credit author statement and figures.

**Declaration of interests**

## References:

- [1] B.H. Anderton, Ageing of the brain, *Mech Ageing Dev* 123(7) (2002) 811-7.
- [2] L.E.B. Bettio, L. Rajendran, J. Gil-Mohapel, The effects of aging in the hippocampus and cognitive decline, *Neurosci Biobehav Rev* 79 (2017) 66-86.
- [3] S.N. Burke, C.A. Barnes, Senescent synapses and hippocampal circuit dynamics, *Trends Neurosci* 33(3) (2010) 153-61.
- [4] I. Driscoll, D.A. Hamilton, H. Petropoulos, R.A. Yeo, W.M. Brooks, R.N. Baumgartner, R.J. Sutherland, The aging hippocampus: cognitive, biochemical and structural findings, *Cereb Cortex* 13(12) (2003) 1344-51.
- [5] M.M. Esiri, Ageing and the brain, *The Journal of pathology* 211(2) (2007) 181-7.
- [6] D.L. Brown, Bias in image analysis and its solution: unbiased stereology, *Journal of toxicologic pathology* 30(3) (2017) 183-191.
- [7] D.F. Marrone, J.C. LeBoutillier, T.L. Petit, Complementary techniques for unbiased stereology of brain ultrastructure, *Journal of electron microscopy* 52(4) (2003) 425-8.
- [8] R.M.A. Napper, Total Number Is Important: Using the Disector Method in Design-Based Stereology to Understand the Structure of the Rodent Brain, *Frontiers in neuroanatomy* 12 (2018) 16. [9] K.A. Baskerville, C. Kent, M.M. Nicolle, M. Gallagher, M. McKinney, Aging causes partial loss of basal forebrain but no loss of pontine reticular cholinergic neurons, *Neuroreport* 17(17) (2006) 1819-23.
- [10] S.A. Chance, Subtle changes in the ageing human brain, *Nutrition and health* 18(3) (2006) 217-24.
- [11] T. Wyss-Coray, Ageing, neurodegeneration and brain rejuvenation, *Nature* 539(7628) (2016) 180-186.
- [12] N. Burgess, E.A. Maguire, J. O'Keefe, The human hippocampus and spatial and episodic memory, *Neuron* 35(4) (2002) 625-41.
- [13] H. Eichenbaum, Memory: Organization and Control, *Annu Rev Psychol* 68 (2017) 19-45. [14] B. Opitz, Memory function and the hippocampus, *Frontiers of neurology and neuroscience* 34 (2014) 51-9.
- [15] J.T. Wixted, L.R. Squire, The role of the human hippocampus in familiarity-based and recollection-based recognition memory, *Behav Brain Res* 215(2) (2010) 197-208.
- [16] C.A. Barnes, B.L. McNaughton, An age comparison of the rates of acquisition and forgetting of spatial information in relation to long-term enhancement of hippocampal synapses, *Behav Neurosci* 99(6) (1985) 1040-8.
- [17] J.P. Lister, C.A. Barnes, Neurobiological changes in the hippocampus during normative aging, *Arch Neurol* 66(7) (2009) 829-33.
- [18] J.M. Billard, Ageing, hippocampal synaptic activity and magnesium, *Magnes Res* 19(3) (2006) 199-215.
- [19] C.A. Barnes, B.L. McNaughton, Physiological compensation for loss of afferent synapses in rat hippocampal granule cells during senescence, *J Physiol* 309 (1980) 473-85.
- [20] T.C. Foster, Biological markers of age-related memory deficits: treatment of senescent physiology, *CNS Drugs* 20(2) (2006) 153-66.
- [21] P.W. Landfield, J.L. McGaugh, G. Lynch, Impaired synaptic potentiation processes in the hippocampus of aged, memory-deficient rats, *Brain Res* 150(1) (1978) 85-101.

- [22] E.S. Rosenzweig, C.A. Barnes, Impact of aging on hippocampal function: plasticity, network dynamics, and cognition, *Prog Neurobiol* 69(3) (2003) 143-79.
- [23] T.V. Bliss, G.L. Collingridge, A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus, *Nature* 361(6407) (1993) 31-9.
- [24] G.L. Collingridge, T.V. Bliss, Memories of NMDA receptors and LTP, *Trends Neurosci* 18(2) (1995) 54-6.
- [25] R.C. Malenka, R.A. Nicoll, NMDA-receptor-dependent synaptic plasticity: multiple forms and mechanisms, *Trends Neurosci* 16(12) (1993) 521-7.
- [26] R.G. Morris, NMDA receptors and memory encoding, *Neuropharmacology* 74 (2013) 32-40. [27] J.W. Johnson, P. Ascher, Glycine potentiates the NMDA response in cultured mouse brain neurons, *Nature* 325(6104) (1987) 529-31.
- [28] N.W. Kleckner, R. Dingledine, Requirement for glycine in activation of NMDA-receptors expressed in *Xenopus* oocytes, *Science* 241(4867) (1988) 835-7.
- [29] N.W. Kleckner, R. Dingledine, Regulation of hippocampal NMDA receptors by magnesium and glycine during development, *Brain Res Mol Brain Res* 11(2) (1991) 151-9.
- [30] J.P. Mothet, A.T. Parent, H. Wolosker, R.O. Brady, Jr., D.J. Linden, C.D. Ferris, M.A. Rogawski, S.H. Snyder, D-serine is an endogenous ligand for the glycine site of the N-methyl-D-aspartate receptor, *Proc Natl Acad Sci U S A* 97(9) (2000) 4926-31.
- [31] D.T. Balu, Y. Li, M.D. Puhl, M.A. Benneyworth, A.C. Basu, S. Takagi, V.Y. Bolshakov, J.T. Coyle, Multiple risk pathways for schizophrenia converge in serine racemase knockout mice, a mouse model of NMDA receptor hypofunction, *Proc Natl Acad Sci U S A* 110(26) (2013) E2400-9.
- [32] A.C. Basu, G.E. Tsai, C.L. Ma, J.T. Ehmsen, A.K. Mustafa, L. Han, Z.I. Jiang, M.A. Benneyworth, M.P. Froimowitz, N. Lange, S.H. Snyder, R. Bergeron, J.T. Coyle, Targeted disruption of serine racemase affects glutamatergic neurotransmission and behavior, *Mol Psychiatry* 14(7) (2009) 719-27. [33] J.M. Billard, D-Amino acids in brain neurotransmission and synaptic plasticity, *Amino Acids* 43(5) (2012) 1851-60.
- [34] J.P. Mothet, E. Rouaud, P.M. Sinet, B. Potier, A. Jouvenceau, P. Dutar, C. Videau, J. Epelbaum, J.M. Billard, A critical role for the glial-derived neuromodulator D-serine in the age-related deficits of cellular mechanisms of learning and memory, *Aging Cell* 5(3) (2006) 267-74.
- [35] B. Potier, F.R. Turpin, P.M. Sinet, E. Rouaud, J.P. Mothet, C. Videau, J. Epelbaum, P. Dutar, J.M. Billard, Contribution of the d-Serine-Dependent Pathway to the Cellular Mechanisms Underlying Cognitive Aging, *Front Aging Neurosci* 2 (2010) 1.
- [36] F.R. Turpin, B. Potier, J.R. Dulong, P.M. Sinet, J. Alliot, S.H. Oliet, P. Dutar, J. Epelbaum, J.P. Mothet, J.M. Billard, Reduced serine racemase expression contributes to age-related deficits in hippocampal cognitive function, *Neurobiol Aging* 32(8) (2011) 1495-504.
- [37] S. Yang, H. Qiao, L. Wen, W. Zhou, Y. Zhang, D-serine enhances impaired long-term potentiation in CA1 subfield of hippocampal slices from aged senescence-accelerated mouse prone/8, *Neurosci Lett* 379(1) (2005) 7-12.
- [38] D.A. Clayton, M.D. Browning, Deficits in the expression of the NR2B subunit in the hippocampus of aged Fisher 344 rats, *Neurobiol Aging* 22(1) (2001) 165-8.
- [39] K.R. Magnusson, Aging of glutamate receptors: correlations between binding and spatial memory performance in mice, *Mech Ageing Dev* 104(3) (1998) 227-48.

- [40] D. Wang, S.A. Jacobs, J.Z. Tsien, Targeting the NMDA receptor subunit NR2B for treating or preventing age-related memory decline, *Expert opinion on therapeutic targets* 18(10) (2014) 112130.
- [41] G.L. Wenk, C.A. Barnes, Regional changes in the hippocampal density of AMPA and NMDA receptors across the lifespan of the rat, *Brain Res* 885(1) (2000) 1-5.
- [42] J.M. Billard, Serine racemase as a prime target for age-related memory deficits, *Eur J Neurosci* 37(12) (2013) 1931-8.
- [43] J.M. Billard, Changes in Serine Racemase-Dependent Modulation of NMDA Receptor: Impact on Physiological and Pathological Brain Aging, *Frontiers in molecular biosciences* 5 (2018) 106.
- [44] M.A. Calcia, C. Madeira, F.V. Alheira, T.C. Silva, F.M. Tannos, C. Vargas-Lopes, N. Goldenstein, M.A. Brasil, S.T. Ferreira, R. Panizzutti, Plasma levels of D-serine in Brazilian individuals with schizophrenia, *Schizophr Res* 142(1-3) (2012) 83-7.
- [45] Y. Nagata, T. Uehara, Y. Kitamura, Y. Nomura, K. Horiike, D-serine content and D-[3H] serine binding in the brain regions of the senescence-accelerated mouse, *Mech Ageing Dev* 104(2) (1998) 115-24.
- [46] D. Rosenberg, S. Artoul, A.C. Segal, G. Kolodney, I. Radzishewsky, E. Dikopoltsev, V.N. Foltyn, R. Inoue, H. Mori, J.M. Billard, H. Wolosker, Neuronal D-Serine and Glycine Release Via the Asc-1 Transporter Regulates NMDA Receptor-Dependent Synaptic Activity, *J Neurosci* 33(8) (2013) 353344.
- [47] H. Sason, J.M. Billard, G.P. Smith, H. Safory, S. Neame, E. Kaplan, D. Rosenberg, S. Zubedat, V.N. Foltyn, C.T. Christoffersen, C. Bundgaard, C. Thomsen, A. Avital, K.V. Christensen, H. Wolosker, Asc-1 Transporter Regulation of Synaptic Activity via the Tonic Release of d-Serine in the Forebrain, *Cereb Cortex* 27(2) (2017) 1573-1587.
- [48] J.M. Billard, T. Freret, Asc-1 transporter activation: an alternative to rescue age-related alterations in functional plasticity at rat hippocampal CA3/CA1 synapses, *J Neurochem* 147(4) (2018) 514-525.
- [49] W. Droge, H.M. Schipper, Oxidative stress and aberrant signaling in aging and cognitive decline, *Aging Cell* 6(3) (2007) 361-70.
- [50] K. Fukui, K. Onodera, T. Shinkai, S. Suzuki, S. Urano, Impairment of learning and memory in rats caused by oxidative stress and aging, and changes in antioxidative defense systems, *Ann N Y Acad Sci* 928 (2001) 168-75.
- [51] T.R. Golden, D.A. Hinerfeld, S. Melov, Oxidative stress and aging: beyond correlation, *Aging Cell* 1(2) (2002) 117-23.
- [52] A. Kumar, B. Yegla, T.C. Foster, Redox Signaling in Neurotransmission and Cognition During Aging, *Antioxid Redox Signal* (2017).
- [53] J. Alliot, S. Boghossian, D. Jourdan, C. Veyrat-Durebex, G. Pickering, D. Meynial-Denis, N. Gaumet, The LOU/c/jall rat as an animal model of healthy aging?, *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 57(8) (2002) B312-20.
- [54] S. Boghossian, G. Nzang Nguema, D. Jourdan, J. Alliot, Old as mature LOU/c/jall rats enhance protein selection in response to a protein deprivation, *Exp Gerontol* 37(12) (2002) 1431-40.

- [55] M. Kollen, A. Stephan, A. Faivre-Bauman, C. Loudes, P.M. Sinet, J. Alliot, J.M. Billard, J. Epelbaum, P. Dutar, A. Jouvenceau, Preserved memory capacities in aged Lou/C/Jall rats, *Neurobiol Aging* 31(1) (2010) 129-42.
- [56] V. Paban, J.M. Billard, V. Bouet, T. Freret, M. Boulouard, C. Chambon, B. Loriod, B. AlescioLautier, Genomic transcriptional profiling in LOU/C/Jall rats identifies genes for successful aging, *Brain Struct Funct* 218(6) (2013) 1501-12.
- [57] C. Haxaire, F.R. Turpin, B. Potier, M. Kervern, P.M. Sinet, G. Barbanel, J.P. Mothet, P. Dutar, J.M. Billard, Reversal of age-related oxidative stress prevents hippocampal synaptic plasticity deficits by protecting d-serine-dependent NMDA receptor activation, *Aging Cell* 11(2) (2012) 336-44.
- [58] A.K. Mustafa, M. Kumar, B. Selvakumar, G.P. Ho, J.T. Ehmsen, R.K. Barrow, L.M. Amzel, S.H. Snyder, Nitric oxide S-nitrosylates serine racemase, mediating feedback inhibition of D-serine formation, *Proc Natl Acad Sci U S A* 104(8) (2007) 2950-5.
- [59] W. Wang, S.W. Barger, Cross-linking of serine racemase dimer by reactive oxygen species and reactive nitrogen species, *J Neurosci Res* 90(6) (2012) 1218-29.
- [60] C. Menard, R. Quirion, S. Bouchard, G. Ferland, P. Gaudreau, Glutamatergic signaling and low prodynorphin expression are associated with intact memory and reduced anxiety in rat models of healthy aging, *Front Aging Neurosci* 6 (2014) 81.
- [61] D. Yamazaki, J. Horiuchi, K. Ueno, T. Ueno, S. Saeki, M. Matsuno, S. Naganos, T. Miyashita, Y. Hirano, H. Nishikawa, M. Taoka, Y. Yamauchi, T. Isobe, Y. Honda, T. Kodama, T. Masuda, M. Saitoe, Glial dysfunction causes age-related memory impairment in *Drosophila*, *Neuron* 84(4) (2014) 753-63. [62] J. Aura, M. Riekkinen, P. Riekkinen, Jr., Tetrahydroaminoacridine and D-cycloserine stimulate acquisition of water maze spatial navigation in aged rats, *Eur J Pharmacol* 342(1) (1998) 15-20. [63] M.G. Baxter, T.H. Lanthorn, K.M. Frick, S. Golski, R.Q. Wan, D.S. Olton, D-cycloserine, a novel cognitive enhancer, improves spatial memory in aged rats, *Neurobiol Aging* 15(2) (1994) 207-13. [64] A.W. Krug, K. Volker, W.H. Dantzer, S. Silbernagl, Why is D-serine nephrotoxic and alphaaminoisobutyric acid protective?, *Am J Physiol Renal Physiol* 293(1) (2007) F382-90.
- [65] R.E. Williams, E.A. Lock, D-serine-induced nephrotoxicity: possible interaction with tyrosine metabolism, *Toxicology* 201(1-3) (2004) 231-8.
- [66] N. Villain, B. Dubois, Alzheimer's Disease Including Focal Presentations, *Semin Neurol* 39(2) (2019) 213-226.
- [67] H.W. Kessels, S. Nabavi, R. Malinow, Metabotropic NMDA receptor function is required for betaamyloid-induced synaptic depression, *Proc Natl Acad Sci U S A* 110(10) (2013) 4033-8.
- [68] R. Malinow, New developments on the role of NMDA receptors in Alzheimer's disease, *Curr Opin Neurobiol* 22(3) (2012) 559-63.
- [69] S.I. Mota, I.L. Ferreira, A.C. Rego, Dysfunctional synapse in Alzheimer's disease - A focus on NMDA receptors, *Neuropharmacology* 76 Pt A (2014) 16-26.
- [70] J. Brito-Moreira, A.C. Paula-Lima, T.R. Bomfim, F.B. Oliveira, F.J. Sepulveda, F.G. De Mello, L.G. Aguayo, R. Panizzutti, S.T. Ferreira, Abeta oligomers induce glutamate release from hippocampal neurons, *Curr Alzheimer Res* 8(5) (2011) 552-62.
- [71] M. Talantova, S. Sanz-Blasco, X. Zhang, P. Xia, M.W. Akhtar, S. Okamoto, G. Dziewczapolski, T. Nakamura, G. Cao, A.E. Pratt, Y.J. Kang, S. Tu, E. Molokanova, S.R. McKercher, S.A. Hires, H. Sason,

D.G. Stouffer, M.W. Buczynski, J.P. Solomon, S. Michael, E.T. Powers, J.W. Kelly, A. Roberts, G. Tong,  
T. Fang-Newmeyer, J. Parker, E.A. Holland, D. Zhang, N. Nakanishi, H.S. Chen, H. Wolosker, Y. Wang,  
L.H. Parsons, R. Ambasudhan, E. Masliah, S.F. Heinemann, J.C. Pina-Crespo, S.A. Lipton, Abeta induces astrocytic glutamate release, extrasynaptic NMDA receptor activation, and synaptic loss, *Proc Natl Acad Sci U S A* 110(27) (2013) E2518-27.

[72] E.A. Biemans, N.M. Verhoeven-Duif, J. Gerrits, J.A. Claassen, H.B. Kuiperij, M.M. Verbeek, CSF dserine concentrations are similar in Alzheimer's disease, other dementias, and elderly controls, *Neurobiol Aging* 42 (2016) 213-6.

[73] M.L. Chouinard, D. Gaitan, P.L. Wood, Presence of the N-methyl-D-aspartate-associated glycine receptor agonist, D-serine, in human temporal cortex: comparison of normal, Parkinson, and Alzheimer tissues, *J Neurochem* 61(4) (1993) 1561-4.

[74] K. Hashimoto, T. Fukushima, E. Shimizu, S. Okada, N. Komatsu, N. Okamura, K. Koike, H. Koizumi, C. Kumakiri, K. Imai, M. Iyo, Possible role of D-serine in the pathophysiology of Alzheimer's disease, *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 28(2) (2004) 385-8.

[75] S. Kumashiro, A. Hashimoto, T. Nishikawa, Free D-serine in post-mortem brains and spinal cords of individuals with and without neuropsychiatric diseases, *Brain Res* 681(1-2) (1995) 117-25. [76] C.H. Lin, C.C. Chiu, C.H. Huang, H.T. Yang, H.Y. Lane, pLG72 levels increase in early phase of Alzheimer's disease but decrease in late phase, *Sci Rep* 9(1) (2019) 13221.

[77] C.H. Lin, H.T. Yang, C.C. Chiu, H.Y. Lane, Blood levels of D-amino acid oxidase vs. D-amino acids in reflecting cognitive aging, *Sci Rep* 7(1) (2017) 14849.

[78] C. Madeira, M.V. Lourenco, C. Vargas-Lopes, C.K. Suemoto, C.O. Brandao, T. Reis, R.E. Leite, J. Laks, W. Jacob-Filho, C.A. Pasqualucci, L.T. Grinberg, S.T. Ferreira, R. Panizzutti, d-serine levels in Alzheimer's disease: implications for novel biomarker development, *Translational psychiatry* 5 (2015) e561.

[79] Y. Nagata, M. Borghi, G.H. Fisher, A. D'Aniello, Free D-serine concentration in normal and Alzheimer human brain, *Brain Res Bull* 38(2) (1995) 181-3.

[80] G. Fisher, N. Lorenzo, H. Abe, E. Fujita, W.H. Frey, C. Emory, M.M. Di Fiore, D.A. A, Free D- and Lamino acids in ventricular cerebrospinal fluid from Alzheimer and normal subjects, *Amino Acids* 15(3) (1998) 263-9.

[81] D.T. Balu, H. Pantazopoulos, C.C.Y. Huang, K. Muszynski, T.L. Harvey, Y. Uno, J.M. Rorabaugh, C.R. Galloway, C. Botz-Zapp, S. Berretta, D. Weinshenker, J.T. Coyle, Neurotoxic astrocytes express the d-serine synthesizing enzyme, serine racemase, in Alzheimer's disease, *Neurobiol Dis* 130 (2019) 104511.

[82] Z. Yan, Z. Zhou, Q. Wu, Z.B. Chen, E.H. Koo, S. Zhong, Presymptomatic Increase of an Extracellular RNA in Blood Plasma Associates with the Development of Alzheimer's Disease, *Curr Biol* 30(10) (2020) 1771-1782.e3.

[83] M. Yamasaki, K. Yamada, S. Furuya, J. Mitoma, Y. Hirabayashi, M. Watanabe, 3-Phosphoglycerate dehydrogenase, a key enzyme for l-serine biosynthesis, is preferentially expressed in the radial glia/astrocyte lineage and olfactory ensheathing glia in the mouse brain, *J Neurosci* 21(19) (2001) 7691-704.

[84] J. Le Douce, M. Maugard, J. Veran, M. Matos, P. Jégo, P.A. Vigneron, E. Faivre, X. Toussay, M.

Vandenbergh, Y. Balbastre, J. Piquet, E. Guiot, N.T. Tran, M. Taverna, S. Marinesco, A. Koyanagi, S. Furuya, M. Gaudin-Guérif, S. Goutal, A. Ghetas, A. Pruvost, A.P. Bemelmans, M.C. Gaillard, K. Cambon, L. Stimmer, V. Sazdovitch, C. Duyckaerts, G. Knott, A.S. Hérard, T. Delzescaux, P. Hantraye, E. Brouillet, B. Cauli, S.H.R. Olié, A. Panatier, G. Bonvento, Impairment of Glycolysis-Derived L-Serine Production in Astrocytes Contributes to Cognitive Deficits in Alzheimer's Disease, *Cell metabolism* 31(3) (2020) 503-517.e8.

[85] Z. Li, Y. Xing, X. Guo, Y. Cui, Development of an UPLC-MS/MS method for simultaneous quantitation of 11 d-amino acids in different regions of rat brain: Application to a study on the associations of d-amino acid concentration changes and Alzheimer's disease, *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 1058 (2017) 40-46.

[86] Y. Xing, X. Li, X. Guo, Y. Cui, Simultaneous determination of 18 D-amino acids in rat plasma by an ultrahigh-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry method: application to explore the potential relationship between Alzheimer's disease and D-amino acid level alterations, *Analytical and bioanalytical chemistry* 408(1) (2016) 141-50.

[87] S. Wu, A.S. Basile, S.W. Barger, Induction of serine racemase expression and D-serine release from microglia by secreted amyloid precursor protein (sAPP), *Curr Alzheimer Res* 4(3) (2007) 243-51. [88] S.Z. Wu, A.M. Bodles, M.M. Porter, W.S. Griffin, A.S. Basile, S.W. Barger, Induction of serine racemase expression and D-serine release from microglia by amyloid beta-peptide, *J Neuroinflammation* 1(1) (2004) 2.

[89] S. Li, Y. Uno, U. Rudolph, J. Cobb, J. Liu, T. Anderson, D. Levy, D.T. Balu, J.T. Coyle, Astrocytes in primary cultures express serine racemase, synthesize d-serine and acquire A1 reactive astrocyte features, *Biochem Pharmacol* 151 (2018) 245-251.

[90] R. Inoue, K. Hashimoto, T. Harai, H. Mori, NMDA- and beta-amyloid1-42-induced neurotoxicity is attenuated in serine racemase knock-out mice, *J Neurosci* 28(53) (2008) 14486-91.

[91] S. Neame, H. Safory, I. Radziszewsky, A. Touitou, F. Marchesani, M. Marchetti, S. Kellner, S. Berlin, V.N. Foltyn, S. Engelender, J.M. Billard, H. Wolosker, The NMDA receptor activation by dserine and glycine is controlled by an astrocytic Phgdh-dependent serine shuttle, *Proc Natl Acad Sci U S A* 116(41) (2019) 20736-20742.

[92] S.M. de la Monte, M. Tong, Brain metabolic dysfunction at the core of Alzheimer's disease, *Biochem Pharmacol* 88(4) (2014) 548-59.

[93] C. Zou, S. Crux, S. Marinesco, E. Montagna, C. Sgobio, Y. Shi, S. Shi, K. Zhu, M.M. Dorostkar, U.C. Muller, J. Herms, Amyloid precursor protein maintains constitutive and adaptive plasticity of dendritic spines in adult brain by regulating D-serine homeostasis, *Embo j* 35(20) (2016) 2213-2222. [94] J.P. Mothet, J.M. Billard, L. Pollegioni, J.T. Coyle, J.V. Sweedler, Investigating brain d-serine: advocacy for good practices, *Acta physiologica (Oxford, England)* (2019) e13257.

[95] E. Drummond, T. Wisniewski, Alzheimer's disease: experimental models and reality, *Acta neuropathologica* 133(2) (2017) 155-175.

[96] M. Cuomo, S. Keller, D. Punzo, T. Nuzzo, O. Affinito, L. Coretti, M. Carella, V. de Rosa, E. Florio, F. Boscia, V.E. Avvedimento, S. Cocozza, F. Errico, A. Usiello, L. Chiariotti, Selective demethylation of two CpG sites causes postnatal activation of the Dao gene and consequent removal of D-serine within the mouse cerebellum, *Clinical epigenetics* 11(1) (2019) 149.

[97] M. Audrain, R. Fol, P. Dutar, B. Potier, J.M. Billard, J. Flament, S. Alves, M.A. Burlot, G. DufayetChaffaud, A.P. Bemelmans, J. Valette, P. Hantraye, N. Deglon, N. Cartier, J. Braudeau, Alzheimer's disease-like APP processing in wild-type mice identifies synaptic defects as initial steps of disease progression, *Molecular neurodegeneration* 11 (2016) 5.

[98] M. Audrain, B. Souchet, S. Alves, R. Fol, A. Viode, A. Haddjeri, S. Tada, N.S. Orefice, C. Josephine, A.P. Bemelmans, T. Delzescaux, N. Deglon, P. Hantraye, Y. Akwa, F. Becher, J.M. Billard, B. Potier, P. Dutar, N. Cartier, J. Braudeau, betaAPP Processing Drives Gradual Tau Pathology in an AgeDependent Amyloid Rat Model of Alzheimer's Disease, *Cereb Cortex* 28(11) (2018) 3976-3993.

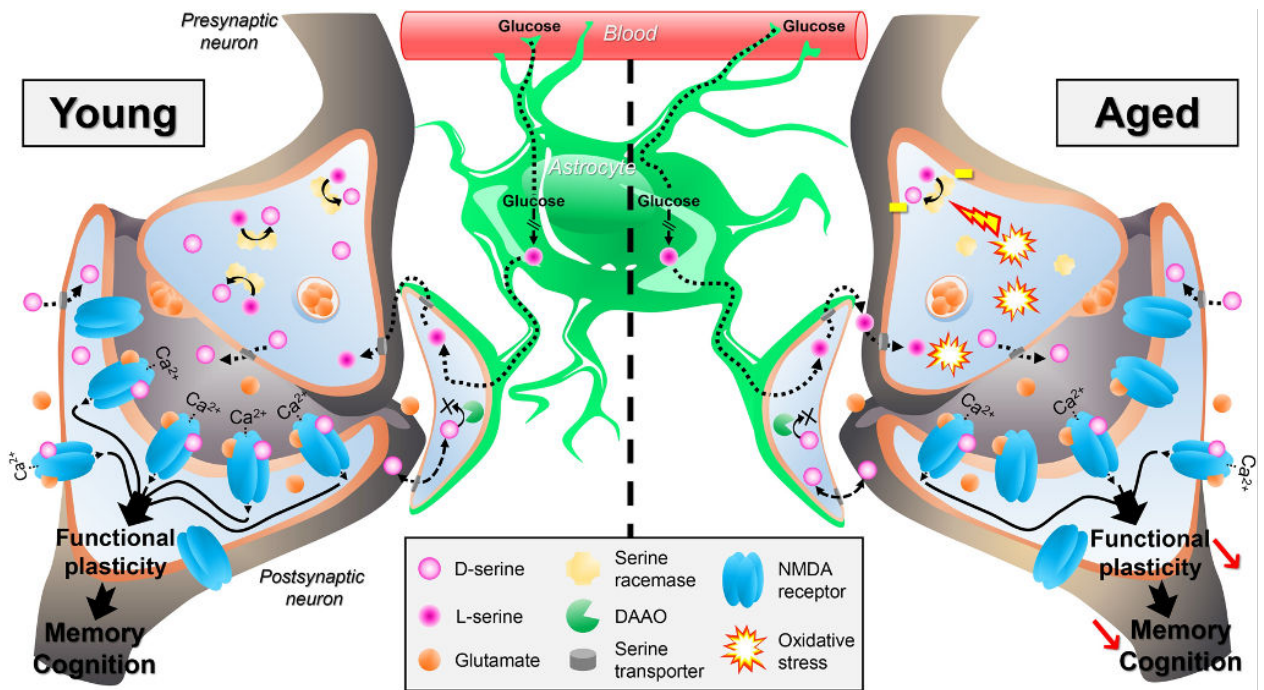


**Table 1:**

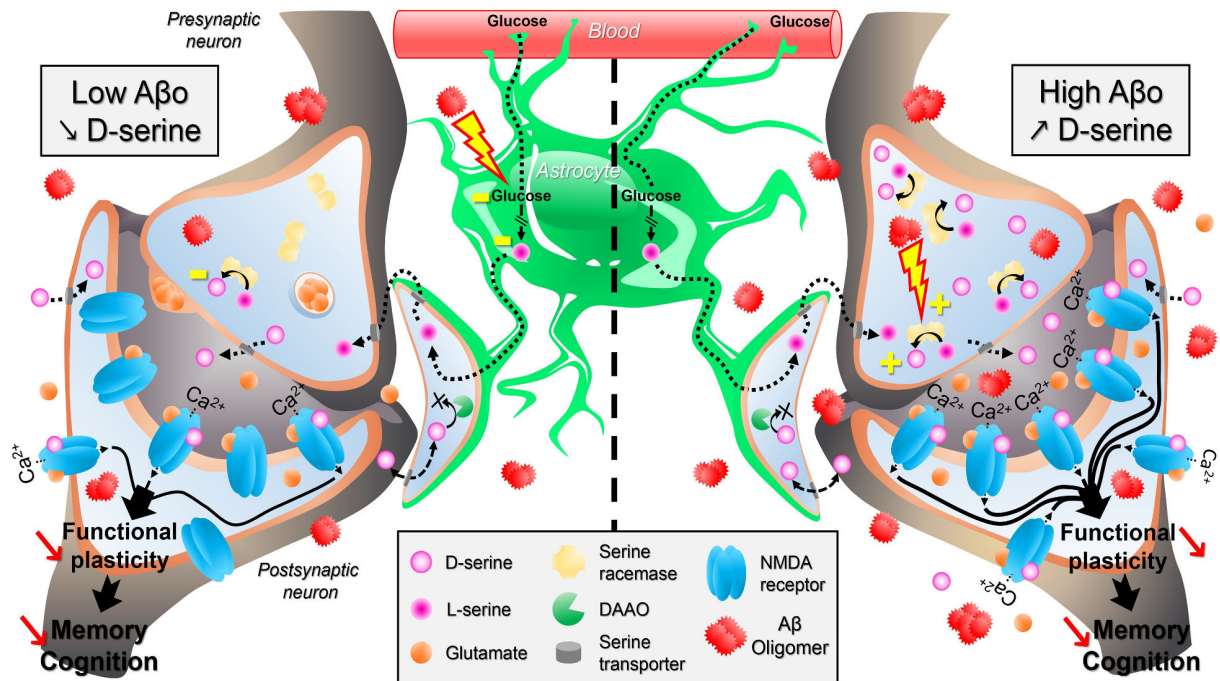
Comparison of the different clinical and preclinical studies aimed at measuring D-serine contents in brain tissues, blood or cerebrospinal fluid (CSF).

CLINICAL DATA	Ref n°	Subjects	AD MMSE	Sample	Cerebral region	D-serine level
	79	AD		Tissues	PFC	=
	75	AD		Tissues	PCF, parietal cortex	=
	73	AD		Tissues	Temporal cortex	=
	78	AD	12.7	Tissues	HPC and parietal cortex	↗
	80	MCI, mild, moderate to severe AD	( ± 6.2)	CSF		↗
	72	AD	22.1	CSF		=
			( ± 3.3)			
	74	AD	18.7	Serum		↘
			( + / - 5.00)			
	76	Amnesic MCI, mild AD, moderate AD and severe AD		Serum		↗
	77	MCI, mild, moderate to severe AD	23.2, 18.2, 10.4, 28.1	Peripheral blood		↗
PRECLINICAL DATA	Ref n°	Model	Age	Sample	Cerebral region	D-serine level
	85	Wistar rats with Aβ injections		Tissues	Olfactory bulb, cerebellum	=
					HPC, cerebral cortex	↘
	78	APPswe/PS1ΔE9 mice	14–16 months	Tissues	HPC	↗
		C57Bl/6 mice with Aβo injections	3 months	Tissues	HPC	↗
	84	3xTg-AD	6 months	Tissues	HPC	↘
	86	Wistar rats with Aβ injections		Plasma		↘

AD: Alzheimer's disease, MCI: Mild cognitive impairment, MMSE: mini-mental state examination, HPC: hippocampus, PCF: Prefrontal cortex.



**Fig. 1.** Schematic representation of changes in D-serine availability at CA3/CA1 hippocampal synapses during physiological aging.



**Fig. 2.** Schematic representation of changes in D-serine homeostasis at CA3/CA1 hippocampal synapses during the progressive installation of amyloid-related pathophysiology of AD.

Highlights:

- D-serine levels decrease in physiological aging
- In Alzheimer's disease, changes in D-serine levels remain unclear
- The direction of changes may depend on the stage of the disease

Deux nouveaux articles ont été publiés sur cette thématique entre la publication de la mini-revue et la rédaction de ce manuscrit (Nuzzo *et al.*, 2020 ; Piubelli *et al.*, 2021). Ces travaux rapportent une nouvelle fois des résultats opposés concernant la modification des taux de D-sérine dans la MA.

## OBJECTIF



### C. Objectif : D-sérine : un maillon central de la physiopathologie amyloïde ?

En parallèle de l'allongement de l'espérance de vie, une élévation du taux d'incidence des pathologies associées au vieillissement a été observée. C'est le cas de la MA dont l'âge représente le facteur de risque principal, en particulier dans sa forme sporadique. Associé à un coût sociétal prépondérant, cette affection est une préoccupation majeure en termes de santé publique. Il n'existe à ce jour aucun traitement curatif de la MA. Une des explications serait un diagnostic et une prise en charge trop tardive des patients, sachant que les modifications cérébrales débutent vraisemblablement de façon insidieuse 10 à 20 ans avant les premières répercussions cliniques.

Afin de mettre en place le plus tôt possible des stratégies susceptibles d'améliorer significativement la qualité de vie des patients et de leur entourage, un enjeu majeur est de permettre un dépistage précoce et d'identifier de nouvelles cibles thérapeutiques pertinentes. Dans ce contexte il est essentiel de s'intéresser à la résultante toxique de chacune des caractéristiques déjà identifiées dans la maladie.

C'est le cas de l'amyloïdogénèse qui a fait l'objet d'une recherche intense mais en se concentrant principalement sur la recherche de stratégies thérapeutiques ciblant directement la disponibilité du peptide amyloïde. Cependant, mise à part le développement récent du traitement Aducanumab ciblant la charge amyloïde dans les phases prodromiques (Ferrero *et al.*, 2016 ; Selkoe *et al.*, 2019 ; Dhillon *et al.*, 2021), les résultats cliniques des nombreuses études antérieures se sont révélés insuffisants. Une recherche fondamentale et préclinique s'est donc récemment accélérée en se focalisant sur les mécanismes physiopathologiques de l'amyloïdogénèse aux niveaux cellulaire et moléculaire.

C'est dans ce cadre que s'est inscrit ma thèse, en cherchant à déterminer si l'acide aminé D-sérine pouvait se révéler être un acteur déterminant de la pathologie amyloïde. En effet, comme rapportée dans la revue précédente, les conclusions des études cliniques divergent encore actuellement en ce qui concerne une modification des taux de D-sérine chez les patients atteints de MA. Or, les études menées *in vitro* montrent que les taux de D-sérine peuvent être modifiés par le peptide amyloïde et que l'acide aminé pourrait contribuer à ses effets neurotoxiques.

L'objectif principal de cette thèse a donc été de déterminer l'impact de la D-sérine dans un contexte d'amyloïdogénèse renforcée. Ceci a été réalisé par l'étude du modèle murin 5xFAD lié aux formes familiales de la MA et présentant une accumulation amyloïde rapide et importante (Oakley *et al.*, 2006). Les résultats de cette étude ont été comparés à ceux obtenus avec un second modèle innovant, les souris 5xFAD/SR-KO, établi au laboratoire et obtenu par croisement des souris 5xFAD et des souris SR-KO dépourvues de D-sérine.

La question de savoir si la D-sérine est un maillon central de la pathologie amyloïde a été abordée de façon intégrée, de manière à avoir une vision la plus complète possible. Ceci est donc passé par une analyse du phénotype comportemental, de la plasticité fonctionnelle des connexions CA3-CA1 hippocampiques et complétée par des études au niveau cellulaire et moléculaire. De plus, trois âges d'intérêts ont été abordés. Ces trois âges ont été sélectionnés en fonction de la cinétique d'apparition de la charge amyloïde chez les souris 5xFAD et de ses répercussions rapportées dans la littérature (Oakley *et al.*, 2006). L'âge de 1,5-2 mois a été sélectionné pour le stade précoce, correspondant à l'augmentation initiale des taux d'A $\beta$  ; l'âge de 3-4 mois représentant une période intermédiaire où les taux du peptide ont continué à s'élever ; et l'âge de 10-12 mois présente de l'A $\beta$  retrouvé en très grande quantité tout en étant associé à de nombreux troubles comportementaux, bien établis à ce stade.

## METHODOLOGIE





## II. Méthodologie

### A. Animaux

#### 1. Provenance et conditions d'hébergement

L'ensemble des animaux utilisés lors de cette thèse ont été fournis par l'établissement local (Centre Universitaire de Ressources Biologiques, Université de Caen, Normandie, numéro d'agrément : C14118015). Des souris mâles ont été utilisées dans ce projet aux âges de 1,5-2 mois, 3-4 mois et 10-12 mois. Les quatre groupes d'études comprenaient : les souris sauvages C57Bl/6 contrôles (wild-type, WT), SR-KO (Basu *et al.*, 2009), 5xFAD (Oakley *et al.*, 2006) et 5xFAD/SR-KO. Ce dernier modèle a été développé au laboratoire en 2016. De plus, l'ensemble des groupes expérimentaux utilisés possédaient un fond génétique C57Bl/6 obtenu par croisement avec les souris WT. Les souris 5XFAD co-exprimaient trois formes mutantes de l'APP humain retrouvées dans la forme héréditaire de la MA (la mutation suédoise K670N/M671L ; la mutation de Floride I716V et la mutation de Londres V717I) et également deux des transgènes PSEN1 (M146L ; L286V) sous le contrôle transcriptionnel du promoteur Thy-1 spécifique des neurones murin (lignée Tg6799).

La température et l'humidité de l'animalerie étaient maintenues à  $21\pm 2^\circ\text{C}$  et  $55\pm 10\%$ . Les animaux étaient hébergés dans des cages en polycarbonate (37x23x18cm) à 10 maximum avec un accès à l'eau et la nourriture *ad libitum*. Le milieu de chaque cage était constitué de sciure de bois enrichi avec un igloo en carton et des filaments de papier kraft. Dans le but d'avoir des animaux actifs lors des expérimentations, l'hébergement suivait un cycle d'éclairage inversé (12h/12h, obscurité de 7h à 19h).

### B. Caractérisation du profil amyloïde

Afin de caractériser la présence et l'évolution de la charge amyloïde des animaux 5xFAD et 5xFAD/SR-KO, deux analyses complémentaires ont été réalisées. La première a permis de doser principalement les formes monomériques et oligomériques par immunodosage. La coloration du tissu au Rouge Congo a été utilisée pour une seconde analyse qui cherchait à observer la localisation et quantifier les dépôts amyloïdes sous formes fibrillaires.

### 1. Préparation des tissus

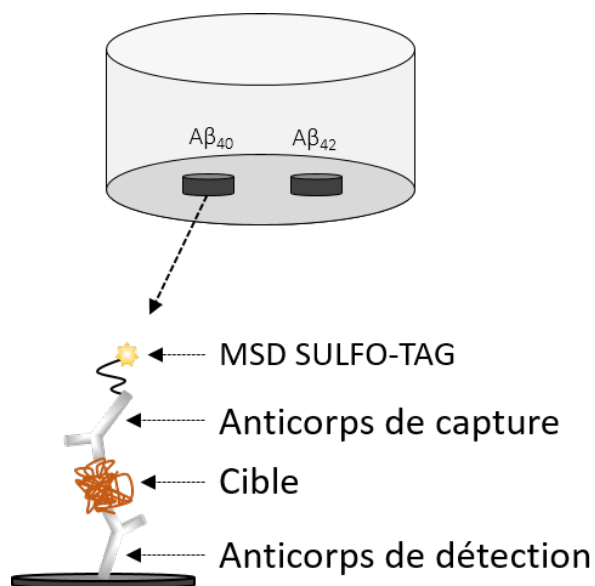
L'ensemble des animaux a été anesthésié à l'isoflurane (5%) à l'aide d'un dispositif gazeux d'O<sub>2</sub> et de N<sub>2</sub>O (30/70%), puis mis à mort par dislocation cervicale. Une fois le cerveau isolé, les deux hippocampes bilatéraux ont été prélevés et placés dans un tube eppendorf. Celui-ci était alors congelé dans de la carboglace et stocké à -80°C.

### 2. Dosage protéique par méthode BCA

Après la congélation des tissus, chaque échantillon a été traité avec un tampon de lyse (NaCl 0,15M ; EDTA 0,01M ; Triton 1% ; Tris 0,01M ; antiphosphatase 5 pastille /50mL ; antiprotéase 1 pastille /50mL), broyé grossièrement à l'aide d'un pilon en plastique, puis passé au sonicateur jusqu'à l'obtention d'un extrait lisse et homogène. Après avoir été centrifugé à 1500 tour/minutes pendant 5 minutes à 4°C, le surnageant a été récupéré et placé à -20°C. Une partie de l'échantillon a été utilisée de manière à connaître la quantité totale de protéines contenue. Basé sur une réaction à l'acide bicinchonique (BCA, Paul Smith, 1985), le dosage a été réalisé à l'aide du kit Micro BCA Protein Assay Kit (Thermofisher®, #23235).

### 3. Dosage A $\beta$ par le kit MSD V-PLEX A $\beta$ peptide panel 1 (4G8)

Le reste du surnageant a été envoyé à la plateforme de cytométrie et immunobiologie de l'institut Cochin à Paris, où les dosages ont été réalisés à l'aide du kit MSD (Meso Scale Discovery, K15199E-2) V-PLEX A $\beta$  peptide panel 1 (4G8). Ce kit est composé d'une plaque pré-coatée d'anticorps de capture sur des points indépendants (Figure 14) et bien définis dans chaque puit, selon l'isoforme d'A $\beta$  dosé (A $\beta$ <sub>40</sub> et A $\beta$ <sub>42</sub>) (Figure 13).



**Figure 14** : Schéma présentant le principe de capture et de détection des différents isomères A $\beta$  au sein d'un même puits, à partir de kit MSD V-PLEX A $\beta$  peptide panel 1.

Chaque échantillon était déposé au fond de puits contenant une solution d'anticorps de détection, eux-mêmes conjugués à une étiquette électrochimoluminescente (MSD SULFO-TAG) se liant aux peptides A $\beta$ . Un courant électrique était alors appliqué aux électrodes de carbone, présentes au sein de la plaque, et entraînant une émission de lumière par les étiquettes SULFO-TAG. La lecture de la plaque permettait ensuite de mesurer l'intensité lumineuse émise de façon proportionnelle à la quantité de peptide A $\beta$  présent dans l'échantillon. Une fois la quantité de protéines totales et d'A $\beta$  déterminée, un ratio A $\beta$ /protéines totales a été calculé.

### 1. Coloration au Rouge Congo

Concernant le marquage des formes fibrillaires, une coloration au Rouge Congo - un colorant anionique se déposant au sein des fibrilles amyloïdes - a été réalisée.

#### a) Coloration

Les coupes de cerveau ont été rincées dans un tampon phosphate (PB 0,1M), montées sur des lames gélatinées et séchées à température ambiante pendant 3 jours. Les lames ont par la suite été plongées dans différents bains successifs. Le premier a permis une

réhydratation des coupes dans de l'eau déionisée (5min), avant une immersion dans de l'hématoxyline de Meyer (10min), permettant la coloration des noyaux cellulaire. Un rinçage à l'eau du robinet (5min) a alors été effectué avant l'alcalisation des coupes dans une solution alcoolique saturée en chlorure de sodium, contenant elle-même 1% d'hydroxyde de sodium (20min). La coloration des dépôts amyloïdes a été permise par une solution au rouge Congo (Merck, Kit Rouge Congo #HT60) - préalablement filtrée - contenant 1% d'hydroxyde de sodium (20min). Pour finir, les coupes ont été déshydratées par deux solutions d'éthanol à 100° et 90° (60sec), puis placées dans un bain contenant le milieu de rinçage (Rotihistol #6640.1, 7min). Les lamelles ont ensuite été montées sur les lames à l'aide du milieu de montage (ROTI®Histokitt #6638.1).

#### *b) Numérisation et analyses*

Une fois les lames scannées au centre CMABIO (Caen) à un grossissement x20 en lumière blanche, la région hippocampique a été délimitée sur chaque coupe à l'aide du logiciel QuPath®. Le nombre de plaque par région (en mm<sup>2</sup>) a été identifié grâce à un programme de comptage automatique développé par Dr. Nicolas Elie du CMABIO.

#### *C. Étude du profil inflammatoire et d'expression de la SR*

Afin d'étudier la présence d'astrocytes réactifs et l'expression de SR dans un contexte d'amyloïdogénèse accentuée 5xFAD, une immunofluorescence de la protéine « Glial fibrillary acidic protein » (GFAP), couplée au composé C3 et à l'enzyme SR, a été réalisée en collaboration avec l'équipe du Dr Darrick Balu (Harvard Medical School, McLean Hospital, USA).

Après un rinçage dans une solution de PBS (0,1M 3x5min), les coupes étaient placées dans une solution composée d'un agent bloquant (Santa Cruz Biotechnology, #sc-516214) et de triton (0,1%) pendant 1h à température ambiante, afin de minimiser les bruits de fond liés aux liaisons non spécifiques des anticorps. Les coupes ont ensuite été incubées avec les anticorps primaires : anti-SR, anti-GFAP et anti-C3 (mouse anti-SR au 1:200, Santa Cruz Biotechnology #sc-365217 ; rabbit anti-GFAP au 1:1000, Santa Cruz Biotechnology #sc-365217; goat anti-C3 au 1:150, Santa Cruz Biotechnology #sc-55463) toute la nuit à 4°C et toujours dans la solution

composé d'agent bloquant et de triton (0,1%). Une fois rincées (PBS 0,1M 3x5min), les coupes ont alors été incubées pendant 2h à température ambiante avec un anticorps de chaîne légère Kappa biotinylée de souris (Santa Cruz Biotechnology #sc-516142 ; 1:100) dans la solution de blocage +0,1% de Triton-100 pendant 2 heures. Les coupes ont ensuite été rincées dans du PBS 0,1M 3x5min, puis incubées avec les anticorps secondaires (Streptavidin Alexa Fluor 647 au 1:2500, Thermo Fisher #S21374 ; donkey anti-rabbit alexa 488 au 1:500, Thermo Fisher #A21206 ; donkey anti-goat alexa 568 au 1:500, Thermo Fisher #A11057) à température ambiante pendant 2h. Un rinçage au PSB (0,1M 3x5min) a ensuite été réalisé avant une incubation des coupes de cerveau avec un marqueur de noyaux cellulaires (Hoechst 33342 au 1:5000, Thermo Fisher #H3570), suivi d'un dernier rinçage au PSB (0,1M 3x5min) avant d'être montées sur lames et lamelles.

#### D. Détermination des taux d'acides aminés cérébraux par technique d'HPLC

La quantification des taux d'acides aminés a été réalisée pour les différents groupes expérimentaux en collaboration avec l'équipe du Pr. Herman Wolosker (Israël). Chaque animal a été euthanasié par dislocation cervicale, puis décapité dans le but de récupérer le cerveau et procéder à la dissection des hippocampes.

Chacun des deux hippocampes prélevés était déposé dans un tube eppendorf individualisé préalablement pesé à vide et dont le poids plein a été déterminé. Dans le but d'empêcher les protéases ou les enzymes de dénaturer les acides aminés étudiés, de l'acide trichloroacétique (TCA, Merck #T6399) a été ajouté dans chaque tube qui était ensuite congelé à l'azote liquide puis stocké à -80°C.

L'équipe du Dr. Herman Wolosker a déterminé les taux d'acides aminés, dont ceux de la D-sérine, avec une analyse par chromatographie liquide haute-performance (HPLC pour high-performance liquid chromatography) à partir du protocole initialement décrit par l'équipe du Pr. Hashimoto (1992), à la différence que l'aa D-adipique a été substitué à l'acide L-homocystéique comme standard interne.

## E. Enregistrements électrophysiologiques par dérivation extracellulaire

Les enregistrements électrophysiologiques par dérivation extracellulaire, ont permis d'étudier l'activité synaptique d'une population de neurones au sein de tranches fraîchement isolées. L'ensemble des enregistrements de ce manuscrit a concerné l'activité des réseaux neuronaux de l'aire CA1 de l'hippocampe.

### 1. Préparation des tranches d'hippocampe

A la suite d'une anesthésie par inhalation d'Isflurane 5% dans un mélange gazeux d'O<sub>2</sub> et N<sub>2</sub>O (ratio 30/70%), chaque animal a été mis à mort par dislocation cervicale et décapité. Une fois extrait de sa boîte crânienne, le cerveau était déposé rapidement dans une solution de liquide céphalo-rachidien artificiel (aCSF : artificial cerebrospinal fluid) porté à 4°C dans le but de ralentir les processus de dégradation des tissus.

L'aCSF a été préparé à partir d'une solution mère, préparée en amont, avec la composition suivante : NaCl 124mM, KCL 3,5mM, MgSO<sub>4</sub> 1,5mM, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1,2mM et CaCl<sub>2</sub> 2,5mM. Juste avant la dissection, cette solution mère a été diluée (1/10<sup>ème</sup>) et du D-glucose (11mM) et du bicarbonate de sodium (NaHCO<sub>3</sub>, 26,2mM) y ont été ajoutés. Cette solution fille a ensuite été équilibrée à un pH de 7,4 par oxygénation avec du carbogène (mélange 95% O<sub>2</sub> et 5% CO<sub>2</sub>).

Chaque hémisphère hippocampique a ensuite été disséqué et isolé avant d'être préparé sous forme de tranches de 400µm d'épaisseur obtenues selon un plan transversal à l'aide d'un « tissue chopper » (Mc Ilwain®). Chaque tranche hippocampique recueillie était déposée dans un bécher reposant lui-même dans un bain-marie rempli d'aCSF oxygéné et maintenu à 28-30°C. Ces tranches étaient ensuite laissées au repos (minimum 1h), temps nécessaire pour permettre la reprise progressive des réactions biochimiques tissulaires. Une fois ce délai passé, une tranche était déposée délicatement au centre d'une cuve d'enregistrement, comme présenté dans la description du dispositif expérimental.

### 2. Dispositif expérimental

Le dispositif expérimental d'électrophysiologie extracellulaire (Figure 15) était composé de différents éléments permettant : le maintien des coupes hippocampiques dans

des conditions optimales, la stimulation électrique des fibres afférentes et l'enregistrement de potentiels de champs et l'analyse des signaux reçus.

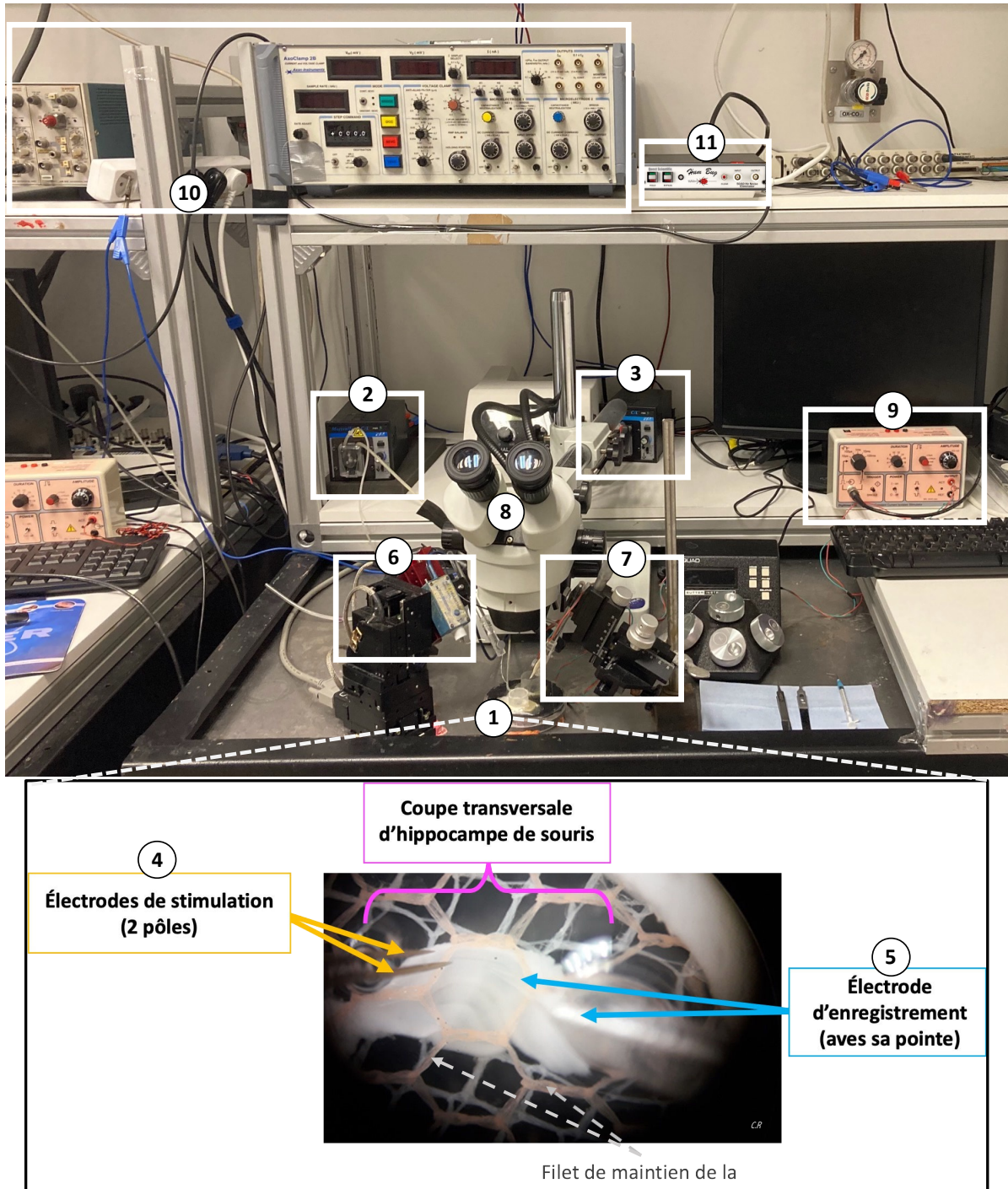


Figure 15 : Photographie du dispositif d'électrophysiologie ex vivo extracellulaire montrant les différents éléments nécessaires à l'enregistrement du signal.

La table d'expérimentation était reliée à un système de masses permettant de filtrer les interférences extérieures liées au rayonnement 50Hz contaminant.

La coupe de cerveau était disposée au centre d'une cuve d'enregistrement (1,5cm de diamètre sur 1,3cm de haut, Figure 15.2) où elle était maintenue entre deux filets en nylon et continuellement perfusée avec de l'aCSF oxygéné grâce à une pompe péristaltique (Fisher POMPE C/L 80 T/MIN 115/230V, Figure 15.2). La cuve d'enregistrement était reliée à une deuxième cuve juste en arrière de la première par un canal interne où était récupéré l'aCSF circulant grâce à une seconde pompe (Figure 15.3), ceci permettant d'obtenir un circuit fermé de perfusion d'aCSF et oxygéné à un débit  $\pm 2\text{ml/min}$  maintenu à température ambiante. Deux électrodes étaient alors introduites dans la tranche qui permettaient la stimulation et l'enregistrement des signaux :

- Une électrode de stimulation bipolaire en acier (PHYMEP®, UESMGESKNNM,  $\sim 10\text{M}\Omega$ ) (Figure 15.4). L'un des pôles était positionné au niveau des collatérales de Schaeffer constituées par les axones récurrents des cellules pyramidales du champ CA3, tandis que l'autre était situé juste au-dessus, dans le bain d'aCSF.
- La seconde électrode (Figure 15.5) correspondait à une microélectrode d'enregistrement en borosilicate (PHYMEP®, 30-0057 GC-150F-10,  $\sim 5\text{M}\Omega$ ), obtenues à partir d'un capillaire et mise en forme à l'aide d'une étireuse (Narishige®, PB7). Elle était remplie de NaCl 2M indispensable pour que le circuit d'enregistrement puisse repérer les modifications de potentiel. L'électrode d'enregistrement était positionnée dans la couche *stratum radiatum* de l'aire CA1, là où se localisent les arbres dendritiques des neurones pyramidaux.

Deux micromanipulateurs encadraient la cuve d'enregistrement : le premier (World Precision Instruments®, MM3301, Figure 15.6) à descente manuelle supportait l'électrode de stimulation et l'autre (QUAD®, Figure 15.7) portait l'électrode d'enregistrement dont la descente dans la tranche pouvait être contrôlée au dixième de microns près. Une loupe binoculaire - au grossissement  $\times 10$  - était placée au-dessus de la cuve d'enregistrement de façon à bien visualiser la coupe et contrôler l'emplacement des électrodes (Figure 15.8).

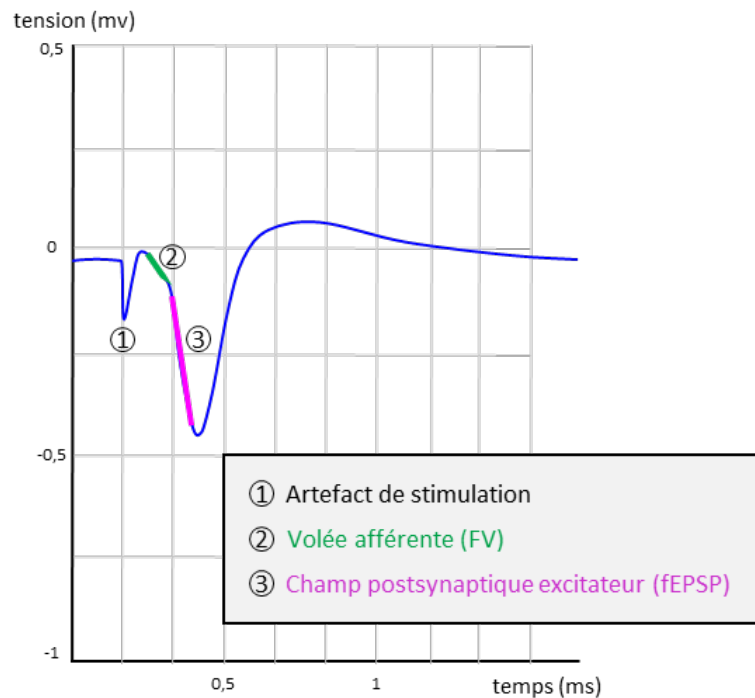
En vue de produire des stimuli électriques à l'intensité désirée, l'électrode de stimulation était raccordée à une boîte de stimulation (Digitimer® Ltd DS3, Figure 15.9). De son côté, l'électrode d'enregistrement était reliée à une tête de mesure (Axon Instruments®, HS-2) via un filament d'argent. Le signal passait ensuite par un système de filtres passe haut/passe bas et d'amplification du signal (Tektronix®, AM502, Figure 15.10). Ce premier traitement était suivi



par un second assuré par un filtre humbug (Questscientific®) permettant de supprimer les signaux 50Hz internes produits par les appareils électriques du dispositif d'enregistrement (Figure 15.11). Le signal était enfin digitalisé pour être reconnu et traité par le logiciel d'analyse WinLTP®, version 2.30 (Anderson & Collingridge, 2001) préalablement installé sur un ordinateur.

### 3. Enregistrements des potentiels de champs par dérivation extracellulaire

À la suite de la stimulation électrique des collatérales de Schaeffer, différentes composantes successives pouvaient être enregistrées au niveau du *stratum radiatum* (Figure 16). Une première déflexion négative correspondait à l'artéfact de stimulation, visualisant l'application du stimulus. Une seconde représentait la « volée afférente » (FV pour fiber volley), dont la mesure de pente représentait la proportion de fibres présynaptiques activées. Le tracé faisait ensuite apparaître une troisième composante qualifiée de potentiel de champ postsynaptique excitateur (fEPSP pour field Excitatory post-synaptic potential).



**Figure 16 :** Schéma représentant les trois composantes du signal enregistrées au niveau du *stratum radiatum* de l'aire CA1 en réponse à la stimulation des collatérales de Schaeffer : 1) artéfact de stimulation, 2) volée afférente (FV pour fiber volley), 3) champ postsynaptique excitateur (fEPSP pour field excitatory post-synaptic potential).

Cette réponse représente la modification ionique du milieu extracellulaire en réponse à la mise en jeu d'un réseau cellulaire, incluant la dépolarisation des cellules pyramidales, ainsi que l'activation des interneurons inhibiteurs et des cellules gliales. Son amplitude a été proposée comme étant une fonction du produit de 3 paramètres : le nombre de sites de libération du neurotransmetteur, la probabilité de libération du neurotransmetteur, et l'amplitude de la réponse de l'unité postsynaptique à chaque site de libération.

#### 4. Application d'agents pharmacologiques

L'application d'agents pharmacologiques était réalisée directement dans un bain d'aCSF à la concentration désirée suivant un circuit de perfusion spécifique à chaque drogue. Un intervalle de 15min était systématiquement respecté entre l'arrivée de l'agent dans la cuve d'enregistrement et le début des mesures dans le but de permettre une diffusion optimale dans les tissus. L'ensemble des agents pharmacologiques appliqués dans ce projet provenait de chez Tocris : D-sérine (#0226), NBQX ou 2,3-dioxo-6-nitro-7-sulfamoyl-benzo[f]quinoxaline : antagoniste des récepteurs AMPA (#1044), Bicuculline : antagoniste compétitif des récepteurs GABA<sub>A</sub> (#2503). L'enzyme recombinante D-sérine désaminase de *Escherichia coli* purifiée (DsdA, Shleper *et al.*, 2005) a également été utilisée pour éliminer la D-sérine des tranches d'hippocampe et qui est au moins trois fois plus efficace que la DAAO pour éliminer la D-sérine.

#### 5. Protocoles de stimulation

##### a) *Étude de la transmission synaptique basale*

Dans un premier temps, l'efficacité de la transmission synaptique de base a été évaluée en établissant une courbe d'entrée/sortie (courbe I/O pour « input/output »). Dans ce cadre, les stimulations étaient délivrées à basse fréquence (toutes les 10sec) à partir d'une gamme de stimuli allant de 100µA à 500µA, par incrément de 100µA. Pour chaque intensité, la pente respective de la FV et du fEPSP était déterminée après le moyennage de 3 traces réalisé par le logiciel WinLTP. Une mesure du rapport fEPSP/FV a été utilisé comme indice d'efficacité synaptique.

### b) Étude de l'activation isolée des récepteurs NMDA

De façon similaire au protocole de la transmission de base, l'activation synaptique des NMDA-R a été isolée et évaluée à basse fréquence en réalisant des courbes I/O. Dans ce cas cependant, les réponses étaient enregistrées dans un bain d'aCSF appauvri en  $Mg^{2+}$  (0,1mM), permettant la levée du blocage des NMDA-R exercé normalement par ces ions. De plus, l'antagoniste NBQX (10 $\mu$ M) était également présent afin de bloquer l'activité des récepteurs non NMDA-R (AMPA et kainate).

### c) Étude de la plasticité synaptique

Deux formes de plasticités fonctionnelles ont été évaluées dans ce travail : une plasticité à court terme, la paired-pulse facilitation et une plasticité à long-terme, la potentialisation à long terme.

#### (1) Paired-pulse facilitation (PPF)

La « Paired-Pulse Facilitation », ou PPF, est une plasticité mettant en jeu l'élément présynaptique lorsque deux stimulations de même intensité sont appliquées successivement dans un intervalle de temps très rapproché (entre 10ms et 1sec). Ce protocole entraîne généralement une augmentation de la pente du second fEPSP (Figure 17), correspondant à une libération accrue de glutamate par l'élément présynaptique (Asztely *et al.*, 1996).

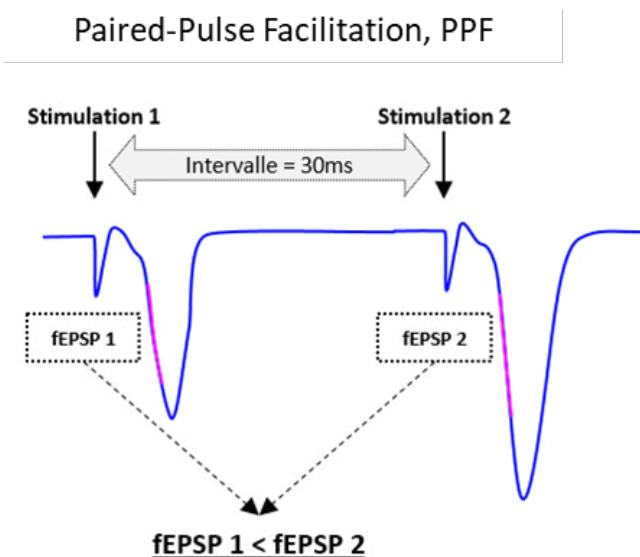
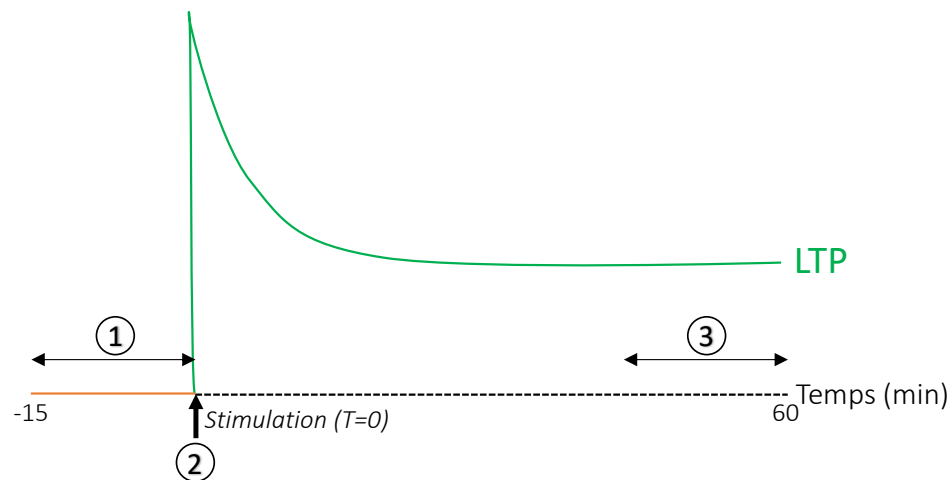


Figure 17 : Schéma illustrant la Paired-Pulse facilitation (PPF).

Cette augmentation est mesurée par un rapport ( $>1$ ) de la pente du second fEPSP sur la pente du premier. Le protocole utilisé dans ces travaux de thèse s'est focalisé sur un intervalle de 30ms qui a été montré précédemment par l'équipe comme intervalle donnant une PPF optimale.

## (2) Long-term potentiation (LTP)

La méthodologie permettant l'étude de la LTP – dont le principe a été présentée dans l'encadré 2 – peut être décomposée en trois parties (Figure 18)



**Figure 18 :** Schéma représentant le principal général des différentes composantes de la potentialisation à long terme (LTP). 1) ligne de base stabilisée lors des 15 minutes précédant la stimulation 2) stimulation conditionnante HFS (1sec x 100Hz) 3) période d'analyse de la plasticité à long-terme dont l'amplitude est mesurée sur les 15 dernière minutes de l'expérience.

Dans la première (Figure 18.1), une ligne de base est recherchée par l'obtention de fEPSPs induits toutes les 10sec et moyennés sur 2 intervalles (30sec), fEPSP qui devait présenter une pente stable pendant 15min. Dans ce travail, l'intensité de stimulation était alors ajustée dans chaque tranche pour enregistrer un fEPSP avec une valeur de pente autour de -0.1mV/ms.

La seconde phase (Figure 18.2) correspond à l'application de la stimulation conditionnante dont les caractéristiques diffèrent également selon le type de plasticité étudié. Dans ce travail, un protocole de stimulation brève et à haute fréquence HFS (high frequency stimulation, Park *et al.*, 2014), correspondant à une stimulation à 100Hz pendant 1sec, a été appliqué pour la LTP.

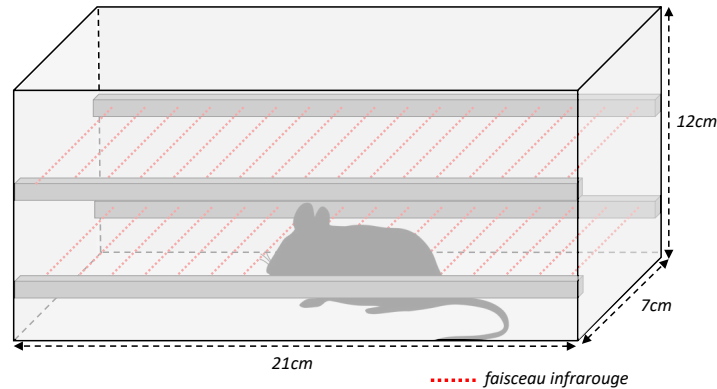
La troisième et dernière phase (Figure 18.3) consiste en l'enregistrement des fEPSPs suivant le même protocole que celui utilisé pour la ligne de base mais pendant une durée de 60min afin de déterminer l'évolution de la réponse sur le long terme. Le niveau de plasticité est alors déterminé en comparant la valeur de la pente du fEPSP post-tétanique à la valeur moyenne calculée sur l'ensemble de la ligne de base

## F. Étude comportementale

De manière à évaluer l'implication de la D-sérine dans les déficits cognitifs retrouvés dans un contexte d'amyloïdogénèse, différents tests comportementaux ont été réalisés. Après leur arrivée et avant le passage en tests, les animaux utilisés ont été manipulés quotidiennement par le même expérimentateur sur une période allant de 1 à 2 semaines. Les cages ont été placées dans la salle de test 30min avant le début de chaque expérimentation et les dispositifs expérimentaux ont été nettoyés avec une solution d'éthanol (70%) entre le passage de chaque souris. L'ensemble de ces mesures avait pour but de minimiser le stress dû à la manipulation, au changement d'environnement ainsi qu'à l'odeur de la personne ou de l'animal précédent.

### 1. Évaluation de l'activité locomotrice spontanée

Le test d'actimétrie (Boissier & Simon, 1965) a permis d'évaluer l'activité locomotrice spontanée et individuelle des souris. Le dispositif utilisé était une boîte d'actimétrie (IMETRONIC®), correspondant à une cage en Plexiglas (19cm x 11cm x 14cm, Olux) munie de faisceaux infrarouges parallèles (Figure 19) dans laquelle chaque animal pouvait se mouvoir. Les interruptions des faisceaux par les souris en mouvement étaient alors captées par des cellules photoélectriques et enregistrées par l'intermédiaire d'un système automatisé déterminant ainsi l'activité locomotrice de chaque animal.



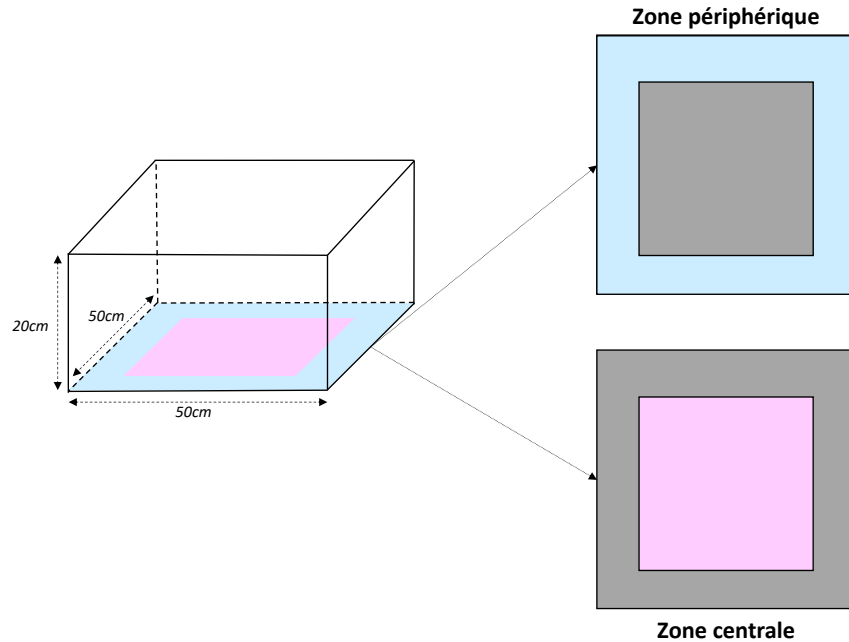
*Figure 19 : Schéma de la cage d'actimétrie munie des faisceaux infrarouges parallèles.*

Chaque souris était déposée dans la cage et avait 30min pour explorer librement son environnement. L'enregistrement de l'interruption des faisceaux et son traitement permettait d'avoir accès à plusieurs variables, à savoir : l'activité en avant, l'activité en arrière, le nombre de va et vient – l'ensemble de ces trois mesures correspondant à l'activité horizontale – et le nombre de redressement, correspondant à l'activité verticale.

## 2. Évaluation des comportements liés à l'anxiété

### a) Openfield

Le test de l'openfield (Seibenhener & Wooten, 2015) a été réalisé à partir d'une enceinte carrée (Figure 20). L'observation de l'animal en situation libre permet d'obtenir des informations sur son niveau d'anxiété, car il est mis dans une situation de choix : d'un côté l'aversion naturelle pour les zones découvertes (les exposant à leur prédateur) et de l'autre, la préférence à explorer activement un nouvel environnement (néophilie). L'openfield a donc été délimité virtuellement en une zone centrale et périphérique. Les animaux passant le plus de temps dans la région centrale étaient considérés comme moins craintifs (ou de type "anxieux") que ceux préférant l'espace périphérique. Par ailleurs, afin d'optimiser le comportement exploratoire des animaux, les expérimentations ont été réalisées en obscurité totale (0lux). Le tracking de chaque vidéo enregistrée (Ethovision ; Noldus®, version 15) a été permis par le planché infrarouge de l'openfield.



**Figure 20 :** Schéma du dispositif de l'openfield et des zones centrale et périphérique, délimitées virtuellement.

La déambulation de chaque souris dans l'openfield a été suivie pendant 30min, après avoir été introduite dans la zone périphérique, nez à la paroi. L'analyse des résultats obtenus s'est concentrée sur le temps passé et la distance parcourue dans chacune des zones. Le temps et le pourcentage de distance parcourue dans la zone centrale sont considérés comme les index principaux reflétant les comportements liés à l'anxiété dans ce test.

#### *b) Boîte noire et blanche*

Le dispositif utilisé (BIOSEB® LETICA 810) était composé de deux compartiments communicants (Figure 21). Une lampe a été placée au-dessus du compartiment blanc de façon à présenter à ce niveau une luminosité importante de 1700lux alors qu'une lampe à lumière rouge – n'appartenant pas au domaine du visible des souris – a été placée au-dessus du compartiment noir, maintenant une obscurité importante dans ce compartiment (340lux).

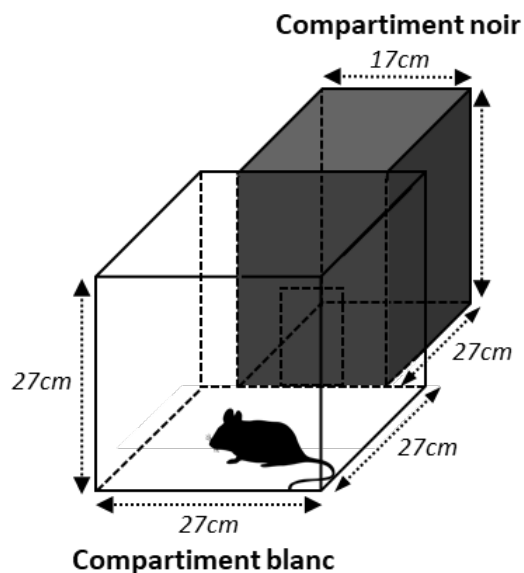


Figure 21 : Schéma du dispositif de la boîte noire et blanche.

Le protocole débutait en déposant l'animal au centre du compartiment blanc. Il avait ensuite 2min pour entrer dans le compartiment noir, sans quoi il était retiré du dispositif et exclu de l'expérience. Les souris passant ce critère avaient alors 5min pour explorer librement les deux compartiments (Lelong-Boulouard *et al.*, 2006) avant d'être remis dans leur cage avec leurs congénères.

Plusieurs variables ont été relevées manuellement : la latence du premier passage du compartiment blanc au noir, le nombre de transition entre les deux espaces, le nombre de redressement et le temps passé dans chaque compartiment. Cette dernière est d'ailleurs considérée comme l'index principal lié à l'anxiété de ce test. Une diminution du temps passé dans le compartiment blanc/aversif et augmenté dans le compartiment noir, reflétait une augmentation d'un comportement de type anxieux et inversement.

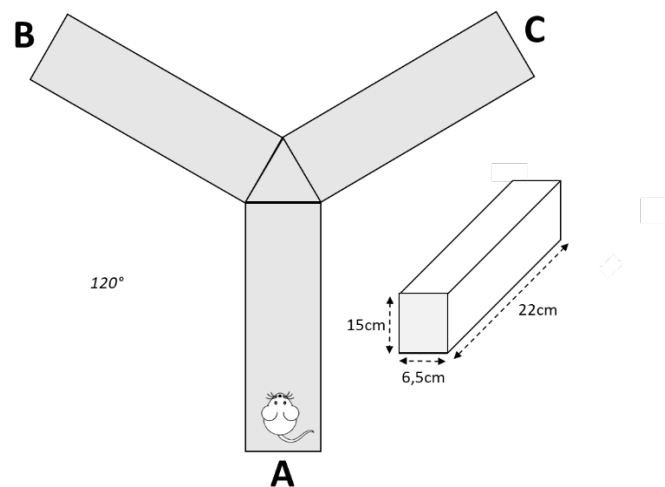
### 3. Évaluation des performances mnésiques

#### a) Alternance spontanée

Le dispositif du labyrinthe en Y (Anisman, 1975) est couramment utilisé pour déterminer les performances de mémoire de travail immédiate à composante spatiale, en se basant sur le comportement dit « d'alternance spontanée » inné des rongeurs. Le labyrinthe



utilisé dans cette étude était constitué de 3 bras en plexiglas (A, B et C) de taille égale (Figure 22) avec une luminosité de 48lux appliquée au centre du dispositif et de 28lux au bout de chaque bras. Les deux intensités correspondent à des luminosités très faibles pour maximiser l'exploration de l'animal. Aucun indice permettant de discriminer les différents bras n'a été placé dans le labyrinthe mais des indices visuels distaux (posters) étaient disposés sur les murs de la salle de test.



*Figure 22 : Schéma du dispositif du labyrinthe en Y utilisé pour le test de l'alternance spontanée.*

La session débutait en plaçant une souris à l'extrémité périphérique d'un des bras et qui avait alors 8min pour explorer librement le labyrinthe. Plusieurs variables ont été mesurées manuellement, à savoir : l'identité du bras lors de chaque entrée (A/B/C), le nombre total d'entrées et le nombre de redressements. Une entrée était prise en compte seulement lorsque les quatre membres de la souris étaient à l'intérieur d'un bras. Une alternance était définie comme une entrée consécutive dans les trois bras différents, quelque que soit l'ordre (ABC, BAC...). Une souris avec une mémoire de travail intacte, se souvenait des bras précédemment visités et allait dans un bras exploré plus anciennement. Après avoir comptabilisé le nombre total d'alternances réalisées, les capacités de mémoire de travail immédiate de chaque souris ont été déterminées en calculant le pourcentage d'alternance ((nombre d'alternances/nombre théorique maximal d'alternances) x 100). Ce rapport représentait l'index de mémorisation qui était alors comparé à la valeur du hasard de 50%. Un

pourcentage d'alternance spontanée inférieur à 50% reflétait par conséquent une altération de la mémoire de travail immédiate.

b) *Labyrinthe aquatique de Morris*

(1) *Principe et dispositif*

Le labyrinthe aquatique de Morris ou « Morris water maze » (MWM) permet l'évaluation de différentes fonctions cognitives impliquant une composante spatiale (Morris, 1981). Il utilise un paradigme évaluant la capacité des animaux à se construire une représentation mentale de leur environnement. L'objectif est de faire apprendre aux souris l'emplacement fixe d'une plateforme (PF), toujours située à la même place mais invisible de la surface et représentant l'échappatoire au séjour dans de l'eau fraîche.

Le dispositif utilisé correspondait à une enceinte circulaire en chlorure de polyvinyle (PVC), remplie d'eau et virtuellement divisée en quatre quadrants (Figure 23). Au sein de l'un des quadrants était placée une plateforme immergée invisible pour les souris évoluant à la surface de l'eau grâce à l'ajout d'un opacifiant. La température de l'eau était maintenue à 21°C afin de motiver l'animal à réaliser la tâche. Des indices visuels spatiaux distaux étaient placés sur les murs entourant la piscine, permettant à l'animal de se repérer pour localiser la plateforme.

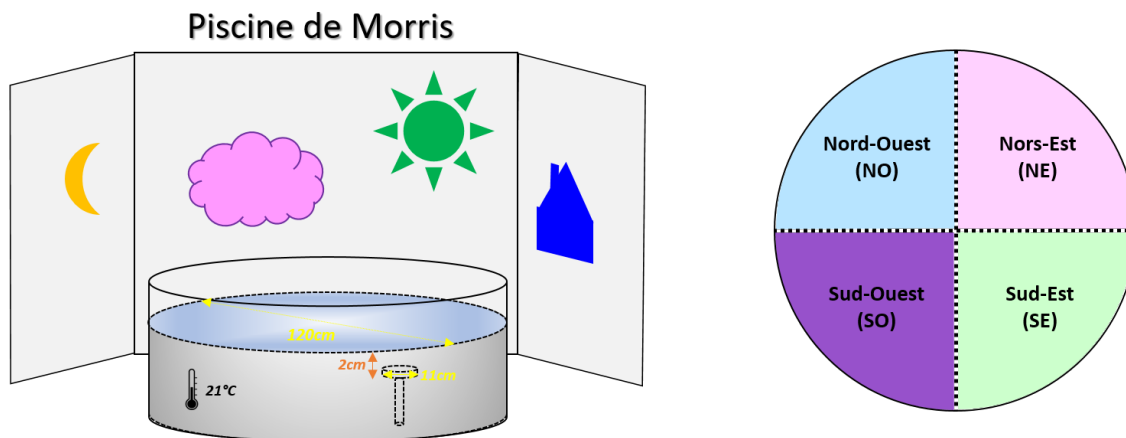
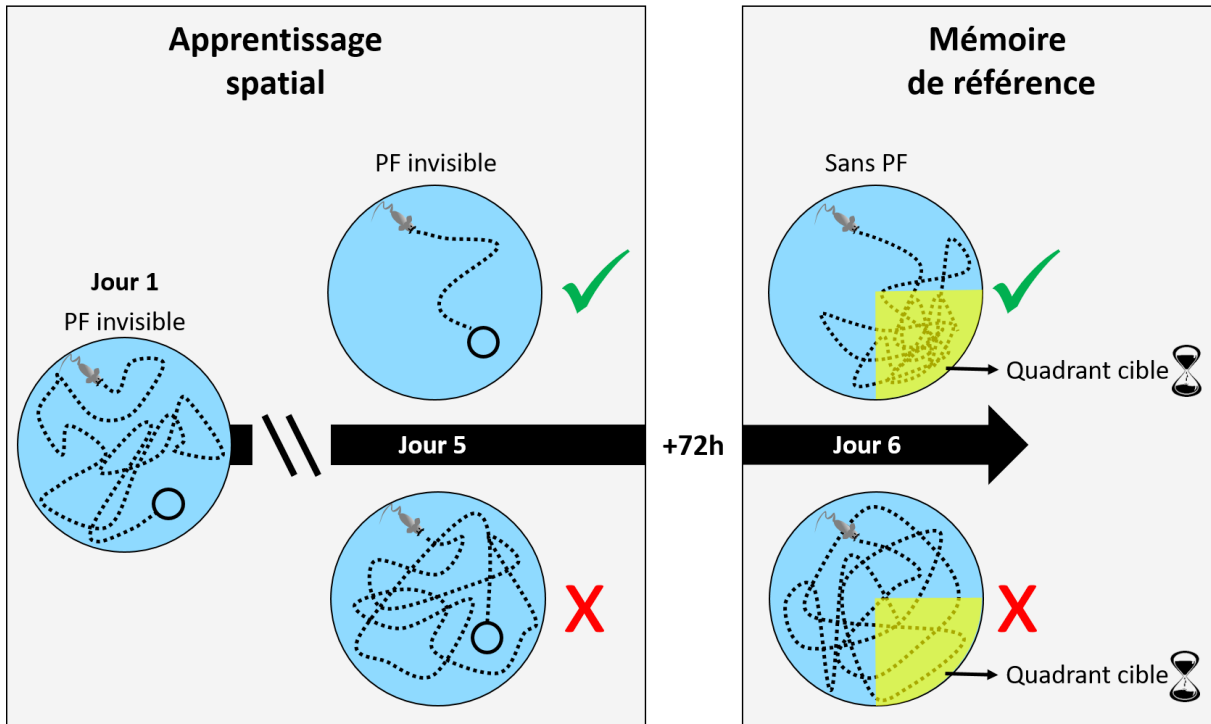


Figure 23 : Dispositif de la Piscine de Morris et de la séparation virtuelle en 4 quadrants.

Ce test a permis par la répétition des séances lors de l'entraînement (Figure 24), d'évaluer l'apprentissage spatial mais également la mémoire de référence, c'est-à-dire de mémoriser l'emplacement de la PF au sein de l'environnement de l'animal.



*Figure 24 : Représentation schématique de l'apprentissage spatial et la mémoire de référence dans le MWM selon le protocole utilisé dans cette étude.*

L'apprentissage se reflétait par une diminution progressive du temps ou de la distance d'accès à la PF à la suite de la répétition journaliers des essais. Quant à la mémoire de référence, elle a été évaluée après la phase d'apprentissage dans une session où la PF était retirée et où le temps de nage ou la distance parcourue dans le quadrant renfermant initialement la PF était déterminé.

## (2) Protocoles

Le MWM a été utilisé dans un premier temps avec un protocole composé d'une étape d'apprentissage spatial ou « spatial learning », suivi d'un test de mémoire de référence ou « reference memory ».

L'apprentissage était réalisé sur 5 jours, à raison de 4 essais par jour avec 60sec de délai entre chaque essai, la PF étant localisée au centre du quadrant NE. L'animal était alors placé dos à la paroi du centre de l'un des quatre quadrants virtuels et les points de lâcher étaient randomisés à la fois au cours des différents essais et des cinq jours. La souris était déposée délicatement dans l'eau et disposait d'un délai de 60sec pour rejoindre la PF ; auquel cas l'expérimentateur le guidait pour qu'elle l'atteigne en nageant. Une fois sur la PF, la souris y était laissée pendant 20sec avant d'être récupérée et de débiter l'essai suivant.

Le test évaluant la mémoire de référence, appelé « probe-test 1 », a été réalisé 72h après le cinquième et dernier jour d'apprentissage. Pour cela, la PF était retirée du dispositif où chaque souris réalisait un passage unique de 60sec après avoir été déposée au centre du quadrant SO, dos à la paroi.

Dans un deuxième temps, afin d'évaluer deux composantes liées à la flexibilité cognitive, un protocole d'apprentissage inversé ou « reversal learning » a été réalisé, suivi d'une seconde évaluation de la mémoire de référence appelée « reversal reference memory ».

Ce second apprentissage a débuté le jour suivant celui du probe-test 1 en déplaçant la PF au centre du quadrant SO, opposé à celui du NE du premier apprentissage. De la même façon que ce dernier, l'apprentissage inversé a été réalisé sur 5 jours à raison de 4 essais quotidiens et 60sec de délai entre chaque essai. Les points de lâcher ont été randomisés et se faisaient dos à la paroi au centre de l'un des quatre quadrants virtuels. Un délai de 60sec était une nouvelle fois fixé pour atteindre la PF, auquel cas la souris était guidée jusqu'à la plateforme et y était laissée pendant 20sec avant d'être récupérée et de débiter l'essai suivant.

La mémoire de référence liée au « reversal learning » a été testée lors d'un « probe-test 2 » 72h après le dernier jour du second apprentissage. Tout comme le premier, la plateforme a été retirée du dispositif et un passage unique de 60sec a été réalisée par chaque souris, déposée dos à la paroi au centre du quadrant SO.

### (3) Analyses

Une caméra reliée à un ordinateur était placée au-dessus du centre de la piscine, de manière à pister la souris dans son environnement et mesurer différents paramètres à l'aide du logiciel Ethovision, Noldus®. La vitesse de nage, la distance et le temps passé dans l'arène ou les différents quadrants virtuels ; la latence à rejoindre la plateforme ont été enregistrés et/ou mesurés afin d'évaluer les performances des animaux.

#### G. Analyses statistiques

L'ensemble des données a été traité à l'aide des logiciels : GraphPad-Prism®8.0 (GraphPad Software, San Diego, CA, USA). Après l'évaluation de la normalité des données et l'homogénéité de variance, des tests paramétriques - t-test non apparié/apparié, ANOVA à un ou plusieurs facteurs (avec mesures répétées ou non) ou des tests non-paramétriques - test de Wilcoxon, Mann-Whitney ou Kruskal-Wallis - ont été utilisés en conséquence avec les comparaisons multiples associées. L'ANOVA une voie a été réalisée avec correction de Welch. Les tests utilisés pour chaque protocole ont directement été mentionnés dans les résultats correspondants. Pour l'ensemble des cas, les différences ont été considérées comme significatives lorsque  $P < 0,05$ .



## RESULTATS





### III. Résultats

#### A. Article 1 :

## Serine Racemase Deletion Affects the Excitatory/Inhibitory Balance of the Hippocampal CA1 Network

**Eva Ploux**, Valentine Bouet, Inna Radzishovsky, Herman Wolosker, Thomas Freret and Jean-Marie Billard. International Journal of Molecular Sciences (IJMS), MDPI, 2020, 21.

La première partie de ce projet de thèse a été de réaliser en préalable une meilleure caractérisation des souris SR-KO (par comparaison avec les souris contrôles, sauvages) ; et ceci afin de s'assurer que l'absence de D-sérine n'induisait pas en elle-même de modifications importantes tant au niveau comportemental que fonctionnel. Les résultats de ce travail présentés ci-dessous ont fait l'objet d'une publication dans le journal international MDPI (International Journal of Molecular Sciences) en 2020. En accord avec la littérature, aucune modification majeure n'a été observée dans ce modèle d'étude. Seule une atteinte limitée de la balance excitation/inhibition a été rapportée ainsi qu'une augmentation des taux de glycine, probablement mécanismes compensatoires à la perte de D-sérine et qui ne sont pas retrouvés chez les souris 5xFAD/SR-KO.



Article

# Serine Racemase Deletion Affects the Excitatory/Inhibitory Balance of the Hippocampal CA1 Network

Eva Ploux <sup>1</sup>, Valentine Bouët <sup>1</sup> , Inna Radzishovsky <sup>2</sup>, Herman Wolosker <sup>2</sup>, Thomas Freret <sup>1</sup>   
and Jean-Marie Billard <sup>1,\*</sup> 

<sup>1</sup> UNICAEN, INSERM, COMETE, Cyceron, CHU Caen, Normandie University, 14000 Caen, France; eva.ploux@unicaen.fr (E.P.); valentine.bouet@unicaen.fr (V.B.); thomas.freret@unicaen.fr (T.F.)

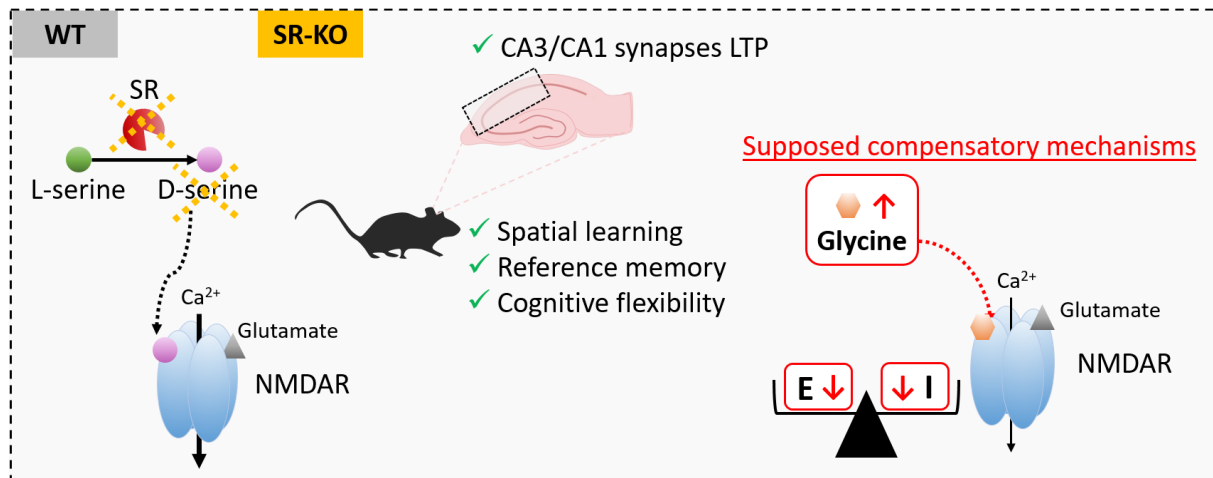
<sup>2</sup> Department of Biochemistry, Technion-Israel Institute of Technology, Rappaport Faculty of Medicine, Haifa 31096, Israel; vinna@technion.ac.il (I.R.); hwoloske@technion.ac.il (H.W.)

\*Correspondence: jean-marie.billard@inserm.fr; Tel.: +33-2-31-56-68-76; Fax: +33-2-31-56-82-19



Received: 4 November 2020; Accepted: 10 December 2020; Published: 11 December 2020

**Abstract:** d-serine is the major co-agonist of N-methyl-D-aspartate receptors (NMDAR) at CA3/CA1 hippocampal synapses, the activation of which drives long-term potentiation (LTP). The use of mice with targeted deletion of the serine racemase (SR) enzyme has been an important tool to uncover the physiological and pathological roles of D-serine. To date, some uncertainties remain regarding the direction of LTP changes in SR-knockout (SR-KO) mice, possibly reflecting differences in inhibitory GABAergic tone in the experimental paradigms used in the different studies. On the one hand, our extracellular recordings in hippocampal slices show that neither isolated NMDAR synaptic potentials nor LTP were altered in SR-KO mice. This was associated with a compensatory increase in hippocampal levels of glycine, another physiologic NMDAR co-agonist. SR-KO mice displayed no deficits in spatial learning, reference memory and cognitive flexibility. On the other hand, SR-KO mice showed a weaker LTP and a lower increase in NMDAR potentials compared to controls when GABA<sub>A</sub> receptors were pharmacologically blocked. Our results indicate that depletion of endogenous D-serine caused a reduced inhibitory activity in CA1 hippocampal networks, altering the excitatory/inhibitory balance, which contributes to preserve functional plasticity at synapses and to maintain related cognitive abilities.



**Keywords:** D-serine; hippocampus; NMDA receptors; excitatory/inhibitory balance; synaptic plasticity; memory

## I. 1. Introduction

D-serine is present at substantial levels in several brain areas, including the hippocampus [1–5], where it plays a major role in brain synaptic plasticity mechanisms involved in cognitive processes (reviewed in [6]). Experiments with brain slices perfused with the degrading enzymes d-amino acid oxidase or d-serine deaminase first uncovered the role of d-serine as the main co-agonist of the N-methyl-D-aspartate (NMDAR) subtype of glutamate receptors at the CA3/CA1 hippocampal synapses [7–11]. The NMDAR activation is the necessary step for the expression of functional plasticity in neuronal networks such as long-term potentiation (LTP) of synaptic transmission, a process involved in learning and memory [12–17]. In parallel, the role of d-serine was also investigated in brain slices from knockout mice with genetic deletion of the synthesizing enzyme serine racemase (SR) that converts L- into d-serine [18–21]. Genetic manipulations consisted of either the mutation of the SR gene in exon 9 (*Srr*<sup>Y269\*</sup> mice, [22]) or the total deletion of exon 1 (SR-KO mice, [23,24]); both strategies reducing brain d-serine levels by at least 90%. Although several behavioral and electrophysiological changes have been reported in these transgenic mice (see [25]), a definitive picture is yet to emerge, presumably due to different experimental conditions employed. For example, there is an apparent discrepancy regarding changes in synaptic plasticity and NMDAR activation at CA3/CA1 hippocampal synapses. On one hand, studies of isolated excitatory glutamate transmission on CA1 pyramidal cells reported LTP deficits and altered NMDAR activation in slices from SR-KO mice [23,26,27]. On the other hand, extracellular recordings that monitor the overall network activity did not show differences in LTP [10,28]. We wondered if differences in the excitatory/inhibition (E/I) balance may underlie these apparent

discrepancies. In order to investigate this possibility, we reinvestigated LTP expression and NMDAR synaptic activity with extracellular recordings in CA1 hippocampal networks of SR-KO mice before and after the alteration of the GABAergic inhibitory tone by the GABAR antagonist bicuculline. We found that SR deletion attenuates the inhibitory tone, which helps to preserve overall network activity and behavior.

## **2. Results**

### *2.1. Cognitive Abilities Are Preserved in SR-KO Mice*

Changes in locomotor activity (especially when considering transgenic animals) can deeply influence behavioral performances and generate bias of analyses and as such have to be controlled. Fortunately, the actimetry test did not reveal any difference in horizontal and vertical activities (traveled length and number of rearing) between the two genotype of mice groups (Figure 1A, B).

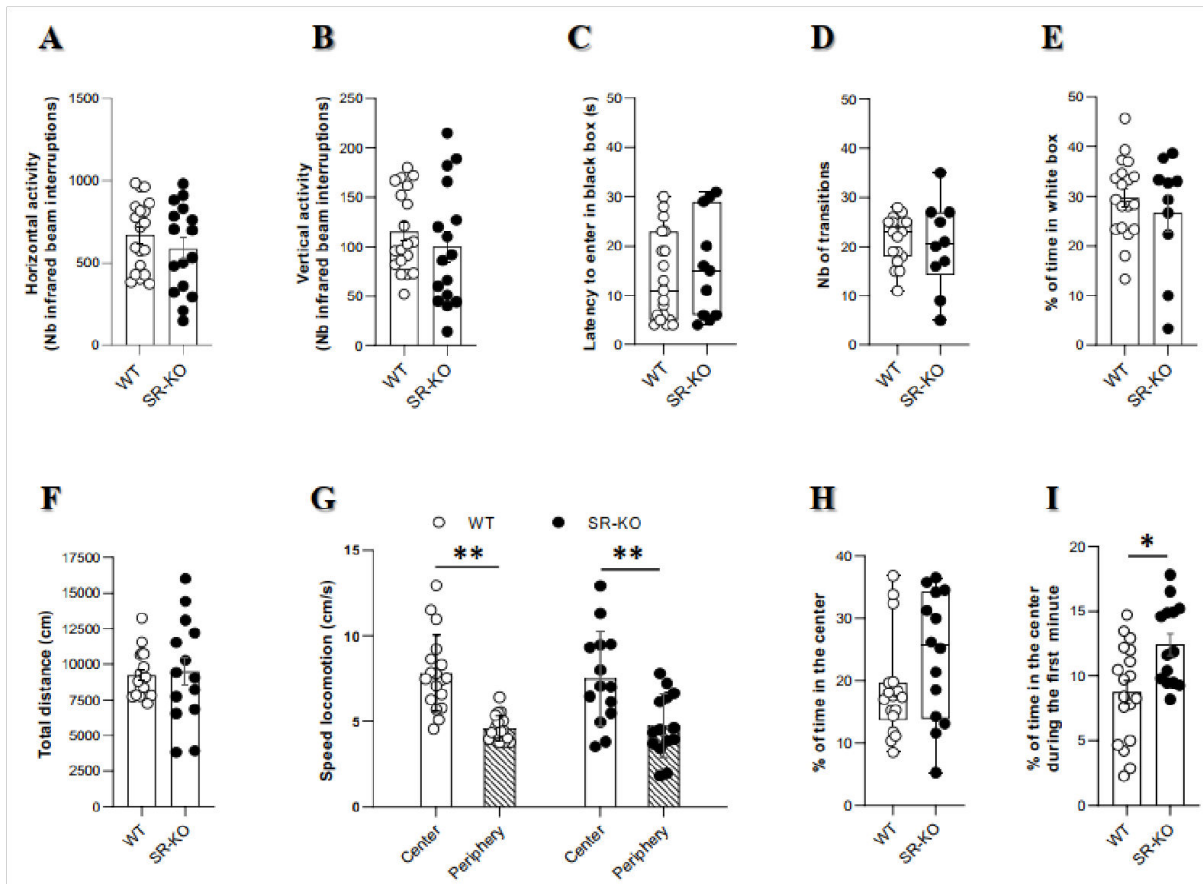
Besides, exploratory behavior appeared also unaltered in SR-KO mice. Indeed, we did not observe any between genotype differences, either for the number of transitions in the white and black box (Figure 1D) or the total traveled distance in the open field (Figure 1F).

Anxiety-related behavior was also assessed in the two genotype lines of mice. Thus, we did not show any group difference, as testified either by a similar latency to first entry into the black box (Figure 1C), the percentage of time spent in the white compartment (Figure 1E), or the percentage of time spent in the central zone of the open-field (Figure 1H). Thus, these results suggest similar anxiety-related levels between WT and SR-KO mice.

Unexpectedly, the percentage of time spent in the center during the first one minute was significantly higher in SR-KO mice (Figure 1I).

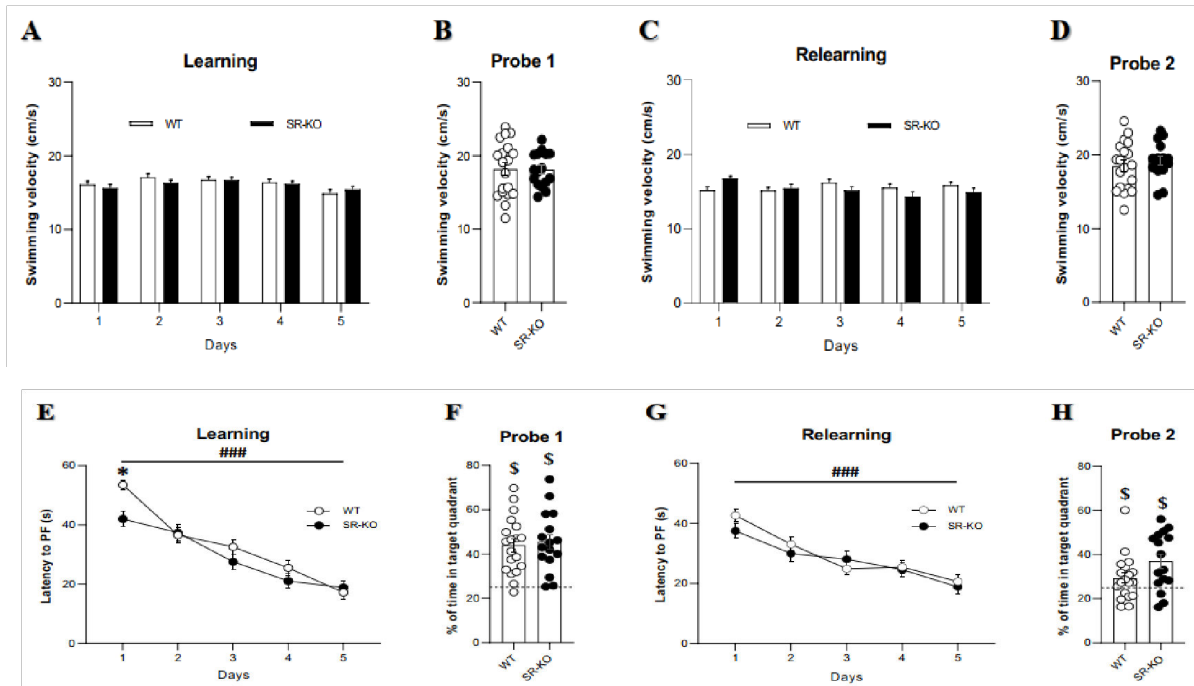
Learning and memory capacities were finally investigated through a hippocampal-dependent behavioral test, i.e., the Morris Water Maze task. Of note, swimming speed was similar whatever group of mice considered, at each phase of this protocol (learning, relearning, probe test 1 and 2; Figure 2A–D). Across the five days of training, the latency to find the hidden platform significantly decreased, thus testifying that spatial learning occurred (Figure 2E). Further, no group difference was revealed, demonstrating similar spatial learning performances. Then, when assessed 72 h after the last day of learning, spatial memory performances appeared preserved in SR-KO mice. Indeed, not only above the chance value of 25%, the percentage of time spent in the target quadrant during the probe test for SR-KO did not differ from WT mice (Figure 2F). These results suggest that reference memory is not affected when the SR gene is deleted.

The location of the platform was then moved from location for the relearning phase, which thus allowed the assessment of cognitive flexibility in SR-KO mice. Again, whatever the group considered, a significant decrease in the latency to find the platform was observed during the five days of relearning, without any difference between genotypes (Figure 2G). Besides, the two groups displayed significant flexibility of memory performances (time spent in the new target quadrant during the probe test significantly above the chance value), without any between-genotype difference (Figure 2H).



**Figure 1.** Spontaneous locomotion and anxiety-related behaviors are not consistently impacted by serine racemase (SR) deletion. (A, B). Horizontal (A) and vertical (B) activities in the actimeter between wildtype (WT) ( $n = 19$ ) and SR-knockout (SR-KO) ( $n = 16$ ) mice indicating unaffected general locomotor activity (unpaired  $t$  test with Welch's correction). (C–E). Latency for first entry into the black box (C), number of transitions between black and white boxes (D) percentage of time spent in the white compartment, (E) in the black and white box of WT ( $n = 19$ ) and SR-KO ( $n = 11$ ) mice (unpaired  $t$  test with Welch's correction for the latency and the percentage of time, Mann–Whitney test for the number of transitions). (F–I). Total distance traveled (F), speed locomotion in the center and the periphery (G), and percentage of time spent in the center during the 30 min period (H) or during the first one-minute (I) in the open-field test of WT ( $n = 18$ ) and, SR-KO ( $n = 14$ ) mice. Except for a significant increase in the percentage of time in the center during the first minute, no behavioral changes were noted (\*  $p < 0.05$  for unpaired  $t$  test with Welch's correction for the total distance and the percentage of time in the center in the first time, \*\*  $p < 0.001$  for two-way ANOVA for the

speed locomotion, Mann–Whitney test for the percentage of time in the center during all time of test).

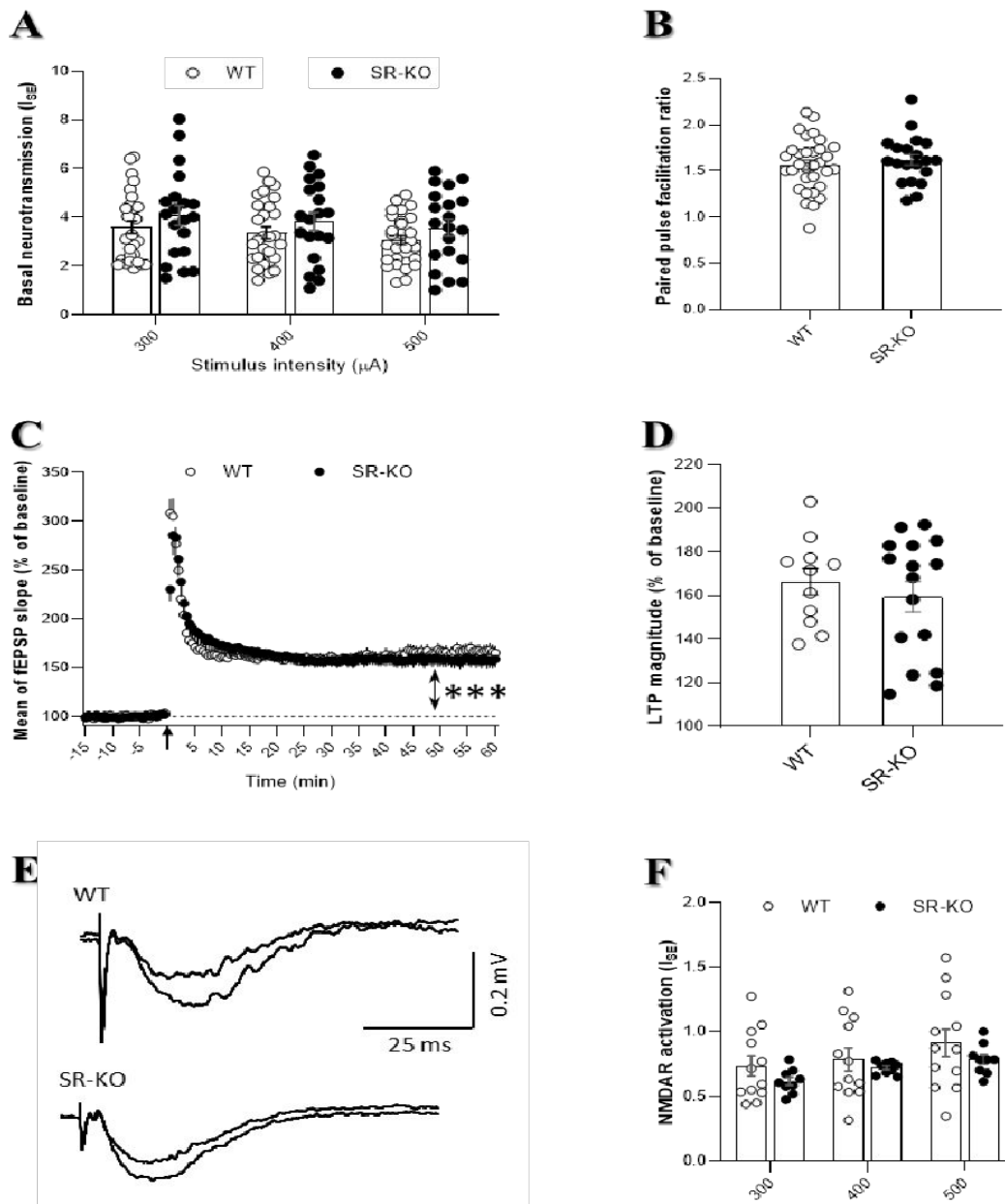


**Figure 2.** SR deletion does not impair spatial learning, reference memory, and cognitive flexibility in the Morris water maze (MWM). (A–D). Swimming velocity during the learning, probe test 1, relearning and the probe test 2 in WT control and SR-KO mice (two-way ANOVA) (E). Latency to reach the platform (PF) during the spatial learning (### for  $p < 0.001$  for two-way ANOVA repeated measures). The latency was lower during the first day of learning in SR-KO mice compared to WT mice but not on the other days (\*  $p < 0.05$  with two-way ANOVA). (F). Percentage of time spent in the target quadrant during the probe test 1 in WT and SR-KO mice. The percentages were significantly above the chance value of 25% shown by the dotted line and no difference between groups (\$,  $p < 0.05$  one-sample  $t$ -test vs.  $>25$ , unpaired  $t$ -test with Welch’s correction). (G). Latency to reach the PF during the relearning in WT and SR-KO mice. Both groups displayed a significant decrease in latency to find the PF across the five days, and there was no difference between SR-KO and WT mice for each day (###  $p < 0.001$  for two-way ANOVA repeated measures). (H). Percentage of time spent in the new target quadrant during the probe 2 in WT and SR-KO. Both groups displayed a percentage significantly above the chance value of 25% shown by the dotted line (\$  $p < 0.05$  one-sample  $t$ -test vs.  $>25$ , unpaired  $t$ -test with Welch’s correction). A number of 19 WT mice and 16 SRKO mice were tested in every stage of the MWM.

## *2.2. SR Deletion Does Not Change the Functional Output of CA1 Hippocampal Networks*

To investigate the basal excitatory synaptic transmission, extracellular field recordings were conducted and synaptic efficacy ( $I_{SE}$ ) was determined in control of aCSF for three increasing intensities of stimulation (see Section 4. Material and Methods). No significant alteration of  $I_{SE}$  was found in SR-KO mice regardless of the stimulation intensity (Figure 3A), confirming that the basal synaptic transmission is not affected by the SR deletion (see also [10,23,28]). Also, the paired-pulse facilitation ratio (PPF) was identical in SR-KO and WT mice, indicating that the probability of presynaptic glutamate release is not altered as well (Figure 3B).

As illustrated in Figure 3C, a 100 Hz tetanic stimulation-induced long-lasting potentiation was recorded both in WT and SR-KO mice. A similar magnitude of LTP was observed, regardless of the genotype considered (Figure 3D). To go further and because NMDAR activation is critical for LTP expression, NMDAR-mediated synaptic potentials induced at low-frequency stimulation were then pharmacologically isolated (see Material and Methods, Figure 3E), and possible changes of  $I_{SE}$  in these conditions were investigated in SR-KO mice. However, no significant difference between the two experimental groups was found regardless of the stimulus intensity (Figure 3F), indicating that NMDAR activation in CA1 networks is preserved in SR-deleted mice.



**Figure 3.** SR deletion does not change the functional output of CA1 hippocampal networks. **(A)** Index of synaptic efficacy ( $I_{SE}$ ) corresponding to the fEPSP/PFV slope ratio of AMPA receptor-mediated synaptic responses plotted against current intensity in WT ( $n = 28$  slices) and SR-KO mice ( $n = 20$  slices) (using two-way ANOVA). **(B)** Paired-pulse facilitation ratio of synaptic transmission in the WT ( $n = 32$  slices) and SR-KO ( $n = 20$  slices) mice (unpaired t-test with Welch's correction). **(C)** Time-course of long-term potentiation of synaptic transmission induced by a conditioning stimulus of  $1 \times 100$  Hz (black arrow) in WT ( $n = 11$  slices) and SR-KO ( $n = 16$  slices) mice. LTP is promoted in both groups, in regard to the last 15 min compared to baseline (\*\*\*)  $p < 0.0001$  for one sample t-test vs. 100 for each group). **(D)** LTP magnitude during the last 15 min in WT and SR-KO mice (two-way ANOVA repeated measures). **(E)** Superimposed traces of long-lasting N-methyl-D-aspartate (NMDAR)-induced fEPSPs recorded in a slice from a WT (up) and SR-KO mouse (down) at 300 and 400  $\mu$ A stimulation intensities. **(F)**  $I_{SE}$  of NMDAR-mediated synaptic potentials isolated in WT ( $n = 13$  slices) and SR-KO ( $n = 9$  slices) mice (two-way ANOVA).

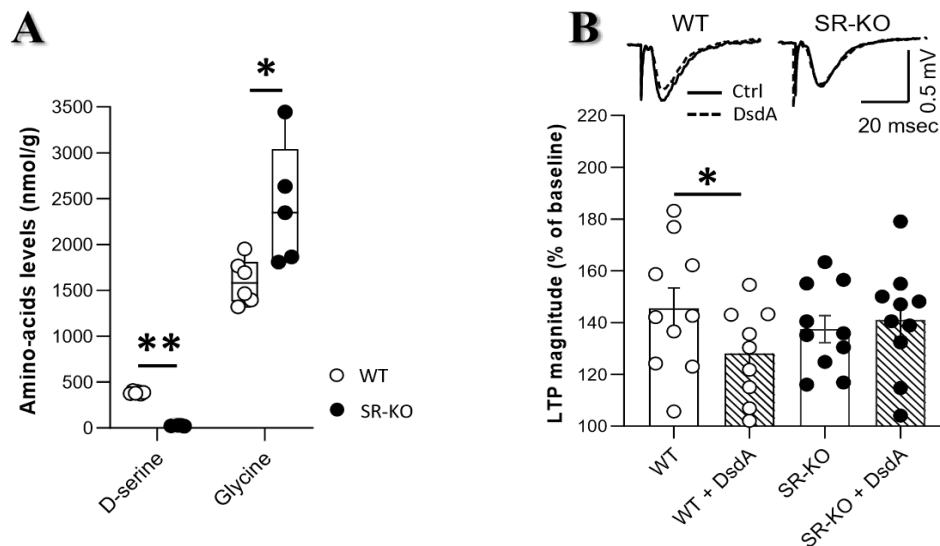


### 2.3. Changes in Glycine Levels Contribute to Preserving Functional Plasticity in SR-KO Mice

To uncover possible mechanisms allowing preserved memory capacities together with intact LTP expression in SR-KO mice, HPLC analysis of amino acids levels was first performed within hippocampi of both genotypes of mice (Figure S1). In agreement with previous studies [26,29], hippocampal d-serine levels were drastically reduced by 95% in transgenic mice compared to WT mice (Figure 4A). Furthermore, we found that the incubation of hippocampal slices with the d-serine deaminase to deplete d-serine levels [30] significantly reduced LTP magnitude in WT mice, but was without any effect in slices from SR-KO mice (Figure 4B). The data indicate that d-serine mediates NMDAR-dependent LTP in WT mice but that SR-KO may use another mechanism to preserve LTP.

Since glycine also contributes to LTP expression at CA3/CA1 hippocampal connections of adult mice

([7,28]), we hypothesized that possible changes in the levels of glycine may compensate for the loss of d-serine at synapses, thus preventing a decrease in LTP expression in SR-KO mice. In agreement with this possibility, we found that glycine levels were significantly increased in the hippocampus of SR-KO mice when compared to WT littermates (Figure 4A).

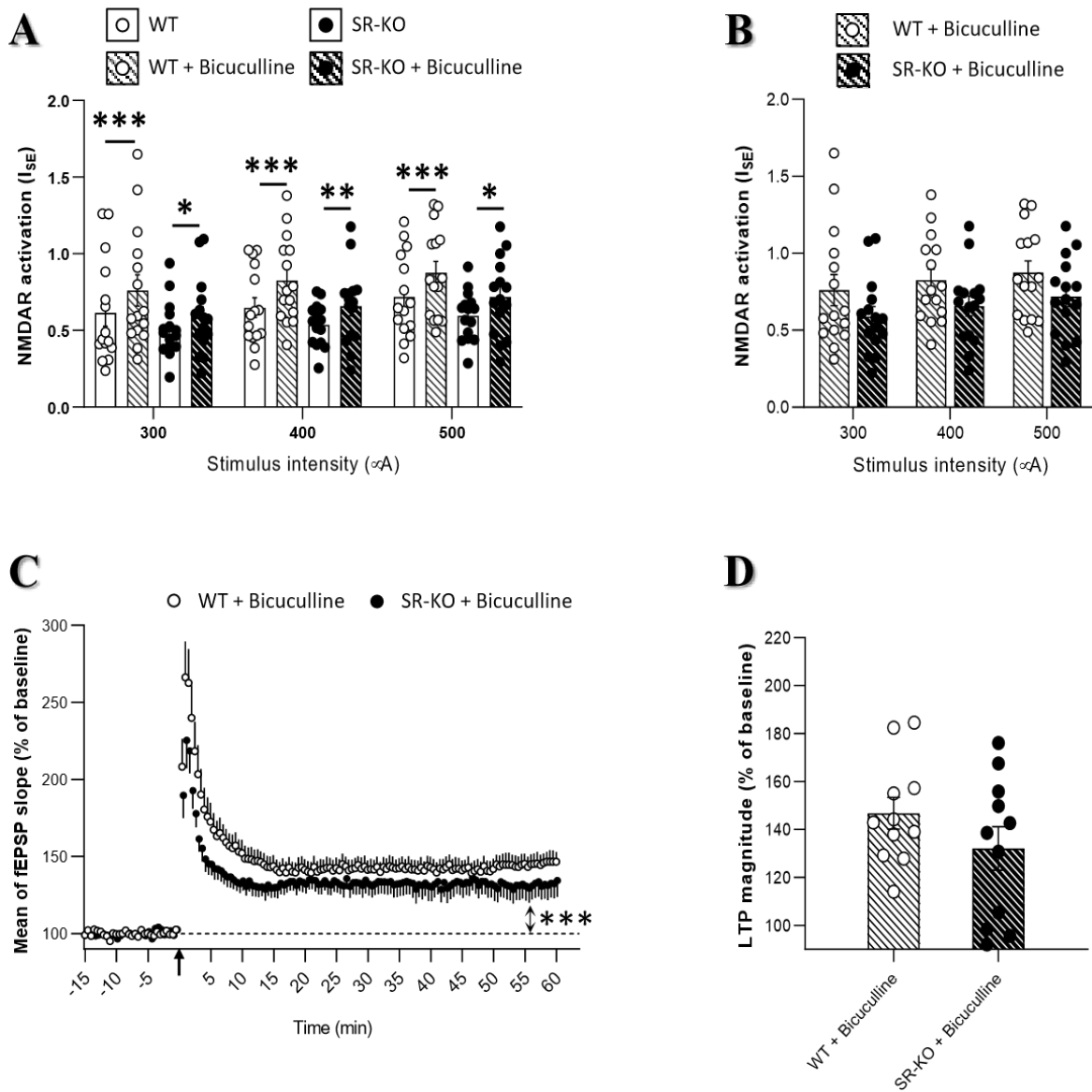


**Figure 4.** Changes in glycine levels contribute to preserving functional plasticity in SR-KO mice. **(A).** Comparison of d-serine and glycine levels (in nmol/g of hippocampal tissues) determined in WT ( $n = 6$ ) and SR-KO ( $n = 5$ ) mice. d-serine was mostly absent in the transgenic mice while glycine was significantly elevated ( $* p < 0.05$  and  $** p < 0.001$  for Mann–Whitney test). **(B).** Superimposed traces of fEPSP slope after HFS stimulation in a slice from a WT (left) and SR-KO mouse (right) with or without d-serine deaminase (DsdA) respectively dashed line and full line. Comparison of mean LTP magnitude during the last 15 min in WT and SR-KO mice recorded in control aCSF ( $n = 10$  slices in both groups) and slices incubated with the DsdA to deplete d-serine levels ( $n = 9$  and  $n = 10$  slices, respectively). LTP magnitude was significantly reduced by the d-serine depletion in WT mice while remained unaffected in SR-KO mice (two-way ANOVA;  $* p < 0.05$  for paired  $t$  test in the last 15 min).

#### *2.4. Serine Racemase Deletion Changes the Excitation/Inhibition Balance of CA1 Hippocampal Networks*

Patchclamp recordings carried out on isolated excitatory glutamatergic transmission demonstrated impairments on LTP in SR-KO [23,26]. On the other hand, extracellular recordings analyzing the overall synaptic activity of the neuronal networks did not show any LTP changes [10,28]. Beyond evident methodological considerations, these two electrophysiological approaches differ in their consideration (or not) of close environmental neuronal networks. We therefore investigated if possible changes in the E/I balance in SR-KO mice could account for these apparent discrepancies. In order to investigate whether inhibitory tone is affected in SR-KO mice, we monitored the effects of the GABA<sub>A</sub> receptor antagonist bicuculline (10  $\mu$ M) on I<sub>SE</sub> of NMDAR-mediated fEPSPs.

First of all, it worth mentioning that compared to their corresponding control group, NMDAR activation was increased for all stimulation intensities in the presence of bicuculline whatever the genotype considered (Figure 5A). However, the increase level induced by bicuculline was almost twice weaker in SR-KO compared to WT mice and this was found regardless of stimulation intensity (mean of ~30% increase versus 15% for WT and SR-KO mice, respectively, 15 slices in each group). Hence, this result suggests that GABA inhibitory tone is altered (lower) in SR-KO mice. Indeed, although not significantly different, I<sub>SE</sub> of NMDAR-mediated responses was weaker in SR-KO mice compared to WT under condition of blockade of the GABAR activity by bicuculline (Figure 5B). In addition, LTP magnitude was reduced in slices from SR-KO mice compared to WT littermates in the presence of bicuculline. This reduction was observed over the whole time-course including the first 15 min after the conditioning stimulation (corresponding to short-term potentiation) and the last 15 min of recording (corresponding to LTP) (Figure 5C).



**Figure 5.** Serine racemase deletion changes the excitation/inhibition balance in CA1 hippocampal networks. **(A)** Effects of the GABA<sub>A</sub> receptor antagonist bicuculline (10 $\mu$ M) on  $I_{SE}$  of NMDAR-mediated fEPSPs. Increase in NMDAR activation occurred in both experimental groups at all stimulation intensities, but the significance was much lower in SR-KO ( $n = 15$  slices) than in WT mice ( $n = 15$  slices) (\*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.001$ , \*\*\*  $p < 0.0001$  for paired  $t$ -tests). **(B)** Comparison  $I_{SE}$  of NMDAR-mediated synaptic potentials in WT and SR-KO mice after blockade of the GABA<sub>A</sub> receptor activity. **(C)** Time-course of LTP expression in WT ( $n = 15$  slices) and SR-KO ( $n = 15$  slices) mice in the presence of bicuculline (10  $\mu$ M) (\*\*\*)  $p < 0.0001$  for one sample  $t$ -test vs. baseline for each experimental group). **(D)** Comparison of mean LTP magnitude calculated for the last 15 min in WT and SR-KO mice in slices treated with bicuculline showing weaker potentiation in the SR-KO mice.

### 3. Discussion

This study aimed at re-evaluating the functional plasticity in CA1 networks of hippocampal slices and the related cognitive abilities in mice whose SR gene was invalidated. HPLC analysis confirmed the loss of d-serine in the hippocampus of SR-KO mice [26,29] and showed that it was associated with a small but significant increase in glycine levels. This compensatory response could explain why NMDAR activation and LTP expression in extracellular recordings are not affected in SR-KO mice and why memory abilities are preserved. However, functional deficits are recorded in hippocampal slices from the SR-KO mice when the intrinsic GABA activity is pharmacologically blocked with bicuculline, indicating that a change in the E/I balance could also contribute to maintaining functional plasticity of the CA1 hippocampal networks in the absence of d-serine.

We first confirmed that the basal glutamate synaptic transmission is preserved in SR-KO mice as revealed by the lack of alteration in the probability of presynaptic glutamate release using the electrophysiological PPF protocol (see also [10,23,28]). Besides, we observed that LTP expression and NMDAR activation in SR-KO mice were not affected in control conditions but were reduced when the GABA<sub>A</sub> receptor activity was pharmacologically suppressed. Our observations therefore suggest a weaker inhibitory tone in the neuronal networks after the genetic suppression of SR. In agreement, reduced frequency of spontaneous inhibitory postsynaptic currents was recently reported in CA1 pyramidal cells of SR-KO mice [31], indicating a weaker density of inhibitory synapses, as also supported by a decrease in levels of the vesicular GABA transporter in those animals [31]. We now raise the possibility that the loss of d-serine in SR-KO mice could also induce a weaker activation of NMDARs present on GABAergic interneurons themselves, thus reducing their inhibitory function. This point remains to be investigated using patch-clamp recordings of inhibitory interneurons. Importantly, the change in the E/I balance associated with the loss of d-serine could explain why LTP expression is not affected in our studies evaluating the overall activity of the CA1 hippocampal networks (see also [10,28]), whereas it is impaired when inhibition is shut down (see [23,26]).

It is noteworthy that our behavioral investigations (locomotor activity, anxiety-like behaviors, spatial learning, reference memory, and cognitive flexibility) did not reveal major deficits of memory performances in SR-KO mice. Like in LTP, the absence of behavioral changes in learning and memory tests could be related to the modified E/I balance of the CA1 network preserving its overall activity. Nevertheless, SR-KO mice seem to exhibit some traits of behavioral modifications in stress-related situations. We observed a decrease in anxiety-related behavior (% time spent in the center during the first minute) in the open-field, while data from the literature report impairments in other behaviors such as contextual fear conditioning, chronic social defeat stress or socio-communicative behaviors [25,32–34]. These altered behavioral responses in SR-KO mice could be associated with the reduced inhibitory

tone induced by d-serine removal. Indeed, modulation of GABA activity is known to alter several behaviors such as locomotor activity, anxiety-related behaviors, and memory [35–40]. A normal LTP in SR-KO mice under control conditions is surprising since the necessary NMDAR activation by the main NMDAR co-agonist is completely absent, indicating the occurrence of potent compensatory mechanisms. Accordingly, we found that LTP in SR-KO mice was not affected by depletion of d-serine by treatment with recombinant d-serine deaminase, while it was impaired by the same enzymatic treatment in WT mice (see also [10]). Glycine is the major co-agonist driving the LTP expression at CA3/CA1 synapses during development while it only contributes at mature connections together with d-serine [7,28]. Interestingly, we found that in parallel to the loss of d-serine, glycine levels were increased in SR-KO mice. Therefore, in addition to a change in E/I balance, higher availability of glycine represents another mechanism that allows LTP to be maintained in the absence of D-serine.

Together, these results highlight that genetically modified models must be studied carefully because compensatory mechanisms can mask changes in synapses by maintaining overall network activity. Nevertheless, SR-KO mice are still an excellent animal model to validate our understanding of mechanisms that are dependent on d-serine availability at the synapse, as recently shown for the role of the system A-type of glutamine transporters in terminating d-serine signaling [41] or the Asc1 subtype of neutral amino acid transporters in mediating d-serine release [42,43].

## **4. Material and Methods**

### *4.1. Animals*

Male mice aged 7–12 months were provided by local facility (Centre Universitaire de Ressources Biologiques, Université de Caen, Normandie, France) including wild type C57BL/6J mice (WT,  $n = 26$  assigned to electrophysiological studies, and  $n = 19$  assigned to behavioral and biochemical analyses), and constitutive SR-KO mice ( $n = 18$  for electrophysiological studies and  $n = 16$  for behavioral and biochemical analyses) on a background originally issued from J.T. Coyle's lab colony (Belmont, MA, USA). Mice were housed in groups of 5 in polycarbonate cages in standard controlled conditions with a reversed 12 h light/dark cycle (light on at 7 pm), controlled temperature ( $22 \pm 1$  °C) and free access to food and water in the home cage. All experiments were carried out in accordance with the European Communities Council Directive (2010/63/EU) regarding the care and use of animals in experimental procedures (APAFIS#24317, 12 May 2020).

### *4.2. Determination of Brain Amino Acid Levels*

After cervical dislocation and decapitation of mice, hippocampi were dissected. The samples were homogenized with 10 volumes of 5% TCA, quickly frozen at  $-80$  °C and subsequently

processed for HPLC analysis as previously described [44], except that  $\alpha$ -amino adipic acid was substituted for L-homocysteic acid as the internal standard.

### 4.3. Extracellular Electrophysiology

Mice were anesthetized with isoflurane and killed by decapitation. Hippocampi were rapidly dissected, and transverse hippocampal slices (400  $\mu\text{m}$ ) were prepared in ice-cold artificial cerebrospinal fluid (aCSF) and placed in a holding chamber for at least 60 min. The composition of aCSF was (in mM): NaCl 124, KCl 3.5,  $\text{MgSO}_4$  1.5,  $\text{CaCl}_2$  2.3,  $\text{NaHCO}_3$  26.2,  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  1.2 and glucose 11 (pH 7.4). A single slice was transferred to the recording chamber and continuously submerged with aCSF pre-gassed with a 95%  $\text{O}_2$ /5%  $\text{CO}_2$  mixture.

Extracellular recordings were obtained at room temperature from the apical dendritic layer of the CA1 area using glass micropipettes (2–5 M $\Omega$ ) filled with 2 M NaCl. To assess basal neurotransmission, presynaptic fiber volleys (PFVs) and non-NMDAR-mediated field excitatory postsynaptic potentials (fEPSPs) were evoked at 0.1 Hz by electrical stimulation of Schaffer collaterals and commissural fibers located in the stratum radiatum. The averaged slope of three PFVs and fEPSPs was measured using Win LTP software [45,46]. To assess the level of receptor activation, an index of synaptic efficacy ( $I_{SE}$ ) corresponding to the fEPSP/PFV ratio was plotted against increasing stimulus intensity (300, 400 and 500  $\mu\text{A}$ ).

Paired-pulse facilitation (PPF) of basal synaptic transmission was induced by electrical stimulation of afferent fibers with paired-pulse (inter-stimulus interval of 30 ms). PPF was calculated as the ratio of the slope of the second stimulation to the first one.

Specific NMDAR-mediated fEPSPs were isolated in slices perfused with low  $\text{Mg}^{2+}$  (0.1 mM) containing aCSF and supplemented with the non-NMDAR antagonist 2,3-dioxo-6-nitro-1,2,3,4-tetrahydrobenzoquinoline-7-sulfonamide (NBQX, 10  $\mu\text{M}$ ). Again,  $I_{SE}$  was plotted against stimulus intensity (300, 400 and 500  $\mu\text{A}$ ) in these conditions to assess the level of NMDAR activation. Effects of exogenous application of the GABA<sub>A</sub> receptor antagonist bicuculline (10  $\mu\text{M}$ ) were evaluated by comparing  $I_{SE}$  before and 15 min after the addition of the drug to the aCSF.

In experiments investigating high-frequency stimulation (HFS)-induced long-term potentiation (LTP) of synaptic transmission, a test stimulus (0.1 Hz) was adjusted to obtain an fEPSP with a baseline slope of 0.1 V/s before the delivery of the conditioning stimulation consisting of 1 burst of pulses at 100 Hz delivered for 1 s. Testing with single pulses was then resumed for 60 min to determine the level of stable LTP. In some experiments, LTP was monitored in slices pre-incubated for at least 90 min with 20  $\mu\text{g}/\text{mL}$  purified recombinant *Escherichia coli* D-serine deaminase (DsdA) along to deplete D-serine content. The purified recombinant enzyme was prepared as described previously (30).

### 4.4. Behavioral Experiments

Behavioral experiments were performed on the following sequence: actimeter, black and white box, open-field, and Morris Water Maze. All animals were handled daily for several weeks before the tests began, and experiments were conducted during the active-dark phase

of the cycle. For habituation to a new environment, mice were placed in the room at least 30 min before the beginning of each experimental set. Apparatuses were cleaned with alcohol (70%) between each assessment.

#### *4.5. Actimeter*

Spontaneous locomotion was evaluated using an actimeter device (Imetronic), which corresponds to a Plexiglas cage (20 × 12 × 17 cm) containing 6 infrared beams allowing detection and counting of horizontal and vertical movements. Each mouse was placed in this individual cage and locomotor activity was measured by recording the number of interruption of beams of the red light over a period of 30 min through an attached recording system to the actimeter. The greater the number of beam interruptions, the more intense the locomotor activity of the animals and the inverse was also true. The recording of horizontal movements corresponds to horizontal activity and vertical movements to vertical activity, i.e., the number of rearings.

#### *4.6. Black and White Box*

The black and white box (Bioseb) was used to test anxiety and is based on rodents' innate preference for dark and confined spaces, as opposed to a brightly lit environment. The experimental apparatus consisted of two plexiglass compartments composed of a large (28 × 27 × 27 cm) white/light and a second small (17 × 27 × 27 cm) black/dark, which communicates through an open door. Each mouse was introduced into the white compartment, and the experiment started when the mouse entered the black compartment (maximal latency criterion 120 s). Then, the mouse was allowed to freely explore both compartments for 5 min. The latency to enter for the first time into the black compartment, the number of transitions between compartments and the time spent in the white compartment was recorded. Five SR-KO mice were excluded from all black and white box analyses, one did not validate the maximum latency criterion, and the other four were excluded because they were outliers (Rout test).

#### *4.7. Open-Field*

The open-field test was performed in a device (50 × 50 × 20 cm, white plexiglass, Viewpoint) with an infrared floor allowing to record the animals in the absence of light (0 lux). Each mouse was allowed to freely explore the device for a period of 30 min. General exploration was measured by calculating the total distance traveled in the apparatus. Two zones (periphery vs. center) were designated digitally, and the time spent in each was measured using the software Ethovision (Noldus™, Wageningen, Netherlands). The percentage of time spent in the center zone, serving as an index of anxiety-like behavior, was assessed in the total duration of the test and only in the first one minute.

#### 4.8. Morris Water Maze

Spatial learning, reference memory, and cognitive flexibility were assessed using a circular pool (120 cm diameter × 40 cm height, Viewpoint) filled with opaque non-toxic water kept at 22–23 °C. The pool was virtually divided into four equal quadrants. Large visual cues were displayed on the walls of the testing room around the maze. First, the learning phase consisted of five consecutive days during which the mice were trained to localize a platform (11 cm diameter, PF) hidden at 0.5 cm below the water surface. Each day was comprised of four consecutive trials (maximal duration 60 s) performed with a randomized starting point and a 60 s inter-trial interval. If the mouse did not reach the PF within 60 s, it was slowly guided to it and allowed to stay for 15 s. Reference memory was assessed during probe-test 1 with a unique trial (60 s) performed 72 h after the last day of learning, without PF. One day later, a relearning phase was performed with the same design as the learning phase, but the PF was transferred to the opposite quadrant. Once again, 72 h after the last day of relearning, probe-test 2 was performed by a unique trial (60 s). Each session was videotaped, and parameters (latency to find the PF, swimming velocity in learning/relearning phases, and time spent in each quadrant, swimming velocity in probe tests) were analyzed through the Ethovision software ((Noldus™, Wageningen, Netherlands).

#### 4.9. Data Analysis

All data are expressed as mean ± S.E.M, except the dosage of amino acids, the number of transitions in the black and white box, and the percentage of time in the center in the open field, which are expressed in median ± interquartile. After the assessment of normality of the data distribution, unpaired or paired t-test, one-sample *t*-test, one or two-way ANOVA (with repeated measures or not), and Mann–Whitney were used accordingly. One- or two-way ANOVA with repeated measurements were followed by Bonferroni–Dunn post hoc tests for multiple comparisons. In all cases, differences were considered significant when  $p < 0.05$ . Analyses were performed with GraphPad Prism 8.0 (GraphPad Software, San Diego, CA, USA) and Statview 5.0 (BrainPower Inc, Fremont, CA, USA).

**Supplementary Materials:** Supplementary Materials can be found at <http://www.mdpi.com/1422-0067/21/24/9447/s1>.

**Author Contributions:** The following statements should be used “Conceptualization, J.-M.B. and T.F. investigation, E.P. and I.R. and J.-M.B.; writing—original draft preparation, E.P. and J.-M.B. and T.F.; writing—review and editing, E.P. and J.-M.B. and T.F. and V.B. and H.W. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

**Funding:** E.P.: V.B., T.F. and J.-M.B. are supported by the France Alzheimer foundation (contrat n°1480), and by the regional council of Normandy. H.W. is supported by the Israel Science



Foundation #337/19 and the Allen and Jewell Prince Center for Neurodegenerative Disorders of the Brain.

**Conflicts of Interest:** The authors declare no conflict of interest.

## II. References

1. Hashimoto, A.; Nishikawa, T.; Konno, R.; Niwa, A.; Yasumura, Y.; Oka, T.; Takahashi, K. Free D-serine, D-aspartate and D-alanine in central nervous system and serum in mutant mice lacking D-amino acid oxidase. *Neurosci. Lett.* **1993**, *152*, 33–36. [CrossRef]
2. Hashimoto, A.; Oka, T.; Nishikawa, T. Extracellular concentration of endogenous free D-serine in the rat brain as revealed by in vivo microdialysis. *Neuroscience* **1995**, *66*, 635–643. [CrossRef]
3. Hashimoto, A.; Oka, T.; Nishikawa, T. Anatomical distribution and postnatal changes in endogenous free D-aspartate and D-serine in rat brain and periphery. *Eur. J. Neurosci.* **1995**, *7*, 1657–1663. [CrossRef] [PubMed]
4. Schell, M.J.; Brady, R.O., Jr.; Molliver, M.E.; Snyder, S.H. D-serine as a neuromodulator: Regional and developmental localizations in rat brain glia resemble NMDA receptors. *J. Neurosci.* **1997**, *17*, 1604–1615. [CrossRef]
5. Schell, M.J.; Molliver, M.E.; Snyder, S.H. D-serine, an endogenous synaptic modulator: Localization to astrocytes and glutamate-stimulated release. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1995**, *92*, 3948–3952. [CrossRef] [PubMed]
6. Billard, J.M. D-Amino acids in brain neurotransmission and synaptic plasticity. *Amino Acids* **2012**, *43*, 1851–1860. [CrossRef]
7. Le Bail, M.; Martineau, M.; Sacchi, S.; Yatsenko, N.; Radzishevsky, I.; Conrod, S.; Ait Ouares, K.; Wolosker, H.; Pollegioni, L.; Billard, J.M.; et al. Identity of the NMDA receptor coagonist is synapse specific and developmentally regulated in the hippocampus. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2015**, *112*, E204–E213. [CrossRef]
8. Mothet, J.P.; Parent, A.T.; Wolosker, H.; Brady, R.O., Jr.; Linden, D.J.; Ferris, C.D.; Rogawski, M.A.; Snyder, S.H. D-serine is an endogenous ligand for the glycine site of the N-methyl-D-aspartate receptor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2000**, *97*, 4926–4931. [CrossRef]
9. Papouin, T.; Ladepeche, L.; Ruel, J.; Sacchi, S.; Labasque, M.; Hanini, M.; Groc, L.; Pollegioni, L.; Mothet, J.P.; Oliet, S.H. Synaptic and Extrasynaptic NMDA Receptors Are Gated by Different Endogenous Coagonists. *Cell* **2012**, *150*, 633–646. [CrossRef]
10. Rosenberg, D.; Artoul, S.; Segal, A.C.; Kolodney, G.; Radzishevsky, I.; Dikopoltsev, E.; Foltyn, V.N.; Inoue, R.; Mori, H.; Billard, J.M.; et al. Neuronal D-Serine and Glycine Release Via the Asc-1 Transporter Regulates NMDA Receptor-Dependent Synaptic Activity. *J. Neurosci.* **2013**, *33*, 3533–3544. [CrossRef]
11. Yang, Y.; Ge, W.; Chen, Y.; Zhang, Z.; Shen, W.; Wu, C.; Poo, M.; Duan, S. Contribution of astrocytes to hippocampal long-term potentiation through release of D-serine. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2003**, *100*, 15194–15199. [CrossRef] [PubMed]

12. Bliss, T.V.; Collingridge, G.L. A synaptic model of memory: Long-term potentiation in the hippocampus. *Nature* **1993**, *361*, 31–39. [CrossRef] [PubMed]
13. Eichenbaum, H. Learning from LTP: A comment on recent attempts to identify cellular and molecular mechanisms of memory. *Learn. Mem.* **1996**, *3*, 61–73. [CrossRef]
14. Izquierdo, I. Role of NMDA receptors in memory. *Trends Pharmacol. Sci.* **1991**, *12*, 128–129. [CrossRef]
15. Kim, S.J.; Linden, D.J. Ubiquitous plasticity and memory storage. *Neuron* **2007**, *56*, 582–592. [CrossRef] [PubMed]
16. Lynch, M.A. Long-term potentiation and memory. *Physiol. Rev.* **2004**, *84*, 87–136. [CrossRef] [PubMed]
17. Morris, R.G. NMDA receptors and memory encoding. *Neuropharmacology* **2013**, *74*, 32–40. [CrossRef]
18. Strisovsky, K.; Jiraskova, J.; Barinka, C.; Majer, P.; Rojas, C.; Slusher, B.S.; Konvalinka, J. Mouse brain serine racemase catalyzes specific elimination of L-serine to pyruvate. *FEBS Lett.* **2003**, *535*, 44–48. [CrossRef]
19. Wolosker, H.; Blackshaw, S.; Snyder, S.H. Serine racemase: A glial enzyme synthesizing D-serine to regulate glutamate-N-methyl-D-aspartate neurotransmission. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1999**, *96*, 13409–13414. [CrossRef]
20. Wolosker, H.; Mori, H. Serine racemase: An unconventional enzyme for an unconventional transmitter. *Amino Acids* **2012**, *43*, 1895–1904. [CrossRef]
21. Xia, M.; Liu, Y.; Figueroa, D.J.; Chiu, C.S.; Wei, N.; Lawlor, A.M.; Lu, P.; Sur, C.; Koblan, K.S.; Connolly, T.M. Characterization and localization of a human serine racemase. *Mol. Brain Res.* **2004**, *125*, 96–104. [CrossRef] [PubMed]
22. Labrie, V.; Fukumura, R.; Rastogi, A.; Fick, L.J.; Wang, W.; Boutros, P.C.; Kennedy, J.L.; Semeralul, M.O.; Lee, F.H.; Baker, G.B.; et al. Serine racemase is associated with schizophrenia susceptibility in humans and in a mouse model. *Hum. Mol. Genet.* **2009**, *18*, 3227–3243. [CrossRef] [PubMed]
23. Basu, A.C.; Tsai, G.E.; Ma, C.L.; Ehmsen, J.T.; Mustafa, A.K.; Han, L.; Jiang, Z.I.; Benneyworth, M.A.; Froimowitz, M.P.; Lange, N.; et al. Targeted disruption of serine racemase affects glutamatergic neurotransmission and behavior. *Mol. Psychiatry* **2009**, *14*, 719–727. [CrossRef] [PubMed]
24. Miya, K.; Inoue, R.; Takata, Y.; Abe, M.; Natsume, R.; Sakimura, K.; Hongou, K.; Miyawaki, T.; Mori, H. Serine racemase is predominantly localized in neurons in mouse brain. *J. Comp. Neurol.* **2008**, *510*, 641–654. [CrossRef] [PubMed]
25. Coyle, J.T.; Balu, D.T. The Role of Serine Racemase in the Pathophysiology of Brain Disorders. *Adv. Pharmacol.* **2018**, *82*, 35–56. [PubMed]
26. Balu, D.T.; Li, Y.; Puhl, M.D.; Benneyworth, M.A.; Basu, A.C.; Takagi, S.; Bolshakov, V.Y.; Coyle, J.T. Multiple risk pathways for schizophrenia converge in serine racemase knockout

mice, a mouse model of NMDA receptor hypofunction. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2013**, *110*, E2400–E2409. [CrossRef] [PubMed]

27. Wong, M.J.; Folorunso, O.O.; Barragan, V.E.; Berciu, C.; Harvey, L.T.; Coyle, T.J.; Balu, T.D.; Gray, A.J. Postsynaptic serine racemase regulates NMDA receptor function. *J. Neurosci.* **2020**, *40*, 9564–9575. [CrossRef]

28. Neame, S.; Safory, H.; Radzishevsky, I.; Touitou, A.; Marchesani, F.; Marchetti, M.; Kellner, S.; Berlin, S.; Foltyn, V.N.; Engelender, S.; et al. The NMDA receptor activation by D-serine and glycine is controlled by an astrocytic Phgdh-dependent serine shuttle. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2019**, *116*, 20736–20742. [CrossRef]

29. Horio, M.; Kohno, M.; Fujita, Y.; Ishima, T.; Inoue, R.; Mori, H.; Hashimoto, K. Levels of D-serine in the brain and peripheral organs of serine racemase (Srr) knock-out mice. *Neurochem. Int.* **2011**, *59*, 853–859. [CrossRef]

30. Shleper, M.; Kartvelishvily, E.; Wolosker, H. D-serine is the dominant endogenous coagonist for NMDA receptor neurotoxicity in organotypic hippocampal slices. *J. Neurosci.* **2005**, *25*, 9413–9417. [CrossRef]

31. Jami, S.A.; Cameron, S.; Wong, J.M.; Daly, E.R.; McAllister, A.K.; Gray, J.A. Increased excitation-inhibition balance due to a loss of GABAergic synapses in the serine racemase knockout model of NMDA receptor hypofunction. *BioRxiv* **2020**, 304170. [CrossRef]

32. Basu, A.C.; Puhl, M.D.; Coyle, J.T. Endogenous co-agonists of the NMDA receptor modulate contextual fear in trace conditioning. *Neurobiol. Learn. Mem.* **2016**, *136*, 244–250. [CrossRef] [PubMed]

33. Dong, C.; Zhang, J.C.; Ren, Q.; Ma, M.; Qu, Y.; Zhang, K.; Yao, W.; Ishima, T.; Mori, H.; Hashimoto, K. Deletion of serine racemase confers D-serine -dependent resilience to chronic social defeat stress. *Neurochem. Int.* **2018**, *116*, 43–51. [CrossRef] [PubMed]

34. Matveeva, T.M.; Pisansky, M.T.; Young, A.; Miller, R.F.; Gewirtz, J.C. Sociality deficits in serine racemase knockout mice. *Brain Behav.* **2019**, *9*, 10. [CrossRef] [PubMed]

35. Asinof, S.K.; Paine, T.A. Inhibition of GABA synthesis in the prefrontal cortex increases locomotor activity but does not affect attention in the 5-choice serial reaction time task. *Neuropharmacology* **2013**, *65*, 39–47. [CrossRef] [PubMed]

36. Gandolfi, D.; Bigiani, A.; Porro, C.A.; Mapelli, J. Inhibitory Plasticity: From Molecules to Computation and Beyond. *Int. J. Mol. Sci.* **2020**, *21*, 1805. [CrossRef]

37. Hou, X.; Rong, C.; Wang, F.; Liu, X.; Sun, Y.; Zhang, H.T. GABAergic System in Stress: Implications of GABAergic Neuron Subpopulations and the Gut-Vagus-Brain Pathway. *Neural. Plast.* **2020**, *2020*, 8858415. [CrossRef]

38. Kangarlu-Haghighi, K.; Oryan, S.; Nasehi, M.; Zarrindast, M.R. The effect of BLA GABA(A) receptors in anxiolytic-like effect and aversive memory deficit induced by ACPA. *EXCLI J.* **2015**, *14*, 613–626.

39. Page, C.E.; Coutellier, L. Prefrontal excitatory/inhibitory balance in stress and emotional disorders: Evidence for over-inhibition. *Neurosci. Biobehav. Rev.* **2019**, *105*, 39–512019. [CrossRef]
40. Taylor, S.F.; Grove, T.B.; Ellingrod, V.L.; Tso, I.F. The Fragile Brain: Stress Vulnerability, Negative Affect and GABAergic Neurocircuits in Psychosis. *Schizophr. Bull.* **2019**, *45*, 1170–1183. [CrossRef]
41. Bodner, O.; Radzishovsky, I.; Foltyn, V.N.; Touitou, A.; Valenta, A.C.; Rangel, I.F.; Panizzutti, R.; Kennedy, R.T.; Billard, J.M.; Wolosker, H. D-Serine Signaling and NMDAR-Mediated Synaptic Plasticity Are Regulated by System A-Type of Glutamine/D-Serine Dual Transporters. *J. Neurosci.* **2020**, *40*, 6489–6502. [CrossRef] [PubMed]
42. Rosenberg, D.; Kartvelishvili, E.; Shleper, M.; Klinker, C.M.; Bowser, M.T.; Wolosker, H. Neuronal release of D-serine: A physiological pathway controlling extracellular D-serine concentration. *FASEB J.* **2010**, *24*, 2951–2961. [CrossRef] [PubMed]
43. Sason, H.; Billard, J.M.; Smith, G.P.; Safory, H.; Neame, S.; Kaplan, E.; Rosenberg, D.; Zubedat, S.; Foltyn, V.N.; Christoffersen, C.T.; et al. Asc-1 Transporter Regulation of Synaptic Activity via the Tonic Release of d-Serine in the Forebrain. *Cereb. Cortex* **2017**, *27*, 1573–1587. [CrossRef] [PubMed]
44. Hashimoto, A.; Nishikawa, T.; Oka, T.; Takahashi, K.; Hayashi, T. Determination of free amino acid enantiomers in rat brain and serum by high-performance liquid chromatography after derivatization with N-tert.-butyloxycarbonyl-L-cysteine and o-phthalaldehyde. *J. Chromatogr.* **1992**, *582*, 41–48. [CrossRef]
45. Anderson, W.W.; Collingridge, G.L. The LTP Program: A data acquisition program for on-line analysis of long-term potentiation and other synaptic events. *J. Neurosci. Methods* **2001**, *108*, 71–83. [CrossRef]
46. Anderson, W.W.; Collingridge, G.L. Capabilities of the WinLTP data acquisition program extending beyond basic LTP experimental functions. *J. Neurosci. Methods* **2007**, *162*, 346–356. [CrossRef]

**Publisher’s Note:** MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



© 2020 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

B. Article 2 (*en préparation*) :

## Early involvement of D-serine in $\beta$ -amyloid-dependent pathophysiology.

**E Ploux**, L Gorisse-Hussonnois, I Radzishovsky, O Folorunsoh, S Brown, Wolosker, J-P Mothet, D Balu, T Freret and J-M Billard

La délétion de la SR n'a pas entraîné de modification comportementale et fonctionnelle majeure comme l'a rapporté l'article 1. Il est alors permis d'utiliser le modèle 5xFAD/SR-KO afin de préciser l'implication de la D-sérine dans la pathologie amyloïde par comparaison avec des souris 5xFAD. Le phénotype comportemental et la plasticité fonctionnelle des connexions CA3-CA1 hippocampiques ont été étudiés. Comme présenté dans la section « objectif », trois âges d'intérêts ont été sélectionnés en fonction de la cinétique d'apparition et de développement de la charge amyloïde chez les souris 5xFAD (Oakley *et al.*, 2006). Les principaux résultats acquis dans cette étude font l'objet d'un article actuellement en rédaction et qui sont présentés ci-dessous selon un format qui sera cependant affiné lors la soumission officielle.

# Early involvement of D-serine in $\beta$ -amyloid-dependent pathophysiology.

E Ploux<sup>1</sup>, L Gorisse-Hussonnois<sup>1</sup>, I Radzishewsky<sup>2</sup>, S Brown<sup>4,5</sup>, O Folorunson<sup>4,5</sup>, H Wolosker<sup>2</sup>, J-P Mothet<sup>3</sup>, D Balu<sup>4,5</sup>, T Freret<sup>1\*</sup> and J-M Billard<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Normandie Univ, UNICAEN, INSERM, GIP CYCERON, COMETE, Caen, France.

<sup>2</sup> Department of Biochemistry, Rappaport Faculty of Medicine, Technion-Israel Institute of Technology, Haifa, Israel.

<sup>3</sup> Biophotonics and Synapse Physiopathology team, UMR9188 CNRS - ENS Paris Saclay, Orsay, France.

<sup>4</sup> Translational Psychiatry Laboratory, McLean Hospital, Belmont, Massachusetts.

<sup>5</sup> Department of Psychiatry, Harvard Medical School, Boston, MA, USA.

\* Corresponding author:

✉ Pr T. Freret, UNICAEN COMETE, INSERM UMR S-1075, GIP CYCERON, Bat GMPc, Campus Horowitz, Bd Henri Becquerel, CS14032 Caen, France. Tel: + 33 2 31 56 68 78; fax + 33 2 31 56 82 19. Email: [thomas.freret@unicaen.fr](mailto:thomas.freret@unicaen.fr)

✉ Dr J-M. Billard, UNICAEN COMETE, INSERM UMR S-1075, GIP CYCERON, Bat GMPc, Campus Horowitz, Bd Henri Becquerel, CS14032 Caen, France. Tel: + 33 2 31 56 68 76; fax + 33 2 31 56 82 19. Email: [jean-marie.billard@inserm.fr](mailto:jean-marie.billard@inserm.fr)

Declarations of interest: none.

**ABSTRACT:**

Key regulator of brain plasticity encoding learning and memory, the N-methyl-D-aspartate subtype of glutamate receptors (NMDA-R) requires the binding of the co-agonist D-serine to be activated. The beta-amyloid (A $\beta$ ) peptide highly generated in Alzheimer's disease (AD) affects D-serine-dependent NMDA-R activation *in vitro*, but whether this could contribute to cognitive deficits in AD remains debated. Herein, we report those cognitive deficits and impairment of NMDA-R-dependent activity at CA3/CA1 hippocampal synapses impairments of 10-12 months-old 5xFAD, an Alzheimer's disease-related model with elevated A $\beta$  levels, are prevented by a concomitant deletion of the D-serine synthesis enzyme serine racemase (SR). The deficits are not associated with changes in either the synapse phenotype or levels of hippocampal D-serine. Functional alterations are already present in 3-4 months-old animals which do not display cognitive impairment. Interestingly, D-serine levels significantly increase in 6-8 weeks-old 5xFAD mice concomitantly to the early rise of A $\beta$  production, that is linked to onset of reduced synaptic recruitment of NMDA-R. These results therefore provide the first *in vivo* evidence for an early involvement of D-serine in hippocampal synaptic deregulations and cognitive deficits driven by amyloidogenesis.

**Keywords:** Alzheimer's disease, amyloid pathology, NMDA receptors, serine racemase, long-term potentiation, cognitive processes

## 1. Introduction

Among several typical features, Alzheimer's disease (AD) is characterized by abnormal processing of the amyloid protein precursor (APP) that amplifies different forms of APP-derived products, including the amyloid- $\beta$  (A $\beta$ ) peptide [1, 2]. NMDA-R play a role in cognitive processes by controlling the strength and plasticity of synaptic communication [3, 4], while NMDA-R overactivation promotes neurotoxicity processes under pathological conditions [5, 6]. However, though the literature proposes that AD-related cognitive deficits rely to some extent on altered NMDA-R activation by A $\beta$  [4], the underlying mechanisms still need to be clarified.

In addition to the binding of glutamate, NMDA-R activation requires the presence of a co-agonist at a distinct ligand site [7]. The amino acid D-serine is the main endogenous co-agonist present in cerebral area affected in AD including the hippocampus [8]. Produced from L-serine by the serine racemase enzyme (SR) [9], D-serine is central to functional deficits underlying memory disabilities in physiological brain senescence [10]. Yet, its contribution to the pathophysiological processes of AD remains controversial [see 11 for review]. On one side, *in vitro* studies report that A $\beta$  stimulates D-serine production and release [12, 13] while targeted deletion of SR in mice attenuates the neurotoxicity induced by acute intracortical administration of the amyloid peptide [14]. Besides, enhanced D-serine production by reactive astrocytes occurs in an AD rat model as well as in AD subjects [15] while several clinical investigations show higher levels of D-serine in cerebrospinal fluid (CSF) and blood of AD patients that positively correlate with the severity of cognitive deficits [16]. On the other side, such an increase in D-serine levels in AD patients are not confirmed by other investigations [see 11 for review] while a lower production of D-serine was reported in 3xTg mouse model of AD that could initiate memory deficits [17].



In order to ascertain *in vivo* the role of D-serine in functional and cognitive damages driven by A $\beta$  elevation, we crossed the 5xFAD mouse line overexpressing five mutations associated with APP and PS1 transgenes and displaying rapid and sustained increase in levels of soluble A $\beta$  [18] with the SR null mutant (SR-KO) mice [19] to create a 5xFAD/SR-KO mice line devoid of D-serine. We now report that deficits in working memory, spatial learning and cognitive flexibility in 5xFAD mice along with impaired hippocampal NMDAR-dependent synaptic activity are prevented in 5xFAD/SR-KO mice. These deficits progressively develop after a transient increase in hippocampal D-serine levels occurring when A $\beta$  levels start to rise. These results indicate that D-serine significantly contributes early *in vivo* to synaptic failures and cognitive decline promoted by the  $\beta$ -amyloid-related pathophysiology.

## 2. Methods

All animals were provided by our local facility (Centre Universitaire de Ressources Biologiques, University of Caen, Normandie). Three groups of male mice aged of 1.5-2 months, 3-4 months and 10-12 months including: wild type WT, 5xFAD and 5xFAD/SR-KO were used. Mice were bred with food and water *ad libitum* and maintained on a 12/12hh reversed light/dark cycle temperature ( $21\pm 2^{\circ}\text{C}$ ) and humidity ( $55\pm 10\%$ )-controlled room. All experiments were performed according to European Community guidelines (2010/63/UE).

### *2.1. Mice genotyping.*

Following a 10 generations backcross on C57Bl/6J background, 5xFAD mice were bred with constitutive SR-KO mice to obtain 5xFAD/SR-KO mice on a pure C57BL/6 background. Mice were characterized at weaning with hair genotyping.

### *2.2 Behavior analysis*

#### *2.2.1 Working memory.*

Immediate working memory was assessed by spontaneous alternation using the Y maze. In a single session, the mouse was placed at the end of one arm and has 8min for freely exploration. During this period, the sequence of arm entries was scored. An alternation was defined as a consecutive entry into the three different arms. Percentage of alternation (number of alternation / maximum possible alternations (the total number of arms entered – 2) x 100) was calculated and compared to 50%, corresponding to the chance value.

#### *2.2.2 Spatial learning, reference memory and cognitive flexibility.*

In a circular pool filled with opaque non-toxic water kept at  $21\pm 2^{\circ}\text{C}$ , mice learned to localize a platform (PF) hidden 0.5cm below the surface. The pool was virtually divided into four equally

quadrants. Visual cues surrounding the maze were displayed on the walls of the testing room. The learning phase consisted of 5 daily sessions, each session having 4 consecutive trials of 60sec performed with a randomized starting point and a 60sec inter-trial interval. If the mouse was unable to reach the PF, it was gently guided and left on it for 15sec. Reference memory was assessed with a 60sec probe-test performed 72h after the last day of learning, during which the PF was removed. One day later, a reversal phase was performed with the same design as the learning phase, but the PF was transferred to the opposite quadrant. Once again, 72h after the last day of reversal, a 60sec probe-test was performed. For all phases of the test, multiple behavioral parameters were video-recorded and automatically analyzed through Noldus® Ethovision software.

#### 2.4 *Ex vivo* electrophysiology.

Mice were anesthetized with isoflurane and decapitated. The brain was rapidly removed, and transverse hippocampal slices (400 $\mu$ m) were prepared in ice-cold artificial CSF (aCSF) and placed in a holding chamber for at least 60min. The composition of aCSF was (in mM): NaCl 124, KCl 3.5, MgSO<sub>4</sub> 1.5, CaCl<sub>2</sub> 2.3, NaHCO<sub>3</sub> 26.2, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.2 and glucose 11 (pH 7.4). A single slice was transferred to the recording chamber and continuously submerged with aCSF pre-gassed with 95%O<sub>2</sub>/5%CO<sub>2</sub> mixture.

Extracellular recordings were obtained at room temperature from the apical dendritic layer of the CA1 area using glass micropipettes (2-5M $\Omega$ ) filled with 2M NaCl. Presynaptic fiber volleys (PFVs) and non-NMDAR-mediated field excitatory postsynaptic potentials (fEPSPs) were evoked at 0.1 Hz by electrical stimulation of Schaffer collaterals and commissural fibers located in the *stratum radiatum*. The averaged slope of three PFVs and fEPSPs was measured using Win LTP software [20]. To evaluate the level of receptor activation of basal synaptic transmission, the fEPSP/PFV ratio was plotted against stimulus intensity (300, 400 and 500 $\mu$ A).

To assess changes in glutamate release, paired-pulse facilitation (PPF) was induced by paired pulse stimulation of afferent fibers with inter-stimulus interval of 30ms. PPF was calculated as the ratio of the slope of the second fEPSP over that of the first one. Specific NMDAR-mediated fEPSPs were isolated in slices perfused with low  $Mg^{2+}$  (0.1mM) containing aCSF and supplemented with the non-NMDA-R antagonist 2,3-dioxo-6-nitro-1,2,3,4-tetrahydrobenzoquinoxaline-7-sulfonamide (NBQX, 10 $\mu$ M). The effect of exogenous D-serine (100 $\mu$ M) was assessed by determining the NMDA-R fEPSP/PFV ratio 15min after the addition of the amino acid to the aCSF.

To assess long-term potentiation (LTP) of synaptic transmission, a test stimulus was applied every 10sec in control aCSF and adjusted to get a fEPSP with a baseline slope of 0.1V/sec. The averaged slope of 3 fEPSPs was measured for 15min before the delivery of a high-frequency stimulation (HFS), consisting of 1 train at 100Hz pulses for 1sec at the test intensity. Testing with single pulse was then resumed for 60min to determine the level of LTP.

All drugs were purchased from Tocris Bioscience (Bristol, UK)

### *2.5 Immunofluorescence labeling.*

After washing in PBS solution (0.1M 3x5min), the sections were placed in a solution composed of blocking agent (Santa Cruz Biotechnology #sc-516214) and triton (0.1%) for 1h at room temperature. The sections were then incubated with the primary antibodies: anti-SR, anti-GFAP and anti-C3 (mouse anti-SR at 1:200, Santa Cruz Biotechnology #sc-365217; rabbit anti-GFAP at 1:1000, Santa Cruz Biotechnology #sc-365217; goat anti-C3 at 1:150, Santa Cruz Biotechnology #sc-55463) overnight at 4°C and still in the solution composed of blocking agent and triton (0.1%). Once washed (0.1M PBS 3x5min), the sections were then incubated for 2h at room temperature with a biotinylated mouse Kappa light chain antibody (Santa Cruz Biotechnology #sc-516142; 1:100) in the blocking solution and 0.1% Triton-100 for 2h. The

sections were then washed in 0.1M PBS 3x5min, followed by incubation with the secondary antibodies (Streptavidin Alexa Fluor 647 at 1:2500, Thermo Fisher #S21374; donkey anti-rabbit alexa 488 at 1:500, Thermo Fisher #A21206; donkey anti-goat alexa 568 at 1:500, Thermo Fisher #A11057) at room temperature for 2h. A PSB wash (0.1M 3x5min) was then performed before incubation of the brain sections with a cell nucleus marker (Hoechst 33342 at 1:5000, Thermo Fisher #H3570), followed by a final PSB wash (0.1M 3x5min) before mounting on slides and coverslips.

### *2.6 HPLC analysis of brain amino acids.*

Mice were anesthetized with isoflurane and killed by decapitation. Hippocampi as well as cerebral and cerebellar cortices were rapidly dissected and the samples homogenized in 5% TCA (10 vol) and quickly frozen at -80°C. HPLC analysis was then performed as previously described [21], except that D-amino adipic acid was substituted for L-homocysteic acid as the internal standard.

### *2.7 Data analysis.*

Results are expressed as the mean±S.E.M or median±mini/max. After assessment of data normality (Shapiro-Wilk test), a repeated measure or one-/two-way ANOVA followed by Bonferroni or Dunnett T3 multiple comparison tests was performed. If necessary, a Kruskal-Wallis, with Dunn's multiple comparison test, or a Mann Whitney test were used. Univariate t-test or Wilcoxon test had also performed. In all cases, differences were considered significant when  $P < 0.05$ .

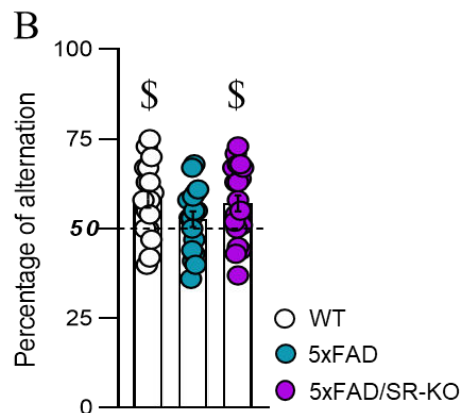
### 3. Results

Because cognitive and functional properties of SR-KO mice have already been considered previously [22], they have not been included below in the respective panels of results.

Moreover, hippocampal A $\beta$  levels (including forms 40 and 42) were assessed in the different genotypes. In order to facilitate the reading of the article these results have been included in the supplementary results section (Figures S1 and S2). As reported in the literature [18, 23-25], 5xFAD mice show a significant and progressive increase in amyloid load compared to WT mice and no changes in A $\beta$  levels are found when SR is deleted in 5xFAD/SR-KO mice.

#### 3.1 Cognitive abilities.

Immediate working memory was first evaluated using the Y maze (Figure 1).

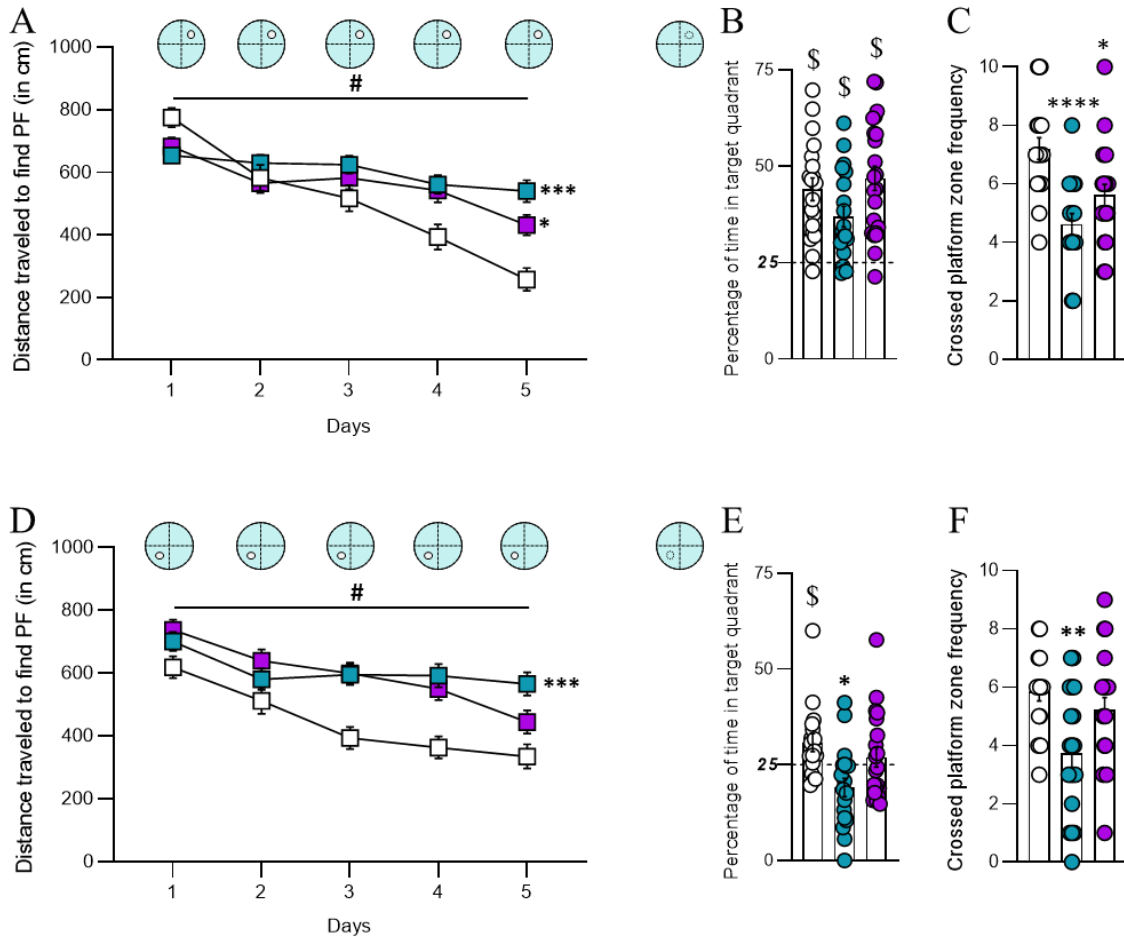


**Figure 1: Deficit of working memory in 5xFAD mice is prevented by SR deletion.**

Bar graphs with mean  $\pm$  SEM illustrating the working memory assessed in WT (n=18), 5xFAD (n=18) and 5xFAD/SR-KO mice (n=21) (\$ P<0.05 univariate t-test compared to 50% chance value).

In contrast to WTs, 5xFAD mice did not show a percentage of spontaneous alternation significantly above the 50% chance value (Figure 1). Interestingly, this alteration was not found in 5xFAD/SR-KO mice, suggesting a significant involvement of D-serine in the deficit of immediate working memory promoted by amyloidogenesis.

Spatial learning, reference memory and cognitive flexibility were then assessed with Morris Water Maze (MWM; Figure 2).



**Figure 2: Spatial learning and cognitive flexibility deficits in 5xFAD mice are partially prevented by SR deletion**

**A.** Time-course of the swimming distance during the 5 days of spatial learning in WT (n=19), 5xFAD (n=19) and 5xFAD/SR-KO mice (n=22) (# for P<0.05 between the first and last day with ANOVA repeated measures and \* P<0.05; \*\*\* P<0.001 compared to WT mice for the distance in the last day of training ANOVA one-way with Dunnett T3 multiple comparisons compared to WT mice). **B.** Bar graphs with mean  $\pm$  SEM illustrating the percentage of time in the target quadrant assessed during the first probe-test (\$ P<0.05 vs. 25% with univariate t-test). **C.** Bar graphs with mean  $\pm$  SEM illustrating the frequency to cross the platform zone in the first probe-test (\* P<0.05, \*\*\* P<0.001 compared to WT mice ANOVA one-way with Dunnett T3 multiple comparisons compared to WT mice). **D.** Time-course of the spatial learning flexibility after changing the location of the platform (# P<0.05 between the first and last day with ANOVA repeated measures and \*\*\* for P<0.001 compared to WT mice ANOVA one-way with Dunnett T3 multiple comparisons for the distance in the last day of relearning). **E.** Bar graphs with mean  $\pm$  SEM illustrating the percentage of time in the target quadrant assessed during the second probe test (\$ P<0.05 vs. 25% with univariate t-test and \*\* P<0.01 ANOVA one-way with Dunnett T3 multiple comparisons). **F.** Bar graphs with mean  $\pm$  SEM illustrating the frequency to cross the platform zone in the second probe test (\*\* P<0.01 compared to WT mice ANOVA one-way with Dunnett T3 multiple comparisons).

Swimming distance travelled to find the hidden platform significantly decreased across the 5 days of training in all experimental groups (between the first and last day, ANOVA repeated measures), indicating that learning occurred in all genotypes (Figure 2A). However, the mean distance calculated in the last day of training was significantly longer in 5xFAD compared to WT mice (ANOVA one-way with Dunnett T3 multiple comparisons) showing lower performances in conditions of high levels of A $\beta$  (Figure 2A). Interestingly, the mean distance was also longer in 5xFAD/SR-KO compared to WT mice but the deficit was less pronounced than in 5xFAD animals (ANOVA one-way with Dunnett T3 multiple comparisons). These results therefore suggest that D-serine contribute to some extent in the weaker learning efficiency promoted by amyloidogenesis.

Concerning the reference memory, the time spent in the target quadrant in the first probe-test performed 72h after the last training, was significantly above the chance value (25%) in all experimental groups (Figure 2B). However, the frequency to cross the platform zone (Figure 2C) was significantly weaker in 5xFAD compared to WT mice (ANOVA one-way with Dunnett T3 multiple comparisons). A reduced frequency was also found in 5xFAD/SR-KO mice although less marked than in 5xFAD animals (ANOVA one-way with Dunnett T3 multiple comparisons). These results thus indicate lower performances in reference memory associated with high A $\beta$  levels partly involving a D-serine-dependent process.

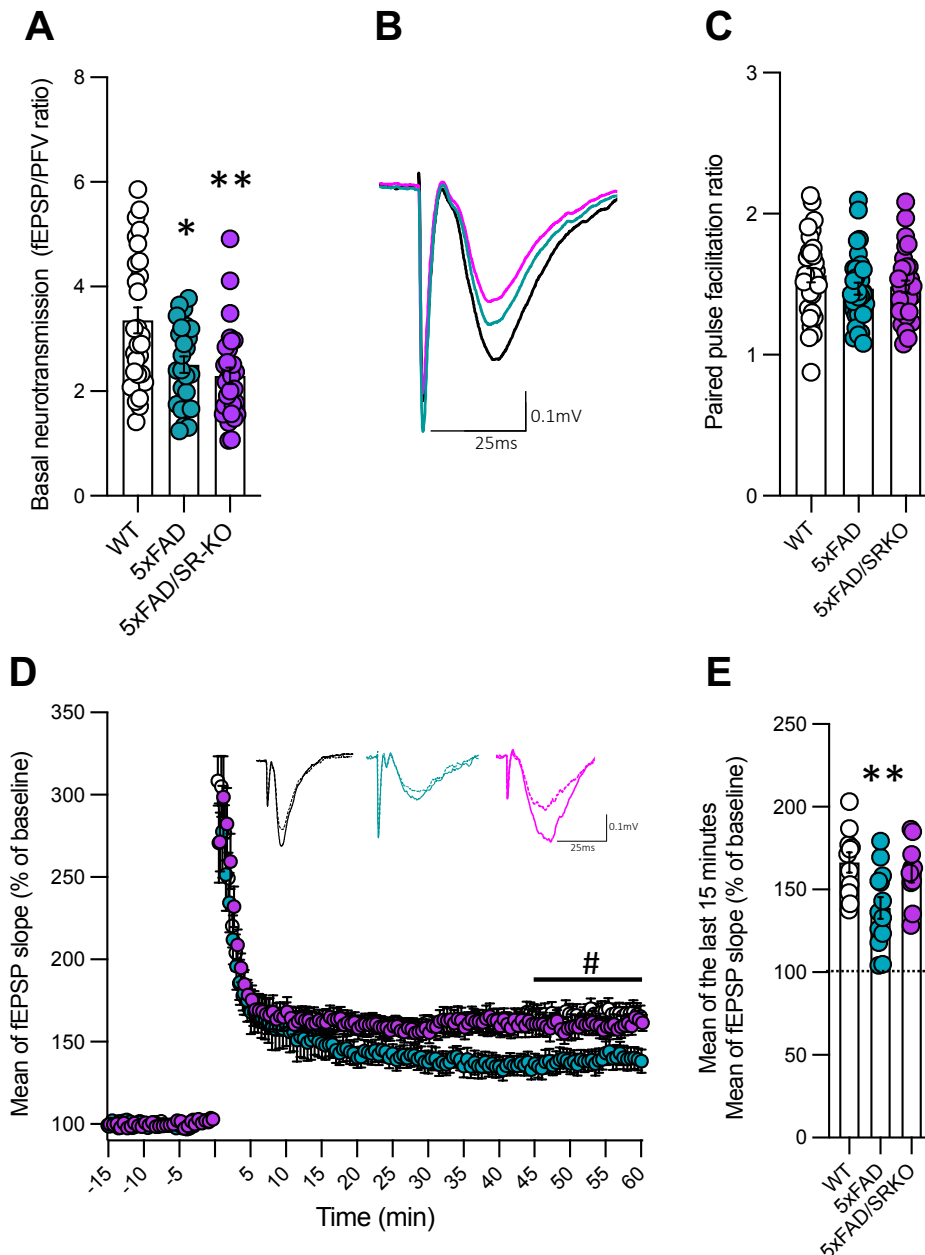
Then after, cognitive flexibility was investigated by moving the platform to opposite quadrant. A reversal learning occurred in all experimental groups, as illustrated by the decrease in the distance to reach the target across days (Figure 2D). Nevertheless, 5xFAD mice – but not 5xFAD/SR-KO mice – showed significantly lower learning capacity compared to WTs (ANOVA one-way with Dunnett T3 multiple comparisons). These data indicate that D-serine contribute to the deficit of cognitive flexibility driven by elevated A $\beta$  levels. Accordingly, 5xFAD mice exhibited poor percentage of time in the target quadrant and a frequency to cross



the platform zone significantly during the probe-test (Figure 2F). Of note, spatial memory performances of 5xFAD/SR-KO mice were similar to those of WT mice.

### 3.3 Functional properties of CA1 hippocampal networks.

Cognitive abilities are linked to brain capacity to drive synaptic plasticity within neuronal networks [26]. We therefore looked for changes in functional properties at CA3/CA1 hippocampal connections induced by the elevation of A $\beta$  levels and asked for the possible contribution of D-serine in the alterations.



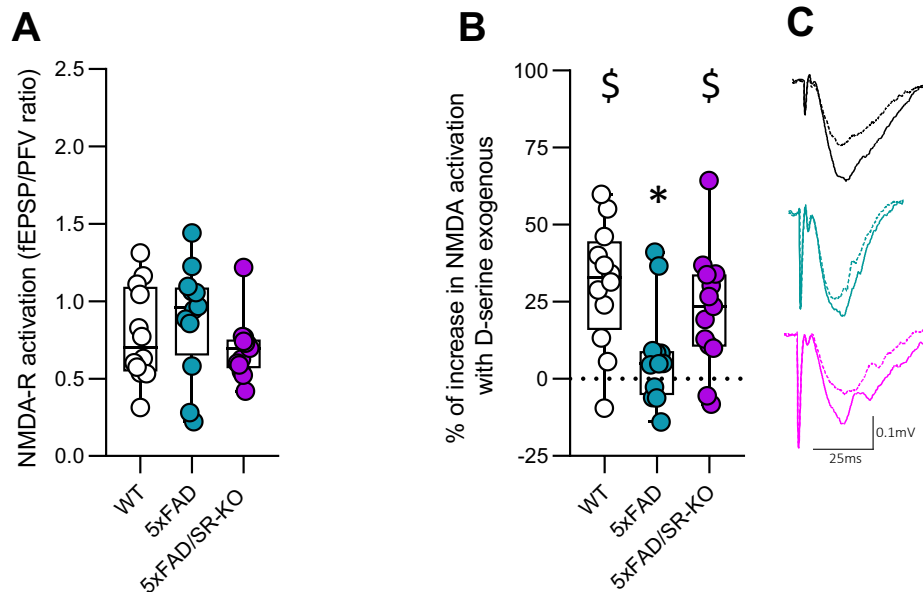
**Figure 3: Impairment of synaptic plasticity but not basal neurotransmission in 5xFAD mice is prevented by SR deletion.**

**A.** Bar graphs with mean  $\pm$  SEM comparing the basal synaptic transmission calculated as the fEPSP/PFV ratio at 400 $\mu$ A stimulation intensity in the 3 experimental groups aged 10-12 months (WT n=28 slices, 5xFAD, n=27 slices, 5xFAD/SR-KO n=30 slices; \* P<0.05, \*\* P<0.01 compared to WT mice one-way ANOVA with Dunnett T3 multiple comparisons). **B.** In the inserts are superimposed representative traces obtained in each experimental group for the basal synaptic transmission. **C.** Bar graphs with mean  $\pm$  SEM comparing the paired-pulse facilitation ratio (WT n=32 slices, 5xFAD, n=39 slices, 5xFAD/SR-KO n=27 slices; one-way ANOVA). **D.** Time-course of LTP induced by 1x100 Hz tetanus (arrow) in all groups aged 10-12 months (# P<0.05 with one sample t test compared to baseline of 100 on the 15 last minutes for each group). In the insert is superimposed representative traces obtained before and 60min after the conditioning stimulation. **E.** Bar graphs with mean  $\pm$  SEM comparing the LTP magnitude determined for the last 15min of recording (WT n=11 slices, 5xFAD, n=13 slices, 5xFAD/SR-KO n=10 slices; \*\* P<0.01 compared to WT mice two-way ANOVA in 15 last minutes and Bonferroni multiple comparisons test).

As previously reported [27], basal synaptic transmission at CA3/CA1 synapses was significantly depressed in 5xFAD mice compared to WTs regardless the intensity of stimulation (300 to 500 $\mu$ A) used to activate the glutamate afferences (one-way ANOVA with Dunnett T3 multiple comparisons; Figure 3A). A similar significant deficit was observed in 5xFAD/SR-KO mice indicating that D-serine is not involved in the impairment of basal synaptic transmission driven by elevated A $\beta$  levels. Besides, the PPF ratio was similar in the three groups of animals (Figure 3B), showing that the depressed basal neurotransmission by A $\beta$  does not involve a presynaptic defect in glutamate release.

Regarding functional plasticity, all experimental groups expressed significant LTP 60min after the conditioning stimulation (one sample t test compared to baseline of 100 during the last 15min). However, it is worth notice that LTP magnitude was significantly reduced in 5xFAD mice (ANOVA two-way, with multiple comparisons; Figure 3D). Interestingly, such a deficit in LTP expression was not found in 5xFAD/SR-KO mice (Figure 3D), indicating that D-serine is involved in the alteration of functional plasticity at CA3/CA1 synapses when A $\beta$  levels are elevated.

Because LTP expression is closely linked to NMDA-R activation [28-32], NMDAR-fEPSPs have then been isolated and compared in all genotypes.



**Figure 4: The deficit of synaptic NMDA-R recruitment in 5xFAD mice is prevented by SR deletion.**

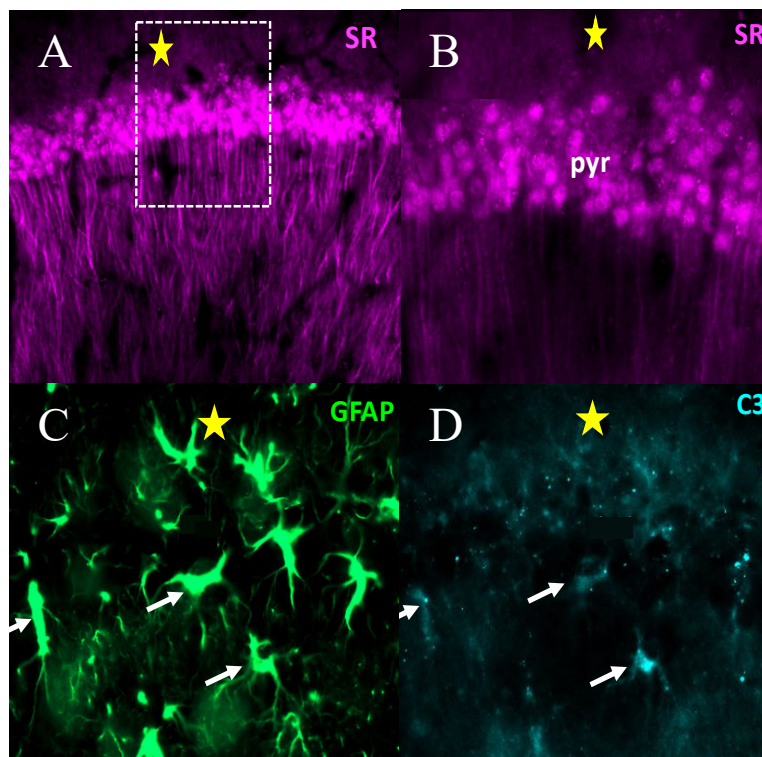
**A.** Box plot with the median  $\pm$  mini/max illustrating the fEPSP/PFV ratio calculated for 400 $\mu$ A stimulation intensity of isolated NMDA-R fEPSPs from slices of WT (n=12), 5xFAD (n=12) and 5xFAD/SR-KO (n=13) (Kruskal-Wallis test) **B.** Box plot with the median  $\pm$  mini/max illustrating the percentage increase in fEPSP/PFV ratio by the addition of a saturating dose (100 $\mu$ M) of D-serine (\$ P<0.05 one sample Wilcoxon test vs. 0 for each group and \* P<0.05 compared to WT mice Kruskal-Wallis with Dunn's multiple comparisons test). **C.** Superimposed respective traces obtained in the three groups before and 15min after D-serine supplementation

As illustrated in Figure 4A for a 400 $\mu$ A stimulation intensity, no significant difference of the isolated NMDA-R fEPSP/PFV ratio was found between the 3 groups (Kruskal-Wallis test). A similar result was obtained for the three stimulation intensities suggesting that basal NMDA-R activation is not affected in 5xFAD mice. Nevertheless, not all synaptic NMDA-R are recruited by the stimulation in basal conditions, that is only achieved by adding saturating concentrations of D-serine (100 $\mu$ M) in the aCSF [33]. In those conditions (Figure 4B), WT but not 5xFAD mice showed a significant increase in NMDA-R activation (one sample Wilcoxon test vs. 0 for

each group). Interestingly, such a weaker recruitment of synaptic NMDAR was not observed in 5xFAD/SR-KO mice (Figure 4B), providing functional evidence that D-serine participates in the reduction of synaptic NMDA-R recruitment driven by A $\beta$  elevation.

### 3.4 Phenotype of the tripartite CA3/CA1 synapses

LTP deficit was recently reported in the hippocampus of a rat model of AD, which could result from a deleterious elevation of D-serine promoted by induction of SR expression in reactive astrocytes [15]. To assess whether similar mechanisms could also occur in the 5xFAD mouse model, immunohistochemical studies of astrogliosis coupled with SR expression were conducted.

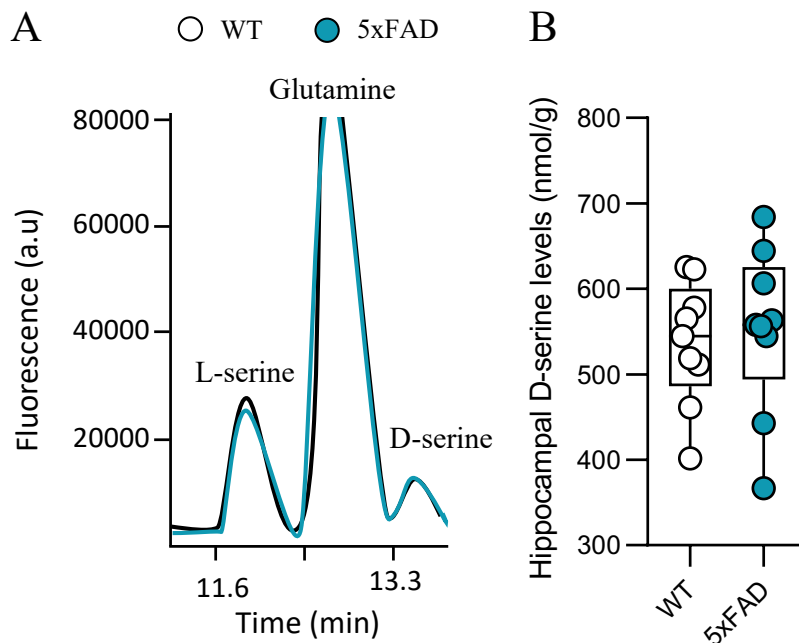


**Figure 5: Limited astrogliosis without astrocytic SR expression occurs in 10–12-month-old 5xFAD mice hippocampus.**

Microscopic photograph of a cross-section of hippocampal CA1 subregion (A). The dotted boxed region with the yellow star was expanded to detail the stains of SR (B, pink), astrocytes (C, green) and compound C3 (D, blue) of a 10-12 months-old 5xFAD mouse. The arrows indicate reactive astrocytes in which GFAP and C3 colocalize.

Immunochemical labeling in CA1 hippocampal region of 5xFAD mice (Figure 5A) showed that SR was predominantly expressed in pyramidal cells (Figure 5B). Only few reactive astrocytes co-expressing GFAP labeling and the C3 marker (Figure 5C-D) were found in each animal indicating limited astrogliosis in these mice. In addition, these few reactive astrocytes did not express SR labeling indicating that in contrast to the rat AD model [15 Balu et al., 2019], no SR promotion due to reactive astrogliosis take place in the 5xFAD mice.

In parallel, levels of D-serine in hippocampal tissues of WT and 5xFAD mice have been determined using HPLC analysis (Figure 6A) that did not show significant modification between the two experimental groups (Figure 6B, Mann-Whitney test).



**Figure 6: No change in hippocampal D-serine levels occurs in 5xFAD mice.**

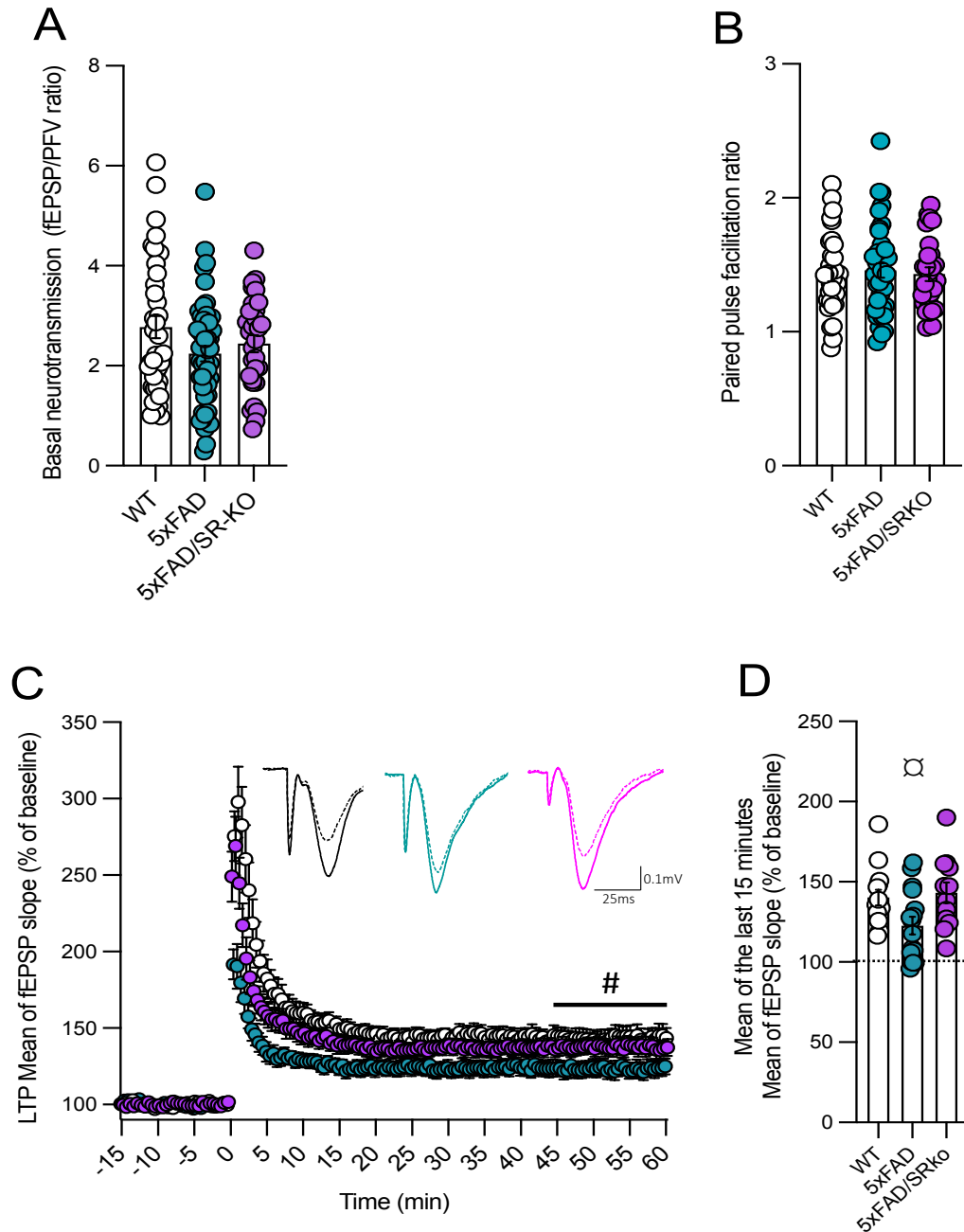
**A.** Representative amino acid chromatogram obtained showing the peaks relative to the elution of L-serine (L-Ser), glutamine (Gln) and D-serine (D-Ser) in mice aged of 10-12 months. **B.** Box plot with median  $\pm$  mini/max of D-serine concentrations (in nmol/g of tissue, WT n=9, 5xFAD n=9; Mann-Whitney test).

Taken together, these results strongly suggest that D-serine should work upstream to 10-12 months of age in the  $\beta$ -amyloid-related pathophysiology. We therefore conducted experiments

in 3-4 months-old 5xFAD mice in which synaptic changes have already been reported in the literature [34].

### *3.5 Characterization of 3-4 months-old 5xFAD mice.*

Concerning functional properties of CA1 hippocampal networks, only a slight but not significant reduction in basal synaptic transmission was found in both 5xFAD and 5xFAD/SR-KO mice (Figure 7A, one-way ANOVA), while PPF ratio still did not show any differences between groups (Figure 7B, one-way ANOVA). Although LTP expression occurred in all experimental groups (Figure 7C, one sample t test compared to baseline during the last 15min), statistical analysis reveals that LTP magnitude was marginally reduced in 5xFAD mice compared to WT animals (ANOVA two-way, with multiple comparisons;  $P=0.056$ ; Figure 7D), but not affected in 5xFAD/SR-KO mice.

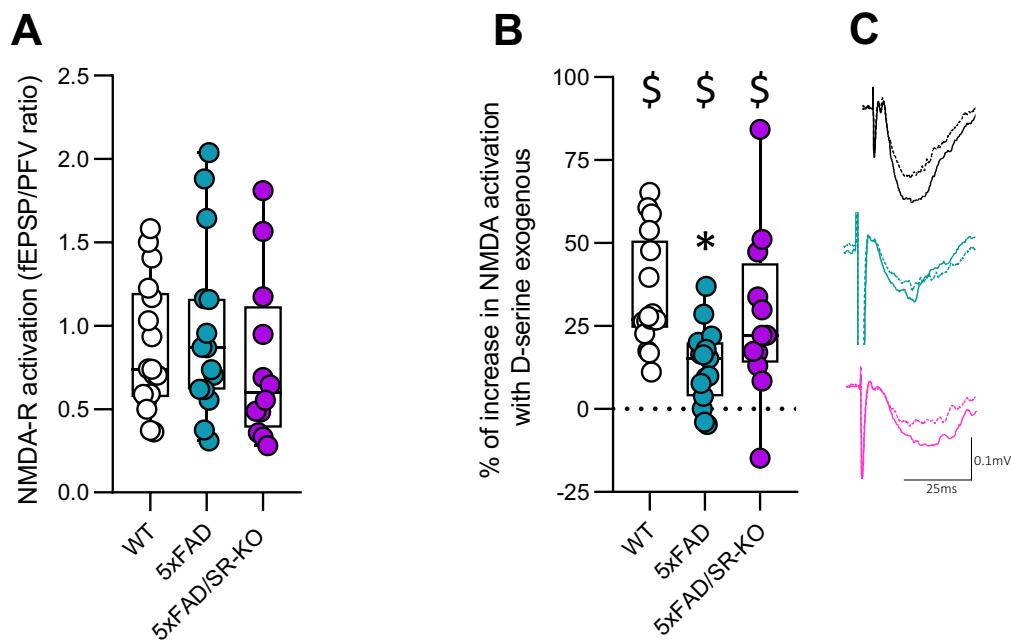


**Figure 7: Weak synaptic plasticity impairment in 5xFAD mice at 3-4 months is prevented by SR deletion.**

**A.** Bar graphs with mean  $\pm$  SEM comparing the basal synaptic transmission calculated as the fEPSP/PFV ratio at 400 $\mu$ A stimulation intensity in the 3 experimental groups aged 3-4 months (WT n=38 slices, 5xFAD, n=48 slices, 5xFAD/SR-KO n=31 slices, one-way ANOVA). **B.** Bar graphs with mean  $\pm$  SEM comparing the paired-pulse facilitation ratio (WT n=32 slices, 5xFAD, n=39 slices, 5xFAD/SR-KO n=27 slices; ANOVA). **C.** Time-course of LTP induced by 1x100 Hz tetanus (arrow) in all groups aged 3-4 months (# P<0.05 with one sample t test compared to baseline of 100 on the 15 last minutes, for each group). In the inserts are superimposed representative traces obtained in each experimental group before and 60min after the conditioning stimulation. **D.** Bar graphs with mean  $\pm$  SEM comparing the LTP magnitude determined for the last 15min of recording with WT n=14 slices, 5xFAD n=16 slices, 5xFAD/SR-KO n=12 slices ( $\square$  P=0.06 compared to WT mice with two-way ANOVA in 15 last

minutes and Bonferroni multiple comparisons test). In the insert is superimposed representative traces obtained before and 60min after the conditioning stimulation.

Recordings of isolated NMDAR-fEPSPs did not reveal significant differences of the fEPSP/PFV ratio between groups in basal conditions, as found in 10-12 months-old animals (Figure 8A). At difference with older mice, adding D-serine significantly increased NMDA-R activation in all experimental groups at this age (one sample Wilcoxon test vs. 0, Figure 8B) but the percentage increase remained significantly weaker in 5xFAD compared to WT mice (Kruskal-Wallis with Dunn's multiple comparisons test). Such a weaker recruitment of synaptic NMDA-R was not observed in 5xFAD/SR-KO mice (Figure 8B).

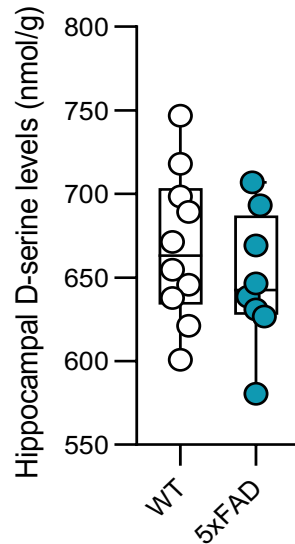


**Figure 8: Decrease in synaptic NMDA-R recruitment in 3-4 months-old 5xFAD mice is prevented by SR deletion.**

**A.** Box plot with the median  $\pm$  mini/max illustrating the fEPSP/PFV ratio calculated for 400 $\mu$ A stimulation intensity of isolated NMDA-R fEPSPs from slices of WT (n=17), 5xFAD (n=15) and 5xFAD/SR-KO (n=12) mice (Kruskal-Wallis test). **B.** Box plot with the median  $\pm$  mini/max illustrating the percentage of increase in fEPSP/PFV ratio by the addition of a saturating dose of D-serine (100 $\mu$ M) calculated for a 400 $\mu$ A stimulation intensity (\$ P<0.05 one sample Wilcoxon test vs.0 for each group and \* P<0.05 compared to WT mice with Kruskal-Wallis with Dunn's multiple comparisons test). **C.** Superimposed respective traces obtained in the three groups before and 15min after D-serine supplementation.



Finally, HPLC analysis of hippocampal amino acid contents did not show significant changes in hippocampal D-serine between WT and 5xFAD mice (Figure 9; Mann-Whitney test).



**Figure 9: No significant change in hippocampal D-serine content occur in 3–4-months-old 5xFAD mice.**

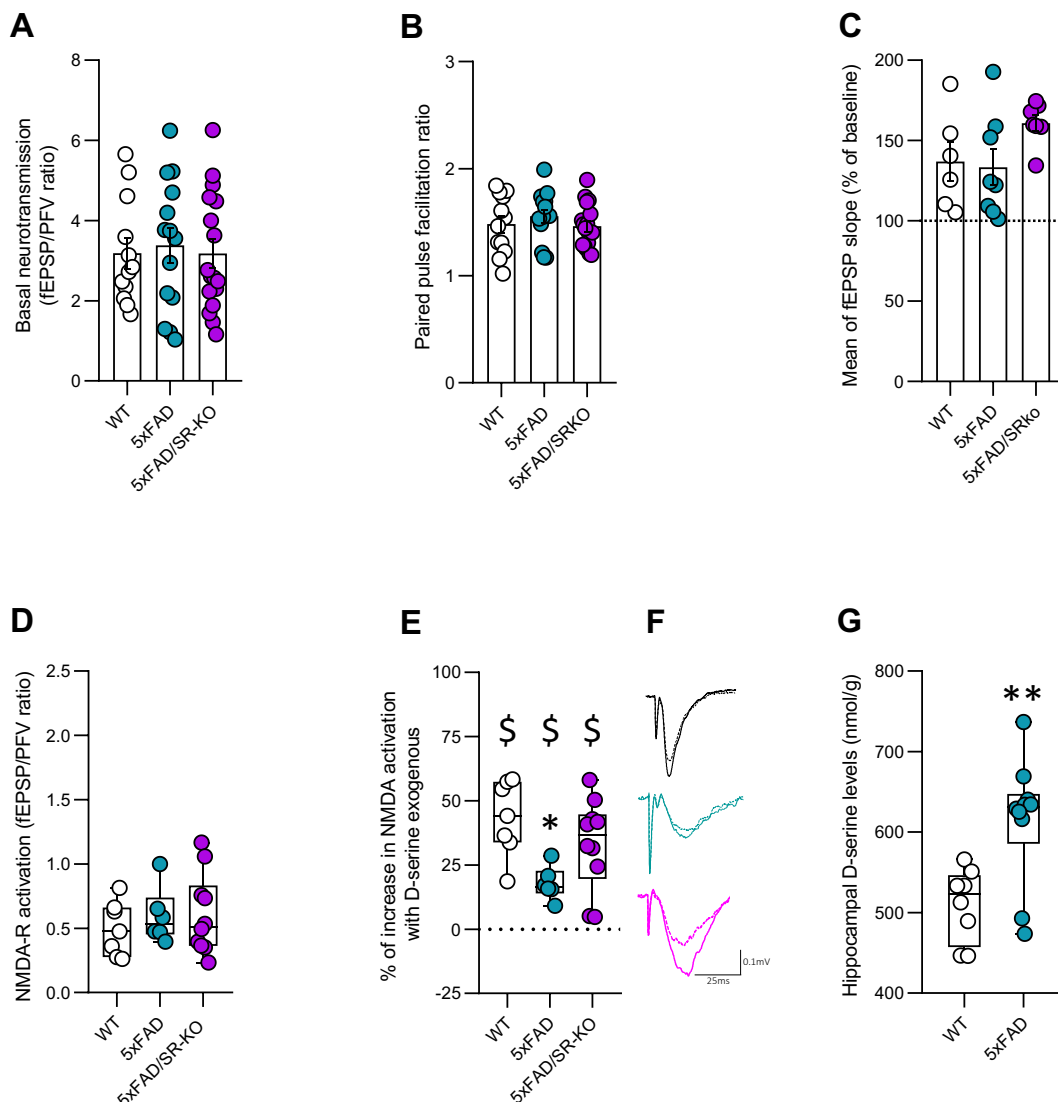
Box plot with median  $\pm$  mini/max of D-serine concentrations (in nmol/g of tissue, WT n=10, 5xFAD n=8 with Mann-Whitney test).

In contrast to these functional alterations at hippocampal synapses, it was worth notice that 3-4 months-old 5xFAD showed limited if any deficits in the same behavioural tasks as investigated in older mice (data not illustrated).

Taking together, these results indicate that D-serine-related deficits of NMDA-R dependent activity at CA3/CA1 hippocampal synapses are already present in 3-4 months-old 5xFAD mice, although the degree of impairment is weaker than in older mice. Because hippocampal D-serine contents remain unaffected compared to WT mice at this age, we looked for earlier involvement of the amino acid and particularly in 1.5-2 months-old animals when A $\beta$  levels exponentially rise (18, 23-25).

### 3.6 Characterization of 1.5-2 months-old 5xFAD mice.

Basal neurotransmission, paired-pulse facilitation, LTP expression and basal NMDA-R activation were comparable at CA3/CA1 hippocampal synapses in all experimental groups (Figure 10A-D). Conversely, the percent increase in NMDA-R activation by D-serine was already significantly reduced in 5xFAD mice, that was not observed in 5xFAD/SR-KO mice (Kruskal-Wallis with Dunn's multiple comparisons test, Figure 10E). Interestingly, the determination of hippocampal amino acid contents showed that in the 1.5-2 months-old 5xFAD mice, D-serine levels were significant higher compared to WT mice (Mann-Whitney Figure 10F).



**Figure 10: NMDA-R recruitment is impacted in 1.5-2 months-old 5xFAD mice that is prevented by SR deletion.**

**A.** Bar graphs with mean  $\pm$  SEM illustrating the basal synaptic transmission calculated as the fEPSP/PFV ratio at 400 $\mu$ A stimuli intensity in slices from WT (n=12), 5xFAD (n=14) and 5xFAD/SR-KO (n=17) mice of 1,5-2-month-old. In the insert is superimposed representative traces of non-NMDAR-mediated fEPSPs obtained in the 3 experimental groups. **B.** Bar graphs with mean  $\pm$  SEM comparing paired-pulse facilitation ratio in slices from WT (n=12), 5xFAD (n=14) and 5xFAD/SR-KO (n=17) mice. **C.** Bar graphs with mean  $\pm$  SEM depicting LTP magnitude determined for the last 15min of recording in slices from WT (n=6), 5xFAD (n=8) and 5xFAD/SR-KO (n=7) mice. **D.** Bar graphs with mean  $\pm$  SEM illustrating the fEPSP/PFV ratio at 400 $\mu$ A stimulation intensity of isolated NMDA-R synaptic potentials in slices from WT (n=7), 5xFAD (n=6) and 5xFAD/SR-KO (n=10) mice. **E.** Box plot with the median  $\pm$  mini/max illustrating the percentage increase in NMDA-R fEPSP/PFV ratio after addition of a saturating dose of D-serine (100 $\mu$ M) calculated for a 400 $\mu$ A stimulation intensity ( $\$ P < 0.05$  with one sample Wilcoxon test vs. 0 and \*  $P < 0.05$  compared to WT mice Kruskal-Wallis with Dunn's multiple comparisons test). **F.** Superimposed respective traces obtained in the 3 groups before and 15min after D-serine supplementation. **G.** Box plot with median  $\pm$  mini/max of D-serine concentrations respectively (in nmol/g of tissue). Compared to WT mice, D-serine was significant increase in 5xFAD aged of 1.5-2 months (WT n=9 and 5xFAD n=9) \*\*  $P < 0.01$ ; Mann-Whitney for each amino acid).

Taken together, these results indicate that an early increase in D-serine availability takes place in 5xFAD mice that is concomitant to the A $\beta$  rise and which is associated with a reduced recruitment of synaptic NMDA-R at CA3/CA1 hippocampal connections.

#### 4. Discussion

Currently, a better understanding of AD-related pathophysiology - especially at early stages of the disease - is crucial to develop biomarkers and effective therapeutic strategies. Extensive preclinical studies point out an early contribution of amyloid-induced synaptic damages in AD-related cognitive deficits [37, 38] in which the amino acid D-serine could be involved (reviewed in [11]). In the present study, we provide new evidence that D-serine removal prevents several cognitive deficits and functional impairment in the 5xFAD mouse model of AD displaying increased amyloidogenic context. On the one hand, hippocampal D-serine levels transiently increase in these mice when the A $\beta$  load starts to exponentially rise [18, 23-25]. On the other hand, these modifications are closely linked to a reduced recruitment of NMDA-R at CA3/CA1 hippocampal synapses. Together our data argue for an early deleterious role of D-serine that would progressively deregulate NMDA-R activation and related functional synaptic plasticity, leading to later cognitive decline.

As previously reported [34, 39], massive amyloidogenesis has been found in the 5xFAD mouse model of AD. This is characterized by an initial increase in A $\beta$  levels starting 1.5-2 months after birth [18; 23-25] that continuously rises throughout lifetime. This rise is associated with cognitive deficits in aged 10-12 months-old mice. as confirmed in this study, including impairments of working memory and spatial learning, as well as defects in cognitive flexibility. Importantly, our study indicates that most of these cognitive deficits was completely or partially prevented when D-serine was removed by genetic deletion of the synthesizing enzyme SR. Considering that SR elimination *per se* does not affect those cognitive processes [22], we can propose a significant involvement of D-serine in cognitive deficits related to the  $\beta$ -amyloid pathology.

Now the questions of the mechanisms as well as the timing underlying this involvement may be asked. D-serine is required for NMDA-R activation and the expression of synaptic plasticity such as LTP [40], a functional property of neuronal networks suggested to underlie learning and memory [29]. Here, we show that aged memory-impaired 5xFAD mice have impaired LTP and reduced NMDA-R recruitment at hippocampal CA3/CA1 synapses. Although to a weaker degree, these functional alterations are already present in younger (3-4 months-old) mice confirming that  $\beta$ -amyloid-dependent synaptic failures occur well before cognitive alterations. Previous electrophysiological studies do not report LTP alterations in 5xFAD mice younger than 6 months of age [41]. A difference in the genetic background could be a reasonable explanation since we maintained our 5xFAD mice on a pure C57Bl/6 line while others used a B6/SJL background, that may modify the onset and progression of the pathological features. Accordingly, a recent study [34] in the same line as we used also found LTP impairment in 4-5 months-old mice.

The decreased recruitment of synaptic NMDA-R in 5xFAD mice agrees with a mechanism of receptor endocytosis promoted by  $A\beta$  previously proposed in both preclinical and clinical studies [37, 42, 43]. Indeed, evidence has been provided to show that  $A\beta$  may primarily stimulate extra-synaptic NMDA-R by increasing ambient glutamate levels, thus promoting endocytosis of glutamate receptors at synaptic junctions [see 44]. However, we show here that the weaker synaptic NMDA-R recruitment is not found in 5xFAD mice with a concomitant SR deletion, while the deficit starts in FAD mice when both  $A\beta$  load and D-serine levels increase concomitantly. Interestingly, long lasting application of D-serine was reported to prime a NMDA-R clathrin-dependent endocytosis [45]. We can therefore hypothesize that this priming is activated in 5xFAD mice by the  $A\beta$ -induced increase in the amino acid, leading a progressive reduction of recruitable synaptic NMDA-R and consequently of the expression of functional plasticity in neuronal networks. Nevertheless, the possibility that both D-serine

dependent and independent mechanisms occur in AD-related pathophysiology to impact synaptic NMDA-R activity cannot be totally ruled out.

The question of the mechanism underlying the rise of D-serine driven in 5xFAD mice by the amyloid processes has to be considered. On the one hand, first *in vitro* studies report that A $\beta$  can stimulate SR expression and D-serine release through different inflammatory stimuli [12, 13]. More recently, reactive astrocytes in AD patients and in a rat model of the disease have been shown to express SR and release D-serine that do not occur in control conditions [15]. However, these mechanisms can be discarded in our study since the increase in D-serine occurs early in 5xFAD mice before any signs of neuroinflammation. In addition, only few reactive astrocytes were observed in the 10-12 months-old mice, and they did not express SR while the D-serine content was not different from controls.

On the other hand, recent evidence indicates that the Asc-1 subtype of neutral amino acid transporters mainly support the D-serine release from neurons [46]. The possibility that the rise of A $\beta$  in 5xFAD mice could transiently facilitate the activity of these transporters and thus increase the synaptic availability of D-serine is currently under investigation.

Compelling the results of the present study and the data available in the literature [15], we can thus hypothesize a dual contribution of D-serine in AD-related pathophysiology, with an early participation associated with the onset of the amyloidogenesis and a later involvement linked to the development of inflammatory processes.

Despite our study argues for a significant role of D-serine in deficits driven by amyloidogenesis, other mechanisms independent of the amino acid are certainly concerned without any doubt. Indeed, several cognitive and functional impairments such as those affecting spatial learning, reference memory or basal neurotransmission mediated by non-NMDA-R at

CA3/CA1 hippocampal synapses, are not totally prevented in 5xFAD mice by the concomitant SR deletion. Accordingly, new recently discovered A $\eta$  peptides deriving from an alternative  $\eta$ -Secretase processing of the amyloid precursor protein, were found to affect synaptic functioning in hippocampal neuronal networks [47] that could account for the remaining deficits displayed by 5xFAD mice with SR deletion.

Our study in 5xFAD mice favors the hypothesis of a deleterious impact of increased D-serine levels in AD-related pathology, which is consistent with previous investigations in other murine models of the pathology including APPSwe/PS1 $\Delta$ E9 transgenic mice [16] and TgF344-AD rats [15]. Nevertheless, it is opposite to data indicating that memory deficits in 3xTG mouse model could result from an altered astrocytic glycolysis inducing a reduced production of the precursor L-serine and consequently of D-serine [17]. This controversy clearly shows the complexity of the animal used to assess the pathophysiology of AD patients. For example, the 3xTG mouse model displays significant tau pathology but reduced amyloidogenesis and neurodegeneration compared to 5xFAD mice [18, 48]. Furthermore, the onset and time course of the respective pathological features may differ between models. Keeping these limits in mind and considering the data presented here, we reasonably think that the possibility of using oral L-serine as a ready-to-use therapy for AD [17] should be considered with caution.

**Acknowledgment:** The project was fully supported by the France Alzheimer foundation (contrat n°1480), and by the regional council of Normandy. H.W. is supported by the Israel Science Foundation (#337/19) and the Allen and Jewel Prince Center for Neurodegenerative Diseases.

## REFERENCES

- 1 Selkoe, Dennis J., et John Hardy. « The Amyloid Hypothesis of Alzheimer's Disease at 25 Years ». *EMBO Molecular Medicine* 8, n° 6 (juin 2016): 595-608. <https://doi.org/10.15252/emmm.201606210>.
- 2 Cline, Erika N., Maira Assunção Bicca, Kirsten L. Viola, et William L. Klein. « The Amyloid- $\beta$  Oligomer Hypothesis: Beginning of the Third Decade ». *Journal of Alzheimer's Disease: JAD* 64, n° s1 (2018): S567-610. <https://doi.org/10.3233/JAD-179941>.
- 3 Traynelis, Stephen F., Lonnie P. Wollmuth, Chris J. McBain, Frank S. Menniti, Katie M. Vance, Kevin K. Ogden, Kasper B. Hansen, Hongjie Yuan, Scott J. Myers, et Ray Dingledine. « Glutamate Receptor Ion Channels: Structure, Regulation, and Function ». *Pharmacological Reviews* 62, n° 3 (septembre 2010): 405-96. <https://doi.org/10.1124/pr.109.002451>.
- 4 Paoletti, Pierre, Camilla Bellone, et Qiang Zhou. « NMDA Receptor Subunit Diversity: Impact on Receptor Properties, Synaptic Plasticity and Disease ». *Nature Reviews. Neuroscience* 14, n° 6 (juin 2013): 383-400. <https://doi.org/10.1038/nrn3504>.
- 5 Hardingham, Giles E. « Coupling of the NMDA Receptor to Neuroprotective and Neurodestructive Events ». *Biochemical Society Transactions* 37, n° Pt 6 (décembre 2009): 1147-60. <https://doi.org/10.1042/BST0371147>.
- 6 Malinow, Roberto. « New developments on the role of NMDA receptors in Alzheimer's disease ». *Current opinion in neurobiology* 22, n° 3 (juin 2012): 559-63. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2011.09.001>.
- 7 McBain, C. J., N. W. Kleckner, S. Wyrick, et R. Dingledine. « Structural Requirements for Activation of the Glycine Coagonist Site of N-Methyl-D-Aspartate Receptors Expressed in *Xenopus* Oocytes ». *Molecular Pharmacology* 36, n° 4 (octobre 1989): 556-65.
- 8 Le Bail, Matildé, Magalie Martineau, Silvia Sacchi, Natalia Yatsenko, Inna Radzishevsky, Sandrine Conrod, Karima Ait Ouares, et al. « Identity of the NMDA Receptor Coagonist Is Synapse Specific and Developmentally Regulated in the Hippocampus ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 112, n° 2 (13 janvier 2015): E204-213. <https://doi.org/10.1073/pnas.1416668112>.
- 9 Wolosker, H., K. N. Sheth, M. Takahashi, J. P. Mothet, R. O. Brady, C. D. Ferris, et S. H. Snyder. « Purification of Serine Racemase: Biosynthesis of the Neuromodulator D-Serine ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 96, n° 2 (19 janvier 1999): 721-25. <https://doi.org/10.1073/pnas.96.2.721>.
- 10 Billard, Jean-Marie. « D-Serine in the Aging Hippocampus ». *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 116 (10 décembre 2015): 18-24. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2015.02.013>.
- 11 Ploux, E., T. Freret, et J.-M. Billard. « D-Serine in Physiological and Pathological Brain Aging ». *Biochimica Et Biophysica Acta. Proteins and Proteomics* 1869, n° 1 (janvier 2021): 140542. <https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2020.140542>.
- 12 Brito-Moreira, J., A. C. Paula-Lima, T. R. Bomfim, F. B. Oliveira, F. J. Sepúlveda, F. G. De Mello, L. G. Aguayo, R. Panizzutti, et S. T. Ferreira. « A $\beta$  Oligomers Induce Glutamate Release from Hippocampal Neurons ». *Current Alzheimer Research* 8, n° 5 (août 2011): 552-62. <https://doi.org/10.2174/156720511796391917>.



- 13 Wu, Sheng-Zhou, Angela M. Bodles, Mandy M. Porter, W. Sue T. Griffin, Anthony S. Basile, et Steven W. Barger. « Induction of Serine Racemase Expression and D-Serine Release from Microglia by Amyloid Beta-Peptide ». *Journal of Neuroinflammation* 1, n° 1 (20 avril 2004): 2. <https://doi.org/10.1186/1742-2094-1-2>.
- 14 Inoue, Ran, Kenji Hashimoto, Tomomi Harai, et Hisashi Mori. « NMDA- and Beta-Amyloid1-42-Induced Neurotoxicity Is Attenuated in Serine Racemase Knock-out Mice ». *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 28, n° 53 (31 décembre 2008): 14486-91. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5034-08.2008>.
- 15 Balu, Darrick T., Harry Pantazopoulos, Cathy C. Y. Huang, Kevin Muszynski, Theresa Lynn Harvey, Yota Uno, Jacki M. Rorabaugh, et al. « Neurotoxic Astrocytes Express the D-Serine Synthesizing Enzyme, Serine Racemase, in Alzheimer's Disease ». *Neurobiology of Disease* 130 (octobre 2019): 104511. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2019.104511>.
- 16 Madeira, C., M. V. Lourenco, C. Vargas-Lopes, C. K. Suemoto, C. O. Brandão, T. Reis, R. E. P. Leite, et al. « D-Serine Levels in Alzheimer's Disease: Implications for Novel Biomarker Development ». *Translational Psychiatry* 5 (5 mai 2015): e561. <https://doi.org/10.1038/tp.2015.52>.
- 17 Le Douce, Juliette, Marianne Maugard, Julien Veran, Marco Matos, Pierrick Jégo, Pierre-Antoine Vigneron, Emilie Faivre, et al. « Impairment of Glycolysis-Derived l-Serine Production in Astrocytes Contributes to Cognitive Deficits in Alzheimer's Disease ». *Cell Metabolism* 31, n° 3 (3 mars 2020): 503-517.e8. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2020.02.004>.
- 18 Oakley, Holly, Sarah L. Cole, Sreemathi Logan, Erika Maus, Pei Shao, Jeffery Craft, Angela Guillozet-Bongaarts, et al. « Intraneuronal  $\beta$ -Amyloid Aggregates, Neurodegeneration, and Neuron Loss in Transgenic Mice with Five Familial Alzheimer's Disease Mutations: Potential Factors in Amyloid Plaque Formation ». *Journal of Neuroscience* 26, n° 40 (4 octobre 2006): 10129-40. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1202-06.2006>.
- 19 Basu, A. C., G. E. Tsai, C.-L. Ma, J. T. Ehmsen, A. K. Mustafa, L. Han, Z. I. Jiang, et al. « Targeted Disruption of Serine Racemase Affects Glutamatergic Neurotransmission and Behavior ». *Molecular Psychiatry* 14, n° 7 (juillet 2009): 719-27. <https://doi.org/10.1038/mp.2008.130>.
- 20 Anderson, W. W., et G. L. Collingridge. « The LTP Program: A Data Acquisition Program for on-Line Analysis of Long-Term Potentiation and Other Synaptic Events ». *Journal of Neuroscience Methods* 108, n° 1 (15 juillet 2001): 71-83. [https://doi.org/10.1016/s0165-0270\(01\)00374-0](https://doi.org/10.1016/s0165-0270(01)00374-0).
- 21 Hashimoto, A., T. Nishikawa, T. Hayashi, N. Fujii, K. Harada, T. Oka, et K. Takahashi. « The Presence of Free D-Serine in Rat Brain ». *FEBS Letters* 296, n° 1 (13 janvier 1992): 33-36. [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(92\)80397-y](https://doi.org/10.1016/0014-5793(92)80397-y).
- 22 Ploux, Eva, Valentine Bouet, Inna Radzishevsky, Herman Wolosker, Thomas Freret, et Jean-Marie Billard. « Serine Racemase Deletion Affects the Excitatory/Inhibitory Balance of the Hippocampal CA1 Network ». *International Journal of Molecular Sciences* 21, n° 24 (11 décembre 2020): E9447. <https://doi.org/10.3390/ijms21249447>.
- 23 Eimer, William A., et Robert Vassar. « Neuron Loss in the 5XFAD Mouse Model of Alzheimer's Disease Correlates with Intraneuronal A $\beta$ 42 Accumulation and Caspase-3 Activation ». *Molecular Neurodegeneration* 8 (14 janvier 2013): 2. <https://doi.org/10.1186/1750-1326-8-2>.

- 24 Boza-Serrano, Antonio, Yiyi Yang, Agnes Paulus, et Tomas Deierborg. « Innate Immune Alterations Are Elicited in Microglial Cells before Plaque Deposition in the Alzheimer's Disease Mouse Model 5xFAD ». *Scientific Reports* 8, n° 1 (24 janvier 2018): 1550. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-19699-y>.
- 25 Daini, Eleonora, Valentina Secco, Wenjie Liao, Michele Zoli, et Antonietta Vilella. « A Regional and Cellular Analysis of the Early Intracellular and Extracellular Accumulation of A $\beta$  in the Brain of 5XFAD Mice ». *Neuroscience Letters* 754 (29 mai 2021): 135869. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2021.135869>.
- 26 Stampanoni Bassi, Mario, Ennio Iezzi, Luana Gilio, Diego Centonze, et Fabio Buttari. « Synaptic Plasticity Shapes Brain Connectivity: Implications for Network Topology ». *International Journal of Molecular Sciences* 20, n° 24 (8 décembre 2019): 6193. <https://doi.org/10.3390/ijms20246193>.
- 27 Crouzin, Nadine, Kevin Baranger, Mélanie Cavalier, Yannick Marchalant, Catherine Cohen-Solal, François S. Roman, Michel Khrestchatisky, Santiago Rivera, François Féron, et Michel Vignes. « Area-Specific Alterations of Synaptic Plasticity in the 5XFAD Mouse Model of Alzheimer's Disease: Dissociation between Somatosensory Cortex and Hippocampus ». *PLoS One* 8, n° 9 (2013): e74667. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0074667>.
- 28 Collingridge, G. L., et T. V. P. Bliss. « NMDA Receptors - Their Role in Long-Term Potentiation ». *Trends in Neurosciences* 10, n° 7 (1 juillet 1987): 288-93. [https://doi.org/10.1016/0166-2236\(87\)90175-5](https://doi.org/10.1016/0166-2236(87)90175-5).
- 29 Bliss, T. V., et G. L. Collingridge. « A Synaptic Model of Memory: Long-Term Potentiation in the Hippocampus ». *Nature* 361, n° 6407 (7 janvier 1993): 31-39. <https://doi.org/10.1038/361031a0>.
- 30 Malenka, R. C., et R. A. Nicoll. « NMDA-Receptor-Dependent Synaptic Plasticity: Multiple Forms and Mechanisms ». *Trends in Neurosciences* 16, n° 12 (décembre 1993): 521-27. [https://doi.org/10.1016/0166-2236\(93\)90197-t](https://doi.org/10.1016/0166-2236(93)90197-t).
- 31 Collingridge, G. L., et T. V. P. Bliss. « Memories of NMDA Receptors and LTP ». *Trends in Neurosciences* 18, n° 2 (1 février 1995): 54-56. [https://doi.org/10.1016/0166-2236\(95\)80016-U](https://doi.org/10.1016/0166-2236(95)80016-U).
- 32 Baltaci, Saltuk Bugra, Rasim Mogulkoc, et Abdulkерim Kasim Baltaci. « Molecular Mechanisms of Early and Late LTP ». *Neurochemical Research* 44, n° 2 (février 2019): 281-96. <https://doi.org/10.1007/s11064-018-2695-4>.
- 33 Junjaud, G., E. Rouaud, F. Turpin, J.-P. Mothet, et J.-M. Billard. « Age-Related Effects of the Neuromodulator D-Serine on Neurotransmission and Synaptic Potentiation in the CA1 Hippocampal Area of the Rat ». *Journal of Neurochemistry* 98, n° 4 (août 2006): 1159-66. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2006.03944.x>.
- 34 Forner, Stefania, Shimako Kawauchi, Gabriela Balderrama-Gutierrez, Enikő A. Kramár, Dina P. Matheos, Jimmy Phan, Dominic I. Javonillo, et al. « Systematic Phenotyping and Characterization of the 5xFAD Mouse Model of Alzheimer's Disease ». *Scientific Data* 8, n° 1 (15 octobre 2021): 270. <https://doi.org/10.1038/s41597-021-01054-y>.
- 35 Selkoe, Dennis J. « Alzheimer Disease and Aducanumab: Adjusting Our Approach ». *Nature Reviews. Neurology* 15, n° 7 (juillet 2019): 365-66. <https://doi.org/10.1038/s41582-019-0205-1>.
- 36 Dhillon, Sohita. « Aducanumab: First Approval ». *Drugs* 81, n° 12 (août 2021): 1437-43. <https://doi.org/10.1007/s40265-021-01569-z>.

- 37 Tu, Shichun, Shu-ichi Okamoto, Stuart A. Lipton, et Huaxi Xu. « Oligomeric A $\beta$ -Induced Synaptic Dysfunction in Alzheimer's Disease ». *Molecular Neurodegeneration* 9 (14 novembre 2014): 48. <https://doi.org/10.1186/1750-1326-9-48>.
- 38 Chen, Yu, Amy K. Y. Fu, et Nancy Y. Ip. « Synaptic Dysfunction in Alzheimer's Disease: Mechanisms and Therapeutic Strategies ». *Pharmacology & Therapeutics* 195 (mars 2019): 186-98. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2018.11.006>.
- 39 Maarouf, Chera L., Tyler A. Kokjohn, Charisse M. Whiteside, MiMi P. Macias, Walter M. Kalback, Marwan N. Sabbagh, Thomas G. Beach, Robert Vassar, et Alex E. Roher. « Molecular Differences and Similarities Between Alzheimer's Disease and the 5XFAD Transgenic Mouse Model of Amyloidosis ». *Biochemistry Insights* 6 (2013): 1-10. <https://doi.org/10.4137/BCI.S13025>.
- 40 Henneberger, Christian, Thomas Papouin, Stéphane H. R. Oliet, et Dmitri A. Rusakov. « Long-Term Potentiation Depends on Release of D-Serine from Astrocytes ». *Nature* 463, n° 7278 (14 janvier 2010): 232-36. <https://doi.org/10.1038/nature08673>.
- 41 Kimura, Ryoichi, et Masuo Ohno. « Impairments in Remote Memory Stabilization Precede Hippocampal Synaptic and Cognitive Failures in 5XFAD Alzheimer Mouse Model ». *Neurobiology of Disease* 33, n° 2 (février 2009): 229-35. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2008.10.006>.
- 42 Wang, Zhi-Cong, Jie Zhao, et Shao Li. « Dysregulation of Synaptic and Extrasynaptic N-Methyl-D-Aspartate Receptors Induced by Amyloid- $\beta$  ». *Neuroscience Bulletin* 29, n° 6 (décembre 2013): 752-60. <https://doi.org/10.1007/s12264-013-1383-2>.
- 43 Zhang, Yan, Peiyao Li, Jianbo Feng, et Minghua Wu. « Dysfunction of NMDA Receptors in Alzheimer's Disease ». *Neurological Sciences* 37, n° 7 (1 juillet 2016): 1039-47. <https://doi.org/10.1007/s10072-016-2546-5>.
- 44 Liu, Jinping, Lirong Chang, Yizhi Song, Hui Li, et Yan Wu. « The Role of NMDA Receptors in Alzheimer's Disease ». *Frontiers in Neuroscience* 13 (2019). <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fnins.2019.00043>.
- 45 Nong, Yi, Yue-Qiao Huang, William Ju, Lorraine V. Kalia, Gholamreza Ahmadian, Yu Tian Wang, et Michael W. Salter. « Glycine Binding Primes NMDA Receptor Internalization ». *Nature* 422, n° 6929 (20 mars 2003): 302-7. <https://doi.org/10.1038/nature01497>.
- 46 Rosenberg, Dina, Samar Artoul, Adi C. Segal, Goren Kolodney, Inna Radzishevsky, Elena Dikopoltsev, Veronika N. Foltyn, et al. « Neuronal D-Serine and Glycine Release via the Asc-1 Transporter Regulates NMDA Receptor-Dependent Synaptic Activity ». *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 33, n° 8 (20 février 2013): 3533-44. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3836-12.2013>.
- 47 Willem, Michael, Sabina Tahirovic, Marc Aurel Busche, Saak V. Ovsepian, Magda Chafai, Scherazad Kootar, Daniel Hornburg, et al. «  $\eta$ -Secretase processing of APP inhibits neuronal activity in the hippocampus ». *Nature* 526, n° 7573 (15 octobre 2015): 443-47. <https://doi.org/10.1038/nature14864>.
- 48 Oddo, Salvatore, Antonella Caccamo, Jason D. Shepherd, M. Paul Murphy, Todd E. Golde, Rakez Kaye, Raju Metherate, Mark P. Mattson, Yama Akbari, et Frank M. LaFerla. « Triple-Transgenic Model of Alzheimer's Disease with Plaques and Tangles: Intracellular Abeta and Synaptic Dysfunction ». *Neuron* 39, n° 3 (31 juillet 2003): 409-21. [https://doi.org/10.1016/s0896-6273\(03\)00434-3](https://doi.org/10.1016/s0896-6273(03)00434-3).

## COMPLEMENTARY DATA

### *1.1 Determination of the amyloid load.*

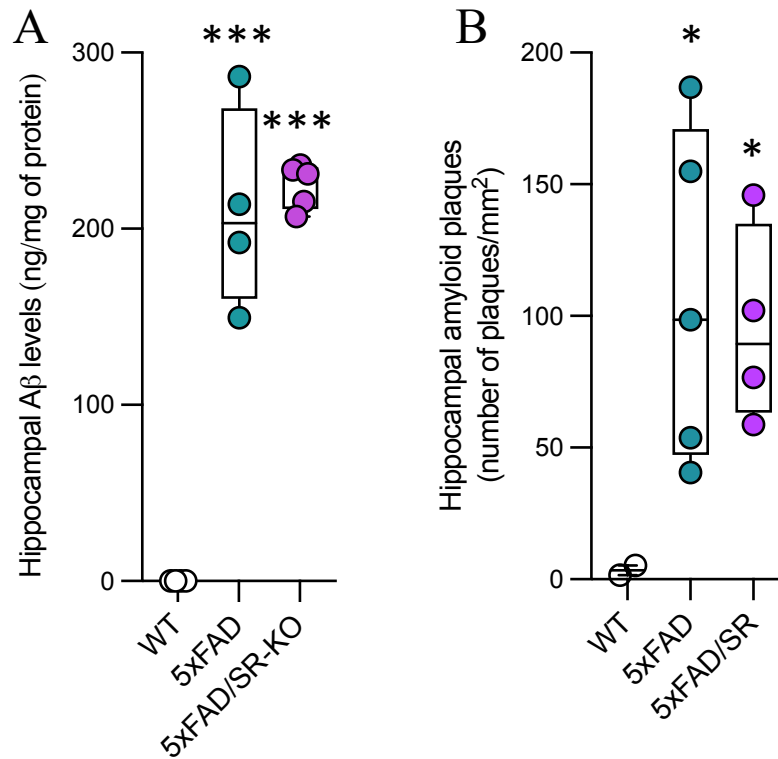
Amyloid peptide levels (including A $\beta$ <sub>40</sub> and A $\beta$ <sub>42</sub> forms) were determined in hippocampal brain extracts using a commercial immunoassay (Meso Scale Diagnostics; kit: Human V-Plex Plus A $\beta$  Peptide Panel 1 (4G8)). ELISA was performed using the kit manufacturer's instructions by the cytometry and immunobiology facility (CYBIO) at the Cochin Institute (Paris). Briefly, the assay uses C-terminus-specific capture antibodies for the different A $\beta$  peptides with SULFO-TAG-labeled anti-A $\beta$  antibodies for detection by chemiluminescence.

### *1.2 Determination of the amyloid plaques.*

Transcardiac perfusions were made with sodium phosphate buffer (PBS 0.1M) and then by a 4% paraformaldehyde (PFA) solution. After 24h in PFA solution, transverse sections of 40 $\mu$ m were made using a vibratome (LEICA®, VT 1000S). Cryoprotective slides (30% ethylene glycol, 30% glycerol, 40% PBS 0.1M) were rinsed in phosphate buffer (PB 0.1M), mounted on gelatin slides and dried at room temperature for 3 days. The slides were immersed in deionized water (5min), a Meyer's hematoxylin solution (10 min, Merck, MHS32-1L), tap water (5min) and a sodium chloride solution (20min, Fisher, 10616082), itself containing 1% sodium hydroxide (Merck, S8045-1KG). Staining of amyloid deposits used a Congo red solution during 20min (Merck, HT60 Congo Red Kit) - previously filtered - containing 1% sodium hydroxide. After dehydration by two solutions of ethanol at 100° and 90° (60sec), slides were placed in Rotihistol during 7min and mounted with Histokit. Slides were scanned at the CMABIO center (Caen) at x20 magnification in white light, hippocampus regions were delineated on each slice using the QuPath® software and the number of stains were identified to an automatic counting program using Python softwer.

## 2. Hippocampal A $\beta$ load and amyloid plaques labeling.

Hippocampal A $\beta$  levels were quantified in 10–12-month-old mice (Figure S1) using the electroluminescent assay with high affinity for peptide and oligomeric forms while aggregation into amyloid plaques was determined with a Congo red coloration.



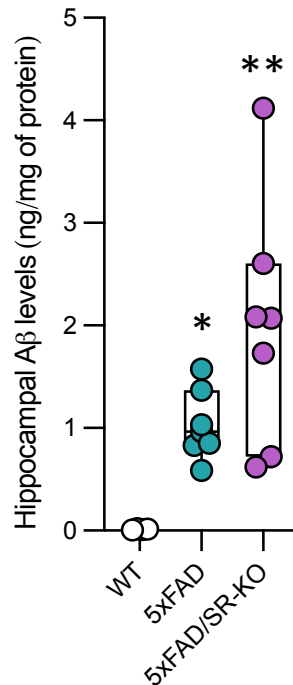
**Figure S1: High A $\beta$  hippocampal load and amyloid plaques occur in 5xFAD mice, without impact of SR deletion.**

**A.** Box plot with the median  $\pm$  mini/max of total A $\beta$  (including A $\beta_{40}$  and A $\beta_{42}$  isoforms) concentrations (in ng/mg of protein) determined in hippocampal tissues of 10-12 months-aged WT (n=4), 5xFAD (n=4) and 5xFAD/SR-KO mice (n=5) (\*\*\*) P<0.001 compared to WT mice; Kruskal-Wallis test with Dunn's multiple comparisons). **B.** Box plot with median  $\pm$  mini/max of amyloid plaques (in number of plaques/mm<sup>2</sup>) in hippocampus of 5xFAD (n=5), 5xFAD/SR-KO mice (n=4) compared to WT (n=2) mice (\* P<0.05 compared to WT mice; Kruskal-Wallis test with Dunn's multiple comparisons).

As previously reported [18], A $\beta$  levels (Figure S1A) and aggregation into amyloid plaques (Figure S1B) were drastically elevated in 10–12-month-old 5xFAD mice compared to WT.

For both parameters, no significant difference was found between 5xFAD and 5xFAD/SR-KO

mice (Kruskal-Wallis test with Dunn's multiple comparisons) indicating that the SR deletion does not affect the amyloid burden.



**Figure S2: Hippocampal A $\beta$  load is increased in 3-4-months-old 5xFAD mice, without impact of SR deletion.**

Box plot with the median  $\pm$  mini/max of total A $\beta$  (including A $\beta$ 40 and A $\beta$ 42 isoforms) concentrations (in ng/mg of protein) determined in hippocampal tissues of WT (n=4), 5xFAD (n=7) and 5xFAD/SR-KO (n=7) mice aged of 3-4 months (\* P<0.05 \*\* P<0.01 compared to WT mice; Kruskal-Wallis test with Dunn's multiple comparisons).

Analyses of A $\beta$  levels in 3-4 months-old animals (Figure S2) indicated that 5xFAD and 5xFAD/SR-KO mice displayed concentrations  $\pm$ 150-200-fold lower than older mice, but which remained significantly higher than age-matched WT mice (Kruskal-Wallis test with Dunn's multiple comparisons). As previously observed in older mice, SR deletion did not impact the amyloid load since no significant difference was found between 5xFAD and 5xFAD/SR-KO mice.

### C. Données complémentaires à l'article 2 :

Cette section se propose de présenter des données obtenues dans le cadre de mes travaux de thèse, mais non incluses dans l'article 1. Ceci est lié plus particulièrement aux impératifs de place alloués dans la revue scientifique qui ne s'appliquent pas à la présentation de ce manuscrit. Bien que ces résultats soient secondaires par rapport à ceux retenus pour l'article, ils n'en restent pas moins importants pour mettre en valeur ce travail dans sa globalité et méritent donc d'être illustrés et discutés dans ce manuscrit.

Dans un premier temps, une partie comportementale sera présentée comprenant à la fois l'analyse de tests additionnels réalisés chez les souris âgées de 10-12 mois et la batterie complète des tests réalisés sur les souris âgées de 3-4 mois. Dans un second temps, l'analyse des dosages par HPLC d'autres acides aminés que la D-serine sera détaillée.

#### Données comportementales :

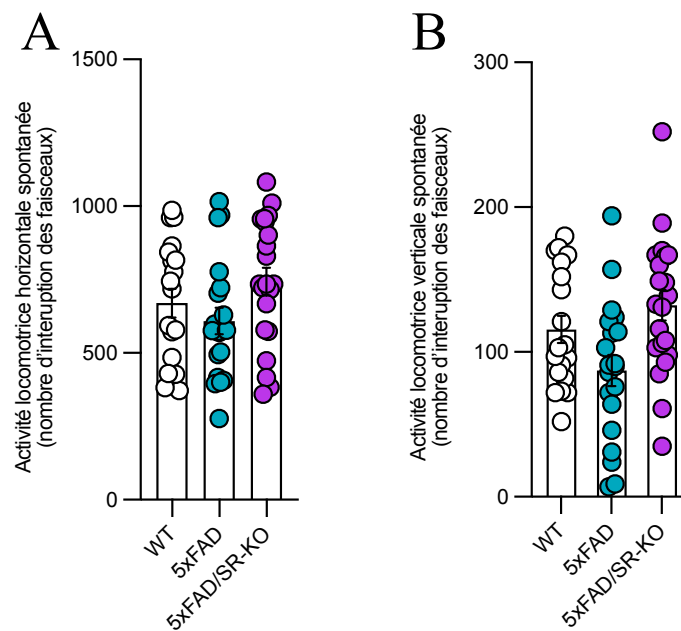
1) Étude de l'activité locomotrice spontanée et des comportements liés à l'anxiété chez les souris âgées de 10-12 mois :

Dans le domaine de la recherche biomédicale, l'évaluation des processus cognitifs repose en grande partie sur des tests comportementaux basés sur le comportement exploratoire des animaux. Cependant, ce comportement d'exploration est également tributaire de facteurs indépendants aux processus cognitifs comme l'activité locomotrice ou les comportements liés l'anxiété. Dans l'optique d'exclure de potentiels biais lors de l'analyse des processus cognitifs et de caractériser au mieux les modèles d'étude, une analyse de l'activité locomotrice spontanée a été réalisée à l'aide d'une boîte d'actimétrie tandis que deux composantes liées à l'anxiété ont été étudiées avec le test de la boîte noire et blanche et celui de l'openfield.

Il est ici important de rappeler que ces comportements ont déjà été évalués chez les souris SR-KO âgées de 10-12 mois et qui ont été présentés dans l'article 2 présenté en annexe de ce manuscrit. Aucune modification comportementale majeure n'avait été retrouvée dans ce groupe expérimental.

- Évaluation de l'activité locomotrice spontanée

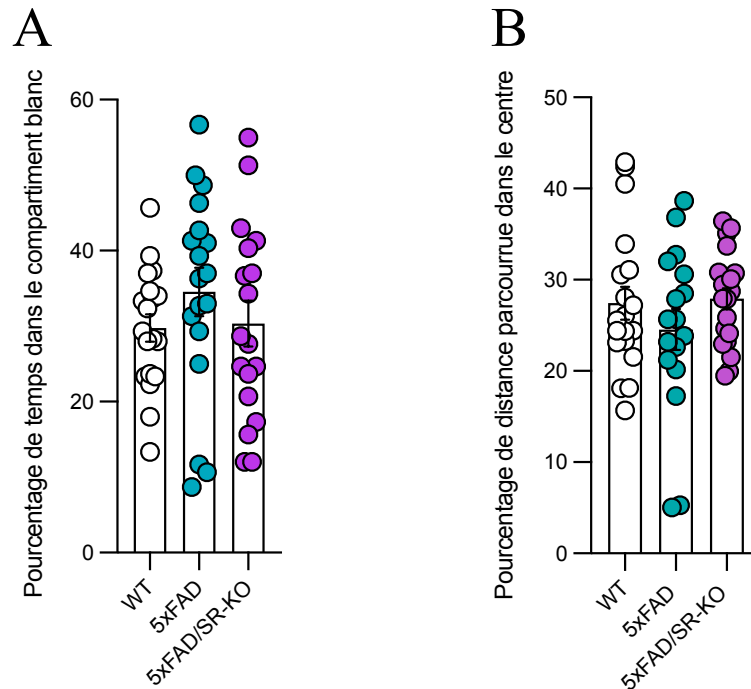
Ni l'activité horizontale, ni l'activité verticale ne sont modifiées chez les souris 5xFAD et 5xFAD/SR-KO, par comparaison aux souris WT (ANOVA une voie) (Figure 25A et B). Ainsi, l'activité locomotrice spontanée n'est donc pas impactée par les 5 mutations présentes chez les souris 5xFAD de 10-12 mois - avec ou sans la délétion de la SR, permettant de s'affranchir de tout biais moteur dans l'analyse de l'ensemble des tests comportementaux réalisés.



**Figure 25 : Activité locomotrice spontanée horizontale et verticale lors du test de la boîte d'actimétrie.** Histogrammes (moyenne  $\pm$  SEM) illustrant l'activité locomotrice spontanée horizontale (A) et verticale (B) chez les souris WT (n=19), 5xFAD (n=20) et 5xFAD/SR-KO (n=20) âgées de 10-12 mois (ANOVA une voie et test de Dunnett T3 pour les comparaisons multiples, vs. WT).



- Comportements liés à l'anxiété



**Figure 26 :** *Pourcentage du temps passé dans le compartiment blanc de la boîte noire et blanche et pourcentage de distance passée dans le centre de l'openfield. A. Histogramme (moyenne  $\pm$  SEM) représentant le pourcentage de temps passé dans le compartiment blanc du dispositif de boîte noire et blanche, chez les souris WT (n=19), 5xFAD (n=19) et 5xFAD/SR-KO (n=18) âgées de 10-12 mois (ANOVA une voie). B. Histogramme (moyenne  $\pm$  SEM) le pourcentage de distance passé dans le centre de l'openfield, chez les souris WT (n=19), 5xFAD (n=17) et 5xFAD/SR-KO (n=20) âgées de 10-12 mois (ANOVA une voie).*

Comme on le visualise sur la Figure 26A, les quatre groupes de souris passaient en moyenne  $\pm$ 30% du temps de l'expérimentation dans le compartiment blanc/éclairé, sans afficher de différence significative entre les groupes (ANOVA une voie). Dans le test de l'openfield, les résultats obtenus n'ont pas montré de différence significative dans le pourcentage de distance traversée dans le centre du dispositif chez les souris 5xFAD et les souris 5xFAD/SR-KO, comparées aux souris WT (Figure 26B, ANOVA une voie).

L'analyse de ces deux variables n'a donc pas mis en avant de modification comportementale induite par la pathologie amyloïde, aussi bien chez les souris 5xFAD que chez les souris 5xFAD/SR-KO où la SR a été éliminée. Ces résultats ont ainsi permis d'écarter les potentiels interférences liées au niveau d'anxiété dans l'analyse des capacités cognitives présentées dans l'article 2.

## 2) Étude comportementale chez les souris âgées de 3-4 mois :

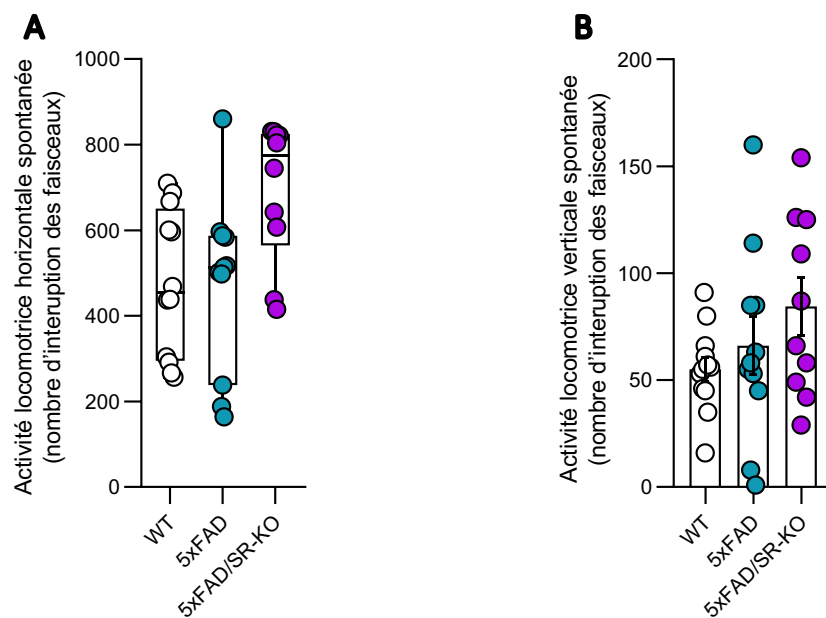
L'étude comportementale présentée dans ce manuscrit a été initialement réalisée chez des souris 5xFAD âgées de 10-12 mois, âge auquel la littérature avait déjà rapporté des déficits cognitifs (Flanigan *et al.*, 2014 ; Schneider *et al.*, 2014 ; O'Leary *et al.*, 2017). Constatant que l'étude électrophysiologique rapportait des atteintes de la fonctionnalité des réseaux neuronaux hippocampiques dès l'âge de 3-4 mois, une étude comportementale a donc été réalisée afin d'en évaluer l'impact sur les processus cognitifs à ce stade de la pathologie amyloïde. De façon similaire à l'étude comportementale des souris plus âgées, l'activité locomotrice spontanée et les comportements liés à l'anxiété ont été étudiés. Ces derniers ont été évalués seulement à l'aide du test de l'openfield.

A noter que l'ensemble des tests comportementaux réalisés chez les souris âgées de 3-4 mois a été réalisé avec les mêmes dispositifs et protocoles expérimentaux que pour les souris âgées de 10-12 mois.

Dans ce cadre d'expériences, les capacités cognitives ont également été évaluées chez les souris SR-KO âgées de 3-4mois, toujours dans le but de s'assurer de l'absence de modification comportementale induite par la délétion de la SR. Afin de ne pas surcharger la lecture, ces résultats n'ont pas été illustrés dans cette section et ne rapportaient pas de modification comportementale majeure mis à part une diminution mineure des processus de flexibilité cognitive.

- Évaluation de l'activité locomotrice spontanée

Si l'observation de la Figure 27A laisserait penser à une augmentation de l'activité horizontale chez les souris 5xFAD/SR-KO, aucune différence statistique significative n'a été trouvée entre les trois groupes expérimentaux (test de Kruskal-Wallis). De même, aucune différence significative n'a été trouvée entre les groupes en ce qui concerne l'activité verticale (Figure 27B, ANOVA une voie).



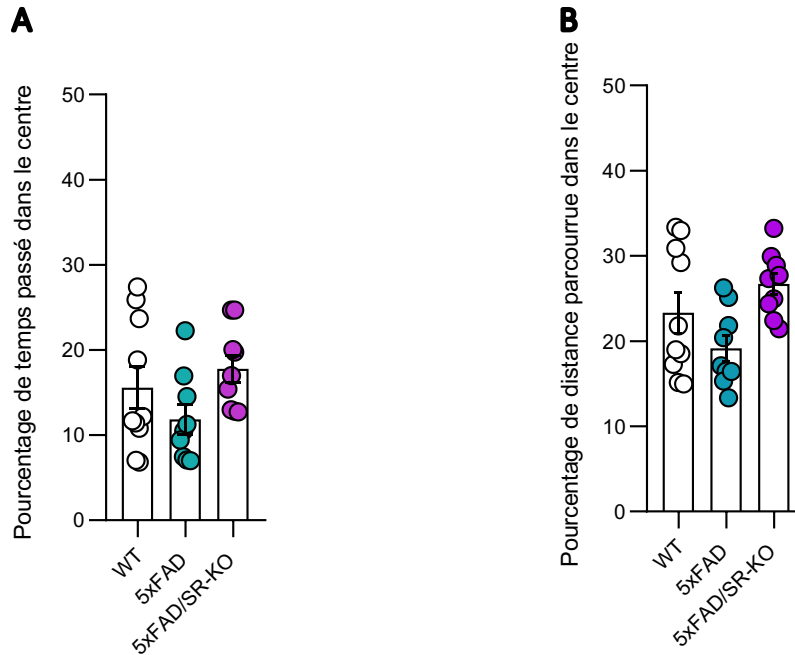
**Figure 27 : Activité locomotrice spontanée horizontale et verticale évaluées par le test de la boîte d'actimétrie.** Graphiques (médiane ± Écart Interquartile, EI) illustrant l'activité locomotrice spontanée horizontale (A) et verticale (B) chez les souris WT (n=12), 5xFAD (n=11) et 5xFAD/SR-KO (n=10) âgées de 3-4 mois (ANOVA une voie).

Parallèlement, les performances des animaux dans le test de la boîte d'actimétrie n'ont pas mis en évidence d'impact du contexte amyloïde en présence ou non de la délétion de la SR sur l'activité locomotrice spontanée.

- Évaluation des comportements liés à l'anxiété :

La comparaison du pourcentage de temps passé dans le centre du dispositif n'a indiqué aucune différence significative entre les trois groupes expérimentaux (ANOVA une voie) (Figure 28A). De plus, aucune différence significative n'a été trouvée concernant le

pourcentage de distance passé dans le centre du dispositif de l'openfield (ANOVA une voie) (Figure 28B).

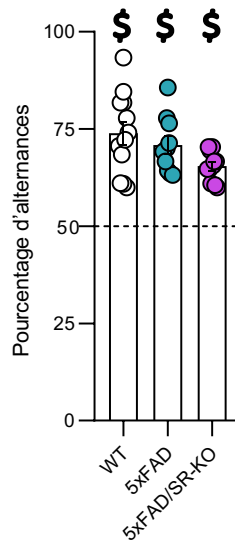


**Figure 28 : Pourcentage de temps passé dans le centre de l'openfield et le pourcentage de distance parcourue dans le centre. A.** Histogramme (moyenne  $\pm$  SEM) illustrant le pourcentage de temps passé dans le centre de l'openfield, chez les souris WT ( $n=10$ ), 5xFAD ( $n=9$ ) et 5xFAD/SR-KO ( $n=10$ ) (ANOVA une voie). **B.** Histogramme (moyenne  $\pm$  SEM) représentant le pourcentage de distance parcourue dans le centre de l'openfield, chez les souris WT ( $n=10$ ), 5xFAD ( $n=9$ ) et 5xFAD/SR-KO ( $n=10$ ) (ANOVA une voie).

L'ensemble de ces résultats permettent ainsi de s'affranchir de l'intervention significative de biais liés à l'activité locomotrice et du niveau d'anxiété dans l'analyse des capacités cognitives réalisée parallèlement.

- Évaluation de la mémoire de travail spontanée par le test du labyrinthe en Y :

Le pourcentage d'alternances spontanées était significativement supérieur à la valeur de hasard pour chaque groupe expérimental (t-test univarié comparé à la valeur 50) (Figure 29). De plus, aucune différence significative intergroupe n'a été relevée (test ANOVA une voie).



**Figure 29 : Pourcentage d'alternances réalisées lors du test du labyrinthe en Y.** Histogramme (moyenne  $\pm$  SEM) illustrant le pourcentage d'alternances réalisées chez les souris WT ( $n=12$ ), 5xFAD ( $n=10$ ) et 5xFAD/SR-KO ( $n=10$ ) (\$  $P<0.05$  t-test univarié comparé à la valeur chance de 50 pour chaque groupe, test ANOVA une voie pour la comparaison intergroupe).

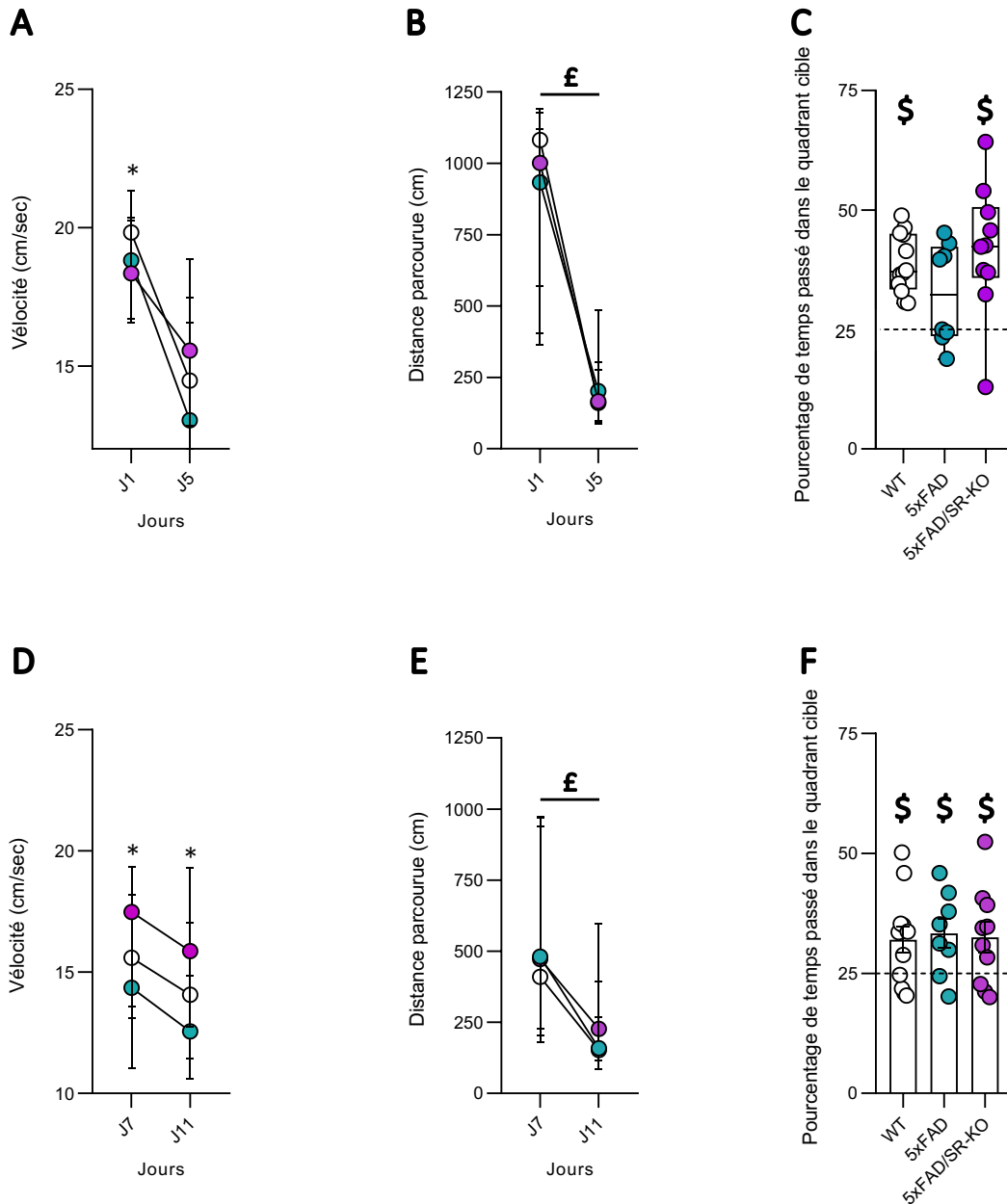
Ces résultats indiquent qu'à l'âge de 3-4 mois, la mémoire de travail immédiate n'est pas impactée par les 5 mutations liées à l'amyloïdogénèse avec ou sans la délétion de la SR.

- Apprentissage spatial, mémoire de référence et flexibilité cognitive à l'aide du test du MWM :

Les performances d'apprentissage spatial sont évaluées par la mesure du temps nécessaire pour atteindre la plateforme. Toutefois, ce paramètre peut souffrir de biais d'interprétation en raison de problèmes moteurs. Pour s'en assurer, la mesure de la vitesse de nage a été réalisée (Figure 30A). L'analyse statistique a révélé un effet groupe lors du premier jour d'apprentissage (test de Kruskal-Wallis pour chaque jour), avec une vitesse de nage plus élevée chez les animaux WT. Dès lors, la distance parcourue jusqu'à la PF (et non la latence) a été utilisée pour analyser les performances d'apprentissage (Figure 30B).

Une diminution de la distance médiane parcourue entre le premier et le dernier jour des tests a été trouvée dans chaque groupe (test de Wilcoxon pour données appariées entre J1 et J5 par groupe). Ce résultat atteste de l'acquisition d'un apprentissage de la tâche par les trois groupes de souris. Par ailleurs, une analyse détaillée des performances au dernier jour d'apprentissage a été effectuée. La distance parcourue au 5<sup>ème</sup> jour n'a révélé aucune

différence significative entre les groupes (test de Kruskal-Wallis). L'ensemble de ces résultats indique que l'efficacité de l'apprentissage spatial n'a pas été impactée par le contexte amyloïdogénique avec ou sans la délétion de la SR chez les souris âgées de 3-4 mois.



**Figure 30 : Apprentissage spatial, mémoire de référence et flexibilité cognitive évalués par le test du MWM.** **A.** Graphique (médiane  $\pm$  EI) illustrant la vélocité quotidienne des souris WT ( $n=11$ ), 5xFAD ( $n=9$ ) et 5xFAD/SR-KO ( $n=9$ ) lors du 1<sup>er</sup> jour et du 5<sup>ème</sup> et dernier jour d'apprentissage spatial (\*  $P<0,05$  test de Kruskal-Wallis pour chaque jour). **B.** Graphique (médiane  $\pm$  EI) présentant la distance parcourue quotidiennement pour atteindre la PF par les souris WT ( $n=11$ ), 5xFAD ( $n=9$ ) et 5xFAD/SR-KO ( $n=9$ ) lors du 1<sup>er</sup> jour et du 5<sup>ème</sup> jour d'apprentissage spatial (£  $P<0,05$  test de Wilcoxon pour données appariées entre J1 et J5 pour

chaque groupe. C. Graphique (médiane  $\pm$  EI) présentant le pourcentage de temps passé dans le quadrant cible (NE) par les souris WT (n=11), 5xFAD (n=9) et 5xFAD/SR-KO (n=9) lors du Probe-test-1 (\$ P<0,05 test des rangs signés de Wilcoxon comparé à la valeur chance de 25 ; test de Kruskal-Wallis pour la comparaison intergroupe). D. Graphique (médiane  $\pm$  EI) illustrant la vitesse quotidienne des souris WT (n=11), 5xFAD (n=9) et 5xFAD/SR-KO (n=9) lors du 7<sup>er</sup> jour et du 11<sup>ème</sup> jour d'apprentissage spatial inversé (Wilcoxon pour données appariées entre J7 et J11 ; \* P<0,05 \*\*\* P<0,001 \*\*\*\* P<0,0001 test de Kruskal-Wallis). E. Graphique (médiane  $\pm$  EI) montrant la distance parcourue quotidiennement pour atteindre la PF par les souris WT (n=11), 5xFAD (n=9) et 5xFAD/SR-KO (n=9) lors du 7<sup>er</sup> jour et du 11<sup>ème</sup> jour d'apprentissage spatial inversé (£ P<0,05 test de Wilcoxon pour données appariées entre J1 et J5 pour chaque groupe). F. Histogramme (moyenne  $\pm$  SEM) illustrant le pourcentage de temps passé dans le quadrant cible (SO) par les souris WT (n=11), 5xFAD (n=9) et 5xFAD/SR-KO (n=9) lors du Probe-test-2 (\$ P<0,05 test des rangs signés de Wilcoxon comparé à la valeur chance de 25 ; test de Kruskal-Wallis pour la comparaison intergroupe).

Un probe-test a par la suite été réalisé de manière à évaluer la force de rappel de la localisation de la PF - mémoire de référence (Figure 30C). Bien qu'aucune différence significative entre les groupes n'ait été retrouvée, le pourcentage de temps passé dans le cadran cible était significativement supérieur à la valeur chance, uniquement chez les souris WT et 5xFAD/SR-KO ; et pas chez les souris 5xFAD (test des rangs signés de Wilcoxon pour chaque groupe). La délétion de la SR chez les souris 5xFAD/SR-KO aurait ainsi permis de prévenir ce déficit.

Par la suite, un nouvel apprentissage spatial a été réalisé après changement de place de la PF, afin d'évaluer la flexibilité cognitive. Une différence de vitesse était à nouveau retrouvée entre les quatre groupes expérimentaux lors du premier (J7) et dernier jour du test (J11) (Figure 30D), amenant à analyser la distance parcourue plutôt que la latence à trouver la PF. Une diminution de la distance parcourue entre le premier et le dernier jour était observée pour chacun des groupes, témoignant de la réussite de l'apprentissage inversé (test de Wilcoxon pour données appariées par groupe, Figure 30E). Par ailleurs, les performances au dernier jour de ce réapprentissage apparaissaient similaires entre les groupes (test de Kruskal-Wallis).

Lors du probe test qui a suivi et mesurant les performances de mémoire de référence, le pourcentage de temps passé dans le nouveau quadrant cible était significativement supérieur à la valeur de hasard pour l'ensemble des groupes (Figure 30F, test des rangs signés de Wilcoxon comparé à la valeur chance de 25).

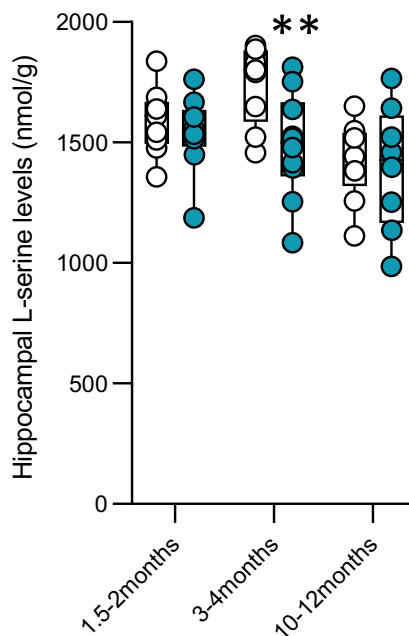
Pour résumer, l'activité locomotrice et les comportements liés à l'anxiété ne semblent pas modifiés par le contexte d'amyloïdogénèse accentuée chez les souris 5xFAD, que ce soit avec ou sans la délétion de la SR. Ces résultats ont été obtenus aussi bien à 3-4 mois, que lorsque les taux d'A $\beta$  sont encore plus importants à 10-12mois. Concernant les processus cognitifs évalués dans cette étude, un impact progressif du contexte amyloïde a été retrouvé chez les souris 5xFAD. D'une part, à l'âge de 3-4 mois, seul un faible déficit de la mémoire de référence, a été retrouvé chez les souris 5xFAD et où la D-sérine apparaît être impliquée, comme le propose l'absence de déficit chez les souris 5xFAD/SR-KO. D'autre part, en parallèle à l'augmentation d'A $\beta$ , d'avantage d'altérations cognitives ont été observées à l'âge de 10-12 mois et dans lesquelles la D-sérine semblerait également jouer un rôle significatif.

#### Détermination des taux d'autres acides aminés hippocampiques :

En parallèle avec la détermination des taux de D-sérine provenant du tissu hippocampique, il était important d'avoir connaissance des niveaux de son précurseur, la L-sérine, et de l'agoniste majeur des NMDA-R, le glutamate. Les dosages des taux de ces deux aa ont été réalisés sur les mêmes échantillons que ceux utilisés pour la D-sérine et dans les trois âges d'étudiés.

Les taux de L-sérine apparaissent modifiés dans un contexte d'amyloïdogénèse seulement à l'âge de 3-4 mois (Figure 31), avec une diminution significative retrouvée chez les souris 5xFAD comparée aux souris WT (test Mann-Whitney).

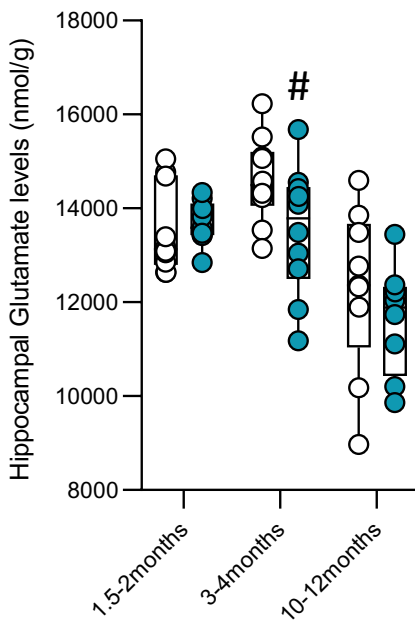




**Figure 31 : Dosage des taux de L-sérine hippocampique selon les trois âges étudiés.** Graphiques (médiane  $\pm$  EI) illustrant les taux de L-sérine hippocampique chez les souris WT ( $n=12$ ) et 5xFAD ( $n=10$ ) aux âges de 1,5-2 mois, 3-4 mois et 10-12 mois (\*  $P<0.05$  test de Mann Whitney entre les souris WT et 5xFAD âgées de 3-4 mois).

Il est intéressant de rappeler que les taux de D-sérine ne sont pas modifiés à cet âge chez les souris 5xFAD, indiquant qu'une modification des taux du précurseur n'influence pas forcément les taux de son métabolite. D'autre part, il est important de signaler que la L-sérine est présente avec des taux trois fois supérieurs à ceux de la D-sérine suggérant qu'une faible modification n'est pas de conséquence en aval.

Concernant l'analyse des taux de glutamate hippocampique (Figure 32), une tendance à la diminution a été retrouvée chez les souris 5xFAD âgées de 3-4 mois comparée aux taux des souris WT ( $P=0,063$  test Mann Whitney) tandis qu'aucune modification n'a été observée aux autres âges (Figure 32).



**Figure 32 : Dosage des taux de glutamate hippocampique selon les trois âges d'étudiés.**

Graphiques (médiane  $\pm$  EI) illustrant les taux de glutamate hippocampique chez les souris WT ( $n=12$ ) et 5xFAD ( $n=10$ ) aux âges de 1,5-2 mois, 3-4 mois et 10-12 mois (#  $P=0,063$  test de Mann Whitney entre les souris WT et 5xFAD âgées de 3-4 mois).

En résumé, une légère diminution des taux de L-sérine et une tendance à la diminution des taux de glutamate sont observées chez les souris 5xFAD adultes jeunes, observations qui font écho aux données obtenues chez les souris 3xTG-AD. En effet, il a été rapporté une diminution des taux de glutamate et de L-sérine dans ce modèle de MA en réponse à une baisse des taux du glucose astrocytaire (Le Douce *et al.*, 2020). Il serait donc intéressant d'étudier le métabolisme du glucose astrocytaire chez les souris 5xFAD.

## DISCUSSION



## IV. Discussion

L'absence de traitement curatif de la MA a poussé les chercheurs à préciser les mécanismes moléculaires et cellulaires associés à la physiopathologie de cette maladie et plus particulièrement à leur mise en place lors de la phase précoce. L'objectif de cette thèse s'est inscrit dans cette dynamique et a eu pour but de déterminer l'implication de l'acide aminé D-sérine dans les atteintes associées à la pathologie amyloïde, une des caractéristiques centrales de la MA. Cette étude s'est faite à l'aide d'un modèle animal innovant, couplant un contexte d'amyloïdogénèse prononcée (la souris 5xFAD) à l'absence de D-sérine (la souris SR-KO). L'approche a été multidisciplinaire avec des techniques allant d'études *in vitro* à des tests comportementaux, afin d'avoir une vision la plus intégrée possible de la problématique.

L'aspect novateur de ce travail réside dans la découverte d'une implication précoce de la D-sérine dans les processus délétères associés au contexte d'amyloïdogénèse. Ce résultat est particulièrement innovant et vient compléter le rôle tardif de l'acide aminé dans la toxicité associée aux phénomènes inflammatoires, comme cela a été proposé récemment dans la littérature (Balu *et al.*, 2019). Ainsi, cette nouvelle vision de la D-sérine dans la pathologie amyloïde permet d'envisager de nouvelles perspectives prometteuses concernant la recherche de traitements thérapeutiques précoces de la MA.

Ces travaux de thèse soulèvent différentes réflexions et interrogations qui vont être maintenant discutées. Une première partie reprendra la chronologie des résultats obtenus dans cette étude, en y abordant la question de l'origine de l'augmentation précoce des taux de D-sérine hippocampique chez les souris 5xFAD. Puis, les hypothèses mécanistiques de cette augmentation et du déficit évolutif de recrutement des NMDA-R aux synapses CA3/CA1 associé seront considérées. Une seconde partie proposera une vision plus exhaustive quant au rôle de la D-sérine dans la MA. Enfin, en considérant un point plus conceptuel, une dernière partie abordera la problématique de l'apport de modèles animaux multiples pour aborder la physiopathologie d'une maladie neurodégénérative comme la MA.

## A. Implication de la D-sérine dans la pathologie amyloïde.

En premier lieu, les investigations ont permis de caractériser le modèle 5xFAD/SR-KO à l'aide d'animaux âgés de 10-12mois (cf. Figure 33). L'utilisation d'animaux contrôles (souris 5xFAD) a permis de d'observer les caractéristiques de ce modèle déjà rapporté dans la littérature, à savoir des déficits cognitifs, une atteinte fonctionnelle électrophysiologique (au niveau des synapses CA3-CA1 de l'hippocampe), mais aussi de caractériser de nouvelles atteintes comme celle du recrutement des récepteurs NMDA à la synapse. La création du nouveau modèle (5xFAD/SR-KO) a surtout permis de montrer pour la première fois, l'implication de la D-sérine dans la majeure partie de ces déficits, indiquant un rôle central de l'acide aminé dans le versant amyloïde de la MA.

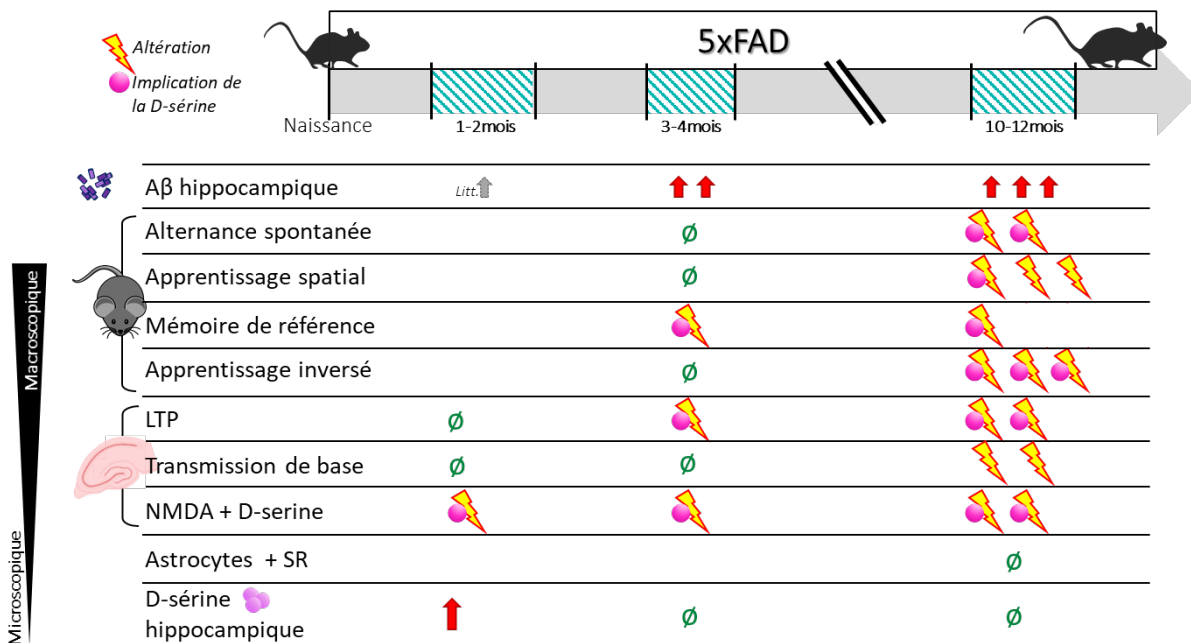
D'autre part, nous avons montré l'importance de la D-sérine dans l'atteinte de la flexibilité comportementale des souris 5xFAD dans le test du « reversal learning » de la piscine de Morris, mais l'analyse fonctionnelle associée reste à être étudiée. La LTD est une forme de plasticité synaptique impliquant le NMDA-R (Lüscher & Malenka, 2012) et qui est proposée comme substrat fonctionnel de la flexibilité cognitive (Nicholls *et al.*, 2008 ; Collingridge *et al.*, 2010). Dès lors il serait intéressant d'étudier la fonctionnalité de la LTD chez nos souris 5xFAD/SR-KO *versus* 5xFAD. Des travaux du laboratoire encore non publiés (thèse du Dr. Lecouflet) suggèrent une augmentation significative de la LTD chez les souris 5xFAD que nous cherchons actuellement à confirmer et pour laquelle l'implication possible de la D-sérine est recherchée.

Cette première étude réalisée à un stade avancé de l'accumulation amyloïde de notre modèle murin (10-12 mois) a permis de révéler un rôle significatif de la D-sérine dans les déficits cognitifs et fonctionnels. Néanmoins, les taux de D-sérine hippocampiques n'ont pas été retrouvés modifiés chez les souris 5xFAD par rapport aux animaux contrôles. Pris dans leur ensemble, ces résultats suggèrent une implication de la D-serine dans des stades plus précoces de l'amyloïdogénèse. Ainsi, afin de mieux caractériser le « quand » intervient la D-sérine dans la pathologie amyloïde, une étude sur la cinétique d'apparition des troubles cognitifs et fonctionnels a été initiée.

L'analyse des investigations portant sur les souris 5xFAD âgées de 3-4mois est en accord avec les données de la littérature (Oakley *et al.*, 2006 ; Tang *et al.*, 2016 ; Gu *et al.*, 2018 ; Wu *et al.*,

2018 ; Forner *et al.*, 2021). En effet, elle montre en outre un niveau d'accumulation plus faible d'A $\beta$ , associée à la présence déjà à cet âge d'altérations fonctionnelles des connexions CA3/CA1 hippocampiques (dégradation de la LTP, baisse du recrutement des NMDA-R synaptiques), mais dont l'amplitude apparaît moins marquée que celles trouvées chez les souris âgées de 10-12 mois. On constate d'autre part que ces atteintes fonctionnelles des réseaux neuronaux hippocampiques ne sont pas associées à des déficits marqués au niveau cognitivo-comportemental, hormis une altération de la mémoire de référence, déjà rapporté dans la littérature (Li *et al.*, 2019).

Un second enseignement conséquent de cette analyse correspond au fait que l'altération de la mémoire de référence et les déficits synaptiques sont également abolis quand les souris 5xFAD présentent la délétion de la SR, à l'image de ce qui est obtenu chez les animaux plus âgés. A ce stade les taux de D-sérine hippocampique ne sont également pas modifiés, nous amenant à penser que l'implication de l'acide aminé s'effectue à un stade encore plus précoce de la pathologie amyloïde.



**Figure 33 :** Tableau résumant les principaux résultats obtenus au cours de cette thèse chez les souris 5xFAD et l'implication de la D-sérine.

Bien que moins étudié dans le modèle 5xFAD par rapport à des stades plus avancés, il a été montré une accumulation amyloïde exponentielle de dépôts amyloïdes qui s'installent rapidement dès l'âge de 1,5-2mois, avec une composante intracellulaire prononcée (Oakley *et al.*, 2006 ; Eimer & Vasson, 2013 ; Boza-Serrano *et al.*, 2018 ; Daini *et al.*, 2021). De manière tout à fait intéressante, notre étude montre que simultanément à cette "poussée" amyloïde, les taux de D-sérine s'accroissent significativement dans les tissus hippocampiques. A ce stade, si l'expression de la LTP n'est pas affectée, on constate déjà l'amorce d'un déficit de recrutement des NMDA-R synaptiques qui n'est pas observée chez les animaux 5xFAD du même âge présentant une délétion de la SR.

Ainsi, cette étude longitudinale permet de faire apparaître une vision innovante de la D-sérine comme un acteur très précoce de la pathologie amyloïde et dont les effets s'amplifient progressivement au cours du développement de la pathologie. Cependant avant d'affirmer définitivement cette vision, la réalisation de différentes expériences contrôles demeure nécessaire. D'abord, si un consensus existe quant à l'augmentation exponentielle des taux d'A $\beta$  chez les souris 5xFAD de 1,5-2mois (Oakley *et al.*, 2006 ; Eimer & Vassar, 2013 ; Boza-Serrano *et al.*, 2018 ; Daini *et al.*, 2021), il nous reste à nous en assurer dans nos propres travaux. D'autre part, il serait intéressant de déterminer si un apport chronique de D-sérine chez les souris 5xFAD/SR-KO reproduirait les déficits présentés par les souris 5xFAD, ce qui conforterait notre vision d'un rôle central de la D-sérine dans la pathologie amyloïde.

- **Hypothèses mécanistiques pour l'accroissement précoce des taux de D-sérine lors de l'installation de l'amyloïdogénèse**

L'étape suivante dans l'analyse de nos résultats est de considérer l'origine ou les origines possibles de l'augmentation précoce des taux de D-sérine hippocampiques, retrouvés lors de l'induction de l'amyloïdogénèse chez les souris 5xFAD.

Une première hypothèse considérerait une modification des taux du précurseur L-sérine. Ce mécanisme peut cependant être écarté puisque nous avons montré par l'analyse HPLC que les niveaux de L-sérine restaient équivalents à ceux des souris contrôles à ce stade initial de la



pathologie amyloïde. Ce résultat oriente donc notre questionnement vers des hypothèses d'augmentation de l'expression et ou d'activité de la SR.

En effet, des études précliniques indiquent une augmentation de l'expression de la SR par l'A $\beta$  que ce soit dans des modèles *in vitro* de cultures cellulaires (Wu *et al.*, 2004) ou dans un modèle murin d'amyloïdogénèse différent de celui utilisé dans ces travaux de thèse (Madeira *et al.*, 2015). Cette possibilité reste donc à être évaluée chez nos souris 5xFAD. Une étude préliminaire menée au sein du laboratoire chez des souris âgées de 3-4mois (non présentée dans ce manuscrit) montre une légère augmentation d'expression de la SR, qui n'est toutefois pas significativement validée.

L'hypothèse d'une modification d'expression de la SR peut également être appuyée par les récents résultats décrits dans la littérature. En effet, à la fois chez l'homme et dans un modèle de MA chez le rat, il a été rapporté que les processus inflammatoires associés à la MA entraînaient une induction anormale d'expression de la SR par les astrocytes devenus réactifs (Balu *et al.*, 2019). Cependant, comme cela a été caractérisé et rapporté dans l'Article 2, l'astrocytose est très limitée dans notre modèle d'étude, même chez les souris âgées de 10-12mois pour lesquelles la charge amyloïde est très importante. De surcroît, aucune expression de la SR n'était observée au sein des rares astrocytes réactifs observés. De récents travaux utilisant des souris 5xFAD de même fond génétique C57Bl/6J que le nôtre ont montré la présence d'astrocytes hippocampiques réactifs en grande quantité mais pas avant l'âge de 18mois (Forner *et al.*, 2021). Par conséquent, l'hypothèse d'une astrocytose réactionnelle pour rendre compte de l'augmentation précoce des taux de D-sérine peut être écartée. Toutefois, la possibilité que ce mécanisme puisse intervenir très tardivement dans notre modèle 5xFAD ne peut être définitivement écarté et fait d'ailleurs l'objet de travaux collaboratifs en cours avec l'équipe du Dr Balu.

Pour compléter cette hypothèse d'origine gliale, l'augmentation des taux de D-sérine pourrait aussi être en lien avec à une activation de la microglie par le peptide amyloïde. En effet, un phénotype d'activation microgliale s'installe dans les tissus cérébraux de patients atteints de la MA (Hemonnot *et al.*, 2019 ; Wang *et al.*, 2021), mais également dans de nombreux modèles animaux, dont les souris 5xFAD (Kang *et al.*, 2021 ; Forner *et al.*, 2021). Or des données précliniques indiquent que l'A $\beta$  est capable de stimuler l'expression de la SR par les microglies

activées (Wu *et al.*, 2004, 2007). Ce mécanisme pourrait donc être une cible d'intérêt pour nos prochaines investigations. Toutefois, si l'activation microgliale a été rapporté chez les souris 5xFAD avec un background C57Bl/6, il n'était que peu prononcé avant l'âge de 4 mois, ne s'accroissant que par la suite (Forner *et al.*, 2021).

Enfin, une hypothèse alternative pour rendre compte d'une possible augmentation d'expression de la SR lors de l'installation de l'amyloïdogénèse ferait intervenir la voie non-amyloïde. En effet, il a été rapporté que les neurones peuvent répondre au stress induit par l'A $\beta$  en produisant et libérant rapidement du sAPP $\alpha$  de façon substantielle et transitoire, mécanisme aidant à leur survie (Rose *et al.*, 2018). Or, le sAPP $\alpha$  est capable de stimuler l'expression des formes dimériques de la SR et d'augmenter les niveaux de D-sérine (Wu *et al.*, 2007). Compte tenu de ces résultats, il serait maintenant intéressant de déterminer si les taux hippocampiques de ce peptide sont modifiés chez les souris 5xFAD âgées 1,5-2mois en réponse à la mise en place de l'amyloïdogénèse.

A côté de ces hypothèses se focalisant sur l'expression de la SR, il est également possible d'envisager une modification de l'activité de l'enzyme. Cette protéine contient en effet une région de liaison PDZ à son extrémité C-terminale qui lui permet de s'associer à plusieurs partenaires du domaine postsynaptique, telles que la stargazine et la PSD-95 (Ma *et al.*, 2014). Lors de la liaison de la SR avec ces deux protéines, un complexe ternaire est formé qui va modifier l'activité de la SR. En effet, cette opération s'accompagne d'une relocalisation de la SR à la membrane cellulaire, ce qui va alors réduire son activité (Ma *et al.*, 2014). Or, une baisse de la protéine PSD-95 a été rapportée chez les souris 5xFAD (Shao *et al.*, 2011 ; Maiti *et al.*, 2021), ce qui pourrait diminuer la formation des complexes ternaires et faciliter alors le transfert de la SR au niveau cytosolique augmentant ainsi son activité.

- **Hypothèses mécanistiques du déficit de recrutement des NMDA-R à la synapse chez les souris 5xFAD**

Un point essentiel des études électrophysiologiques révèle que l'augmentation précoce des taux de D-sérine induite lors de l'installation de l'amyloïdogénèse est corrélée à une diminution de recrutement des NMDA-R au sein des synapses CA3-CA1 de l'hippocampe.

Cette diminution s'amplifie de surcroît avec le développement de la pathologie amyloïde. Plusieurs mécanismes peuvent être postulés pour rendre compte de cette diminution.

Une première hypothèse impliquerait une modification des taux de glutamate conjointe à celle des taux de D-sérine. En effet, si notre étude ne rapporte pas d'augmentation des niveaux de glutamate au niveau tissulaire chez les souris 5xFAD à cet âge précoce, il est concevable qu'une augmentation restreinte au niveau synaptique puisse exister. Des données de la littérature indiquent une diminution de la recapture et une libération accrue du glutamate par les cellules gliales astrocytaires dans d'autres modèles d'amyloïdogénèse (Masliah *et al.*, 2000 ; Li *et al.*, 2009 ; Talantova *et al.*, 2013 ; Hascup *et al.*, 2020) et dans le tissu de patients atteints de la MA (Li *et al.*, 1997 ; Jacob *et al.*, 2007). Cette accumulation du glutamate entraînerait un « spill over » du neurotransmetteur hors de la synapse pouvant ainsi induire l'activation de NMDA-R extrasynaptiques. Or une littérature abondante montre que la mise en jeu de ces récepteurs active une cascade de voies intracellulaires toxiques qui provoque une internalisation des NMDA-R en plus d'une dégénérescence neuronale via des signaux pro-apoptotiques (voir Hardingham & Bading, 2010). Toutefois, nos enregistrements électrophysiologiques indiquent que la transmission synaptique basale médiée par les récepteurs non-NMDA-R du glutamate n'est pas affectée chez les souris 5xFAD âgées de 1,5-2 mois et même déprimée chez les animaux plus âgés. D'autre part, la baisse de recrutement des NMDA-R synaptiques n'est plus observée chez les animaux 5xFAD/SR-KO. Ces résultats suggèrent donc une contribution mineure du glutamate dans le déficit considéré même si elle ne peut pas être totalement exclue.

En revanche, nos résultats amènent à penser à un rôle prépondérant de la D-sérine qui dans ce cadre pourrait être dépendant des propriétés du NMDA-R non associées à des flux ioniques. Des données de la littérature indiquent que parallèlement à la signalisation ionique classique, les NMDA-R sont également capables de transmettre un signal par changement de conformation et/ou liaison à des complexes postsynaptiques (Ferreira *et al.*, 2017). Ainsi des travaux de co-immunoprécipitation ont révélé qu'une application prolongée de glycine ou de D-sérine facilite l'association du NMDA-R avec un composant principal de la protéine AP2 (Nong *et al.*, 2003 ; Han *et al.*, 2013), acteur central impliqué dans l'activation de la voie d'endocytose des NMDA-R synaptiques (Piguel *et al.*, 2014). Il est alors tout à fait envisageable

que l'élévation des taux de D-sérine induite au départ de l'amyloïdogénèse pourrait activer ce processus d'amorçage, ou de « priming », des NMDA-R à l'endocytose entraînant leur internalisation et donc leur impossibilité d'être recrutés lors des processus d'induction de la plasticité synaptique comme la LTP.

Deux points sont ici intéressants à noter. Premièrement si ce mécanisme d'internalisation facilitée des NMDA-R synaptiques s'initie simultanément à la hausse des taux de D-sérine par le peptide amyloïde, il continue à s'amplifier avec l'âge alors que les taux de l'acide aminé sont revenus au niveau ceux des animaux contrôles. Ce résultat confèrerait donc plutôt un rôle d'initiateur de la D-sérine dans le développement synaptique de la physiopathologie amyloïde. Deuxièmement, on constate que cette atteinte de recrutement des NMDA-R n'affecte pas leur activation basale étudiée lors de stimulations à basse fréquence mais qu'elle devient délétère quand la fréquence s'accroît étant ainsi responsable de l'altération d'expression de la LTP. Il est d'ailleurs important de souligner que le niveau de dégradation de l'amplitude de ce type de plasticité augmente avec l'âge chez les souris 5xFAD conjointement à la baisse de recrutement des NMDA-R synaptiques.

Indépendamment des limites évoquées ci-dessus, la comparaison de notre modèle 5xFAD/SR-KO avec l'évolution de la pathologie chez les souris 5xFAD nous a amené à préciser le rôle essentiel de la D-sérine dans la genèse des désordres structuraux et fonctionnels retrouvés chez ces dernières. Nous apportons ainsi des bases scientifiques nouvelles et solides qui démontrent que la D-sérine représenterait bien un acteur déclencheur dans la physiopathologie de la MA.

## B. Une modulation dynamique des taux de D-sérine dans la MA ?

En intégrant les résultats de cette thèse à ceux de la littérature, une vision nouvelle de la dynamique des taux D-sérine dans le développement de la MA peut être considérée en y intégrant un troisième aspect temporel. Présentée en Figure 34, l'hypothèse d'une modulation différentielle de cet acide aminé en fonction de la progression de la maladie peut être proposée. Il est bon toutefois de préciser que les travaux à la base de cette proposition reposent principalement sur l'étude de la région hippocampique.

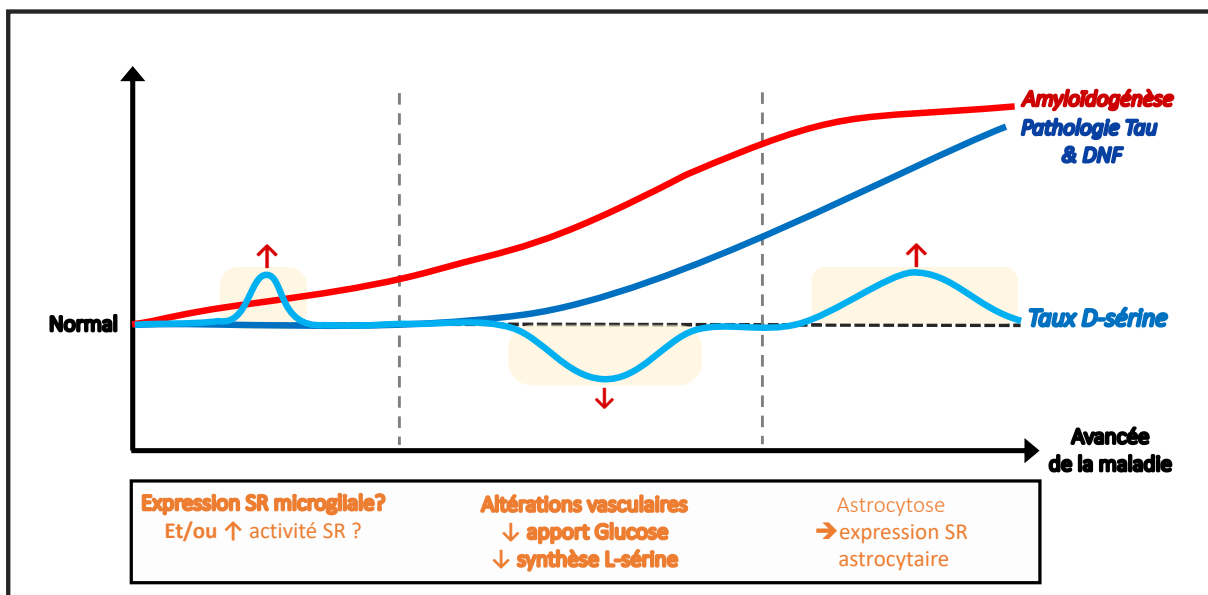


Figure 34 : Schéma proposant une implication dynamique des taux D-sérine au cours de l'évolution de la maladie d'Alzheimer et des possibles mécanismes à l'origine des fluctuations.

- 1) Basée sur les travaux de cette thèse et appuyée par l'article de Piubelli et collaborateurs (2021), une première étape impliquerait une augmentation transitoire et modérée des taux de D-sérine dès l'initiation de la maladie et de l'accumulation amyloïde. Cette augmentation fragiliserait la plasticité des réseaux neuronaux en diminuant le recrutement progressif des NMDA-R qui pourrait provenir de l'amorçage d'une internalisation de ces récepteurs.
- 2) Une seconde étape, principalement basée sur les travaux de Le Douce et collaborateurs (2020), pourrait être envisagée. Celle-ci serait caractérisée cette fois-ci par une diminution des taux de D-sérine, consécutive à une altération des apports

vasculaires en glucose et provoquant en conséquence une baisse de production du précurseur L-sérine. Ces baisses pourraient alors venir renforcer l'altération de l'activation des NMDA-R et donc de l'expression de la plasticité fonctionnelle des réseaux synaptiques.

- 3) Tenant compte des résultats de Balu et collaborateurs (2019), une troisième étape pourrait impliquer la D-sérine dans des stades plus avancés de la pathologie présentant une seconde augmentation des taux de l'acide aminé. A ce stade, la mise en place d'une astrocytose inflammatoire entraînerait une expression atypique de la SR par ces cellules gliales et une production importante de D-sérine délétère pour les synapses glutamatergiques.

Cette nouvelle vision de la D-sérine dans la pathologie amyloïde, et plus largement dans la MA, permet de regarder la littérature médicale avec un nouveau regard. En effet, cette vue dynamique pourrait expliquer la controverse retrouvée chez l'homme concernant le sens de modification des taux de D-sérine chez les patients atteints de la MA. Nous émettons l'hypothèse que la divergence de résultats entre les études (voir la mini-revue pour une vision plus exhaustive) pourrait en partie refléter le fait que les dosages étaient réalisés chez des patients à des étapes différentes de la dynamique de la D-sérine.

## C. Utilisation des modèles animaux dans la recherche sur la MA : exemple des souris 5xFAD

Les modèles précliniques d'études de la MA sont essentiels pour faire progresser notre connaissance de la pathogenèse, de la progression et de la nature des modifications cellulaires et moléculaires sous-tendant les atteintes cognitivo-comportementales de la maladie. Un grand nombre de modèles animaux - axés en majorité sur des rongeurs - ont été développés et sont actuellement utilisés dans but ultime de pouvoir faire émerger de nouvelles cibles aidant au diagnostic et à la thérapie de la MA.

Depuis le développement des premiers modèles de souris transgénique présentant une accumulation amyloïde au début des années 1990 (Wirak *et al.*, 1991 ; Quon *et al.*, 1991), d'autres modèles ont été générés avec des phénotypes se rapprochant au plus près de la pathologie associée à la MA (Nakai *et al.*, 2021). Ces modèles ont permis des études invasives impossibles à réaliser chez l'homme et qui ont fait avancer notre vision de la pathogenèse de la MA. Cependant, des questions sont soulevées quant à la validité réelle de ces modèles, constatant par exemple l'échec des thérapies curatives chez les patients Alzheimer alors que les tests précliniques sur les modèles animaux étaient très prometteurs. Une meilleure compréhension des forces et des faiblesses de chacun des différents modèles apparaît donc comme un facteur essentiel pour espérer un succès des études précliniques aux traitements des patients.

A ce jour, il n'existe pas de modèle animal vrai de la MA, mais de nombreux modèles qui sont liés à la MA. Comme évoqué ci-dessus, ces modèles peuvent être précieux si le choix de leur utilisation est adapté à la question scientifique posée. Dans notre étude, s'intéressant plus spécifiquement au versant amyloïde de la MA, nous avons fait le choix du modèle 5xFAD. En effet, ce modèle se caractérise par une amyloïdogénèse importante alors que les signes de la pathologie Tau ne sont que peu marqués en comparaison (Chen *et al.*, 2016 ; Vergara *et al.*, 2019). D'autre part, même si la cinétique de cette amyloïdogénèse est accélérée par rapport à la pathologie humaine, elle en suit un schéma analogue avec une augmentation initiale des formes solubles du peptide amyloïde, s'agrégeant ensuite sous forme de dépôts extracellulaires. Les taux d'A $\beta$  générés dans le modèle sont particulièrement importants en

comparaison de ce qui se passe chez l'homme et pourrait poser la question de l'implication réelle de la D-sérine dans la pathologie amyloïde humaine. Pour répondre à cette critique, il peut être rappelé que l'implication de l'acide aminé révélée dans cette thèse apparaît précocement chez les souris 5xFAD, à une période où les taux du peptide amyloïde sont encore peu élevés.

Pour finir, un autre facteur peut appuyer la nécessité de bien caractériser les modèles animaux associés à une pathologie comme celle de la MA avec le problème du fond génétique. En effet, différents fonds génétiques sont couramment utilisés pour un même modèle animal et pourraient expliquer certaines différences de résultats retrouvés dans la littérature. Le modèle 5xFAD peut être pris comme exemple, avec l'utilisation de souris 5xFAD possédant un fond génétique C57Bl/6 ou bien B6SJL selon la littérature. Cependant, certaines différences ont été retrouvées dans la temporalité d'apparition des modifications moléculaires et cellulaires, mais également celles concernant les altérations de transmission et de plasticité synaptique, de même que les déficits cognitifs (voir le site alzforum pour une vision plus exhaustive). Cette réflexion sur l'influence du fond génétique dans les modèles animaux transgéniques est d'ailleurs de plus en plus abordée dans la communauté scientifique, comme le montre une publication récente (Neuner *et al.*, 2019). Dans notre cas, des études antérieures ont déjà suggérées que le fond génétique pourrait avoir un impact fort sur les concentrations d'A $\beta$  et influencerait également le déclin cognitif (Ryman *et al.*, 2007 ; Gulisano *et al.*, 2018). Si l'on considère que la variabilité phénotypique peut aussi dépendre du fond génétique dans les études précliniques, un raisonnement analogue devrait s'appliquer aux phénotypes rencontrés dans la MA humaine. La prise en compte systématique de la complexité génétique pourrait alors améliorer la validité translationnelle des modèles murins vers la MA.



## CONCLUSION ET PERSPECTIVES



## V. Conclusion et perspectives :

A la vue des résultats obtenus dans ce travail de thèse, il ne fait plus de doutes que la D-sérine est un acteur crucial dans la mise en place de modifications cellulaires et comportementales induites tout au long de l'accumulation amyloïde associée à la MA.

Les résultats ont permis de mettre en évidence une augmentation transitoire des taux de D-sérine lors des phases précoces de l'amyloïdogénèse. En parallèle et grâce à une approche longitudinale, l'implication de l'acide aminé est retrouvée dans la dégradation progressive de la fonctionnalité des synapses CA3-CA1 de l'hippocampe et des déficits cognitifs survenant consécutivement. Ces résultats rappellent ainsi l'importance de décrypter les stades asymptomatiques de la MA, avant que les atteintes ne deviennent visibles mais irréversibles.

Bien que les expériences comportementales, électrophysiologiques et biochimiques réalisées ici nous aient apporté nombre d'informations nouvelles, des manipulations supplémentaires doivent encore être menées. D'une part afin de préciser plus en avant le modèle 5xFAD, et donc d'affiner notre vision de la physiopathologie amyloïde de la MA. D'autre part, afin d'approfondir notre savoir sur les mécanismes précis à l'origine de la mise en jeu de la D-sérine par l'amyloïdogénèse et de ses conséquences sur la fonctionnalité des réseaux neuronaux, comme dans le cas par exemple du déficit de recrutements des NMDA-R synaptiques. De plus, une vision plus « universelle » de nos résultats doit encore à être recherchée, notamment par la réalisation d'études similaires dans d'autres modèles animaux de la MA comme les souris 3xTG-AD par exemple.

Enfin, les résultats de cette thèse ne pourraient montrer qu'un seul aspect de la D-sérine dans la MA. En effet, à ce jour, l'hypothèse physiopathologique des déficits cognitifs associée à cette démence correspond à un effet de symbiose entre l'amyloïdogénèse et la pathologie Tau associés aux DNF neurotoxiques (Gulisano *et al.*, 2018 ; Gallardo & Holtzman, 2019 ; Busche & Hyman, 2020). Dans ce cadre et compte tenu de la localisation intraneuronale de la SR où les DNF s'installent, une contribution de la D-sérine dans la pathologie Tau peut être envisagée et mériterait d'être étudiée à l'aide d'un autre modèle animal pertinent.



## REFERENCES



## VI. Références

- « Alzheimer's Disease Facts and Figures ». *Alzheimer's & Dementia* 13, n° 4 (1 avril 2017): 325-73. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2017.02.001>.
- A Armstrong, Richard. « Risk Factors for Alzheimer's Disease ». *Folia Neuropathologica* 57, n° 2 (2019): 87-105. <https://doi.org/10.5114/fn.2019.85929>.
- Adlam, Anna-Lynne R., Sasha Bozeat, Robert Arnold, Peter Watson, et John R. Hodges. « Semantic Knowledge in Mild Cognitive Impairment and Mild Alzheimer's Disease ». *Cortex; a Journal Devoted to the Study of the Nervous System and Behavior* 42, n° 5 (juillet 2006): 675-84. [https://doi.org/10.1016/s0010-9452\(08\)70404-0](https://doi.org/10.1016/s0010-9452(08)70404-0).
- Agüera-Ortiz, Luis, Rocío García-Ramos, Francisco J. Grandas Pérez, Jorge López-Álvarez, José Manuel Montes Rodríguez, F. Javier Olazarán Rodríguez, Javier Olivera Pueyo, Carmelo Pelegrin Valero, et Jesús Porta-Etessam. « Depression in Alzheimer's Disease: A Delphi Consensus on Etiology, Risk Factors, and Clinical Management ». *Frontiers in Psychiatry* 12 (2021): 638651. <https://doi.org/10.3389/fpsy.2021.638651>.
- Allain, P., F. Etcharry-Bouyx, et C. Verny. « Executive Functions in Clinical and Preclinical Alzheimer's Disease ». *Revue Neurologique, Démences : nouveaux concepts, nouveaux enjeux / Dementia: new concepts, new goals*, 169, n° 10 (1 octobre 2013): 695-708. <https://doi.org/10.1016/j.neurol.2013.07.020>.
- Anderson, Tonya R., Pamela A. Shah, et Deanna L. Benson. « Maturation of Glutamatergic and GABAergic Synapse Composition in Hippocampal Neurons ». *Neuropharmacology* 47, n° 5 (octobre 2004): 694-705. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2004.07.023>.
- Anderson, W. W., et G. L. Collingridge. « The LTP Program: A Data Acquisition Program for on-Line Analysis of Long-Term Potentiation and Other Synaptic Events ». *Journal of Neuroscience Methods* 108, n° 1 (15 juillet 2001): 71-83. [https://doi.org/10.1016/s0165-0270\(01\)00374-0](https://doi.org/10.1016/s0165-0270(01)00374-0).
- Anisman, H. « Differential Effects of Scopolamine and D-Amphetamine on Avoidance: Strain Interactions ». *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior* 3, n° 5 (octobre 1975): 809-17. [https://doi.org/10.1016/0091-3057\(75\)90111-2](https://doi.org/10.1016/0091-3057(75)90111-2).
- Arendt, Thomas. « Synaptic Degeneration in Alzheimer's Disease ». *Acta Neuropathologica* 118, n° 1 (juillet 2009): 167-79. <https://doi.org/10.1007/s00401-009-0536-x>.
- « Astrocytes in primary cultures express serine racemase, synthesize d-serine and acquire A1 reactive astrocyte features - PubMed ». Consulté le 7 mars 2022. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29305854/>.
- Asztely, F., M. Y. Xiao, et B. Gustafsson. « Long-Term Potentiation and Paired-Pulse Facilitation in the Hippocampal CA1 Region ». *Neuroreport* 7, n° 10 (8 juillet 1996): 1609-12. <https://doi.org/10.1097/00001756-199607080-00016>.
- Audrain, Mickael, Romain Fol, Patrick Dutar, Brigitte Potier, Jean-Marie Billard, Julien Flament, Sandro Alves, et al. « Alzheimer's Disease-like APP Processing in Wild-Type Mice Identifies Synaptic Defects as Initial Steps of Disease Progression ». *Molecular Neurodegeneration* 11 (12 janvier 2016): 5. <https://doi.org/10.1186/s13024-016-0070-y>.

- Babaei, Parvin. « NMDA and AMPA Receptors Dysregulation in Alzheimer's Disease ». *European Journal of Pharmacology* 908 (5 octobre 2021): 174310. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2021.174310>.
- Bakker, Arnold, Gregory L. Krauss, Marilyn S. Albert, Caroline L. Speck, Lauren R. Jones, Craig E. Stark, Michael A. Yassa, Susan S. Bassett, Amy L. Shelton, et Michela Gallagher. « Reduction of Hippocampal Hyperactivity Improves Cognition in Amnesic Mild Cognitive Impairment ». *Neuron* 74, n° 3 (10 mai 2012): 467-74. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2012.03.023>.
- Baltaci, Saltuk Bugra, Rasim Mogulkoc, et Abdulkерim Kasim Baltaci. « Molecular Mechanisms of Early and Late LTP ». *Neurochemical Research* 44, n° 2 (février 2019): 281-96. <https://doi.org/10.1007/s11064-018-2695-4>.
- Balu, Darrick T., Harry Pantazopoulos, Cathy C. Y. Huang, Kevin Muszynski, Theresa Lynn Harvey, Yota Uno, Jacki M. Rorabaugh, et al. « Neurotoxic Astrocytes Express the D-Serine Synthesizing Enzyme, Serine Racemase, in Alzheimer's Disease ». *Neurobiology of Disease* 130 (octobre 2019): 104511. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2019.104511>.
- Bannerman, D. M., J. N. P. Rawlins, S. B. McHugh, R. M. J. Deacon, B. K. Yee, T. Bast, W.-N. Zhang, H. H. J. Pothuizen, et J. Feldon. « Regional Dissociations within the Hippocampus--Memory and Anxiety ». *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 28, n° 3 (mai 2004): 273-83. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2004.03.004>.
- Baranello, Robert J., Krishna L. Bharani, Vasudevaraju Padmaraju, Nipun Chopra, Debomoy K. Lahiri, Nigel H. Greig, Miguel A. Pappolla, et Kumar Sambamurti. « Amyloid-Beta Protein Clearance and Degradation (ABCD) Pathways and Their Role in Alzheimer's Disease ». *Current Alzheimer Research* 12, n° 1 (2015): 32-46. <https://doi.org/10.2174/1567205012666141218140953>.
- Bardaweel, Sanaa K., Muhammed Alzweiri, et Aman A. Ishaqat. « D-Serine in Neurobiology: CNS Neurotransmission and Neuromodulation ». *The Canadian Journal of Neurological Sciences. Le Journal Canadien Des Sciences Neurologiques* 41, n° 2 (mars 2014): 164-76. <https://doi.org/10.1017/s031716710001653x>.
- Barkus, Christopher, Stephen B. McHugh, Rolf Sprengel, Peter H. Seeburg, J. Nicholas P. Rawlins, et David M. Bannerman. « Hippocampal NMDA Receptors and Anxiety: At the Interface between Cognition and Emotion ». *European Journal of Pharmacology* 626, n° 1 (10 janvier 2010): 49-56. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2009.10.014>.
- Barrientos, Sebastian A., et Vicente Tiznado. « Hippocampal CA1 Subregion as a Context Decoder ». *Journal of Neuroscience* 36, n° 25 (22 juin 2016): 6602-4. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1107-16.2016>.
- Bartsch, T., et P. Wulff. « The Hippocampus in Aging and Disease: From Plasticity to Vulnerability ». *Neuroscience* 309 (19 novembre 2015): 1-16. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2015.07.084>.
- Basu, A. C., G. E. Tsai, C.-L. Ma, J. T. Ehmsen, A. K. Mustafa, L. Han, Z. I. Jiang, et al. « Targeted Disruption of Serine Racemase Affects Glutamatergic Neurotransmission and Behavior ». *Molecular Psychiatry* 14, n° 7 (juillet 2009): 719-27. <https://doi.org/10.1038/mp.2008.130>.
- Baudic, Sophie, Gianfranco Dalla Barba, Marie Claude Thibaudet, Alain Smagghe, Philippe Remy, et Latchezar Traykov. « Executive Function Deficits in Early Alzheimer's Disease and Their



- Relations with Episodic Memory ». *Archives of Clinical Neuropsychology: The Official Journal of the National Academy of Neuropsychologists* 21, n° 1 (janvier 2006): 15-21. <https://doi.org/10.1016/j.acn.2005.07.002>.
- Bekdash, Rola A. « The Cholinergic System, the Adrenergic System and the Neuropathology of Alzheimer's Disease ». *International Journal of Molecular Sciences* 22, n° 3 (28 janvier 2021): 1273. <https://doi.org/10.3390/ijms22031273>.
- Bellassen, Virginie, Kinga Iglói, Leonardo Cruz de Souza, Bruno Dubois, et Laure Rondi-Reig. « Temporal Order Memory Assessed during Spatiotemporal Navigation As a Behavioral Cognitive Marker for Differential Alzheimer's Disease Diagnosis ». *Journal of Neuroscience* 32, n° 6 (8 février 2012): 1942-52. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4556-11.2012>.
- Benarroch, Eduardo E. « Glutamatergic Synaptic Plasticity and Dysfunction in Alzheimer Disease: Emerging Mechanisms ». *Neurology* 91, n° 3 (17 juillet 2018): 125-32. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000005807>.
- Bendikov, Inna, Carmit Nadri, Shirly Amar, Rogerio Panizzutti, Joari De Miranda, Herman Wolosker, et Galila Agam. « A CSF and Postmortem Brain Study of D-Serine Metabolic Parameters in Schizophrenia ». *Schizophrenia Research* 90, n° 1-3 (février 2007): 41-51. <https://doi.org/10.1016/j.schres.2006.10.010>.
- Benneyworth, Michael A., Yan Li, Alo C. Basu, Vadim Y. Bolshakov, et Joseph T. Coyle. « Cell Selective Conditional Null Mutations of Serine Racemase Demonstrate a Predominate Localization in Cortical Glutamatergic Neurons ». *Cellular and Molecular Neurobiology* 32, n° 4 (mai 2012): 613-24. <https://doi.org/10.1007/s10571-012-9808-4>.
- Bertram, Lars, Christina M. Lill, et Rudolph E. Tanzi. « The Genetics of Alzheimer Disease: Back to the Future ». *Neuron* 68, n° 2 (21 octobre 2010): 270-81. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2010.10.013>.
- Billard, Jean-Marie. « D-Amino Acids in Brain Neurotransmission and Synaptic Plasticity ». *Amino Acids* 43, n° 5 (novembre 2012): 1851-60. <https://doi.org/10.1007/s00726-012-1346-3>.
- . « D-Serine in the Aging Hippocampus ». *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 116 (10 décembre 2015): 18-24. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2015.02.013>.
- Bliss, T. V., et G. L. Collingridge. « A Synaptic Model of Memory: Long-Term Potentiation in the Hippocampus ». *Nature* 361, n° 6407 (7 janvier 1993): 31-39. <https://doi.org/10.1038/361031a0>.
- Bliss, T. V., et T. Lomo. « Long-Lasting Potentiation of Synaptic Transmission in the Dentate Area of the Anaesthetized Rabbit Following Stimulation of the Perforant Path ». *The Journal of Physiology* 232, n° 2 (juillet 1973): 331-56. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1973.sp010273>.
- Bodner, Oded, Inna Radzishovsky, Veronika N. Foltyn, Ayelet Touitou, Alec C. Valenta, Igor F. Rangel, Rogerio Panizzutti, Robert T. Kennedy, Jean Marie Billard, et Herman Wolosker. « D-Serine Signaling and NMDAR-Mediated Synaptic Plasticity Are Regulated by System A-Type of Glutamine/D-Serine Dual Transporters ». *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 40, n° 34 (19 août 2020): 6489-6502. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0801-20.2020>.

- Boissier, J. R., et P. Simon. « [Action of caffeine on the spontaneous motility of the mouse] ». *Archives Internationales De Pharmacodynamie Et De Therapie* 158, n° 1 (novembre 1965): 212-21.
- Bondi, Mark W., Wes S. Houston, Lisa T. Eyler, et Gregory G. Brown. « FMRI Evidence of Compensatory Mechanisms in Older Adults at Genetic Risk for Alzheimer Disease ». *Neurology* 64, n° 3 (8 février 2005): 501-8. <https://doi.org/10.1212/01.WNL.0000150885.00929.7E>.
- Booker, Sam A., Anna Sumera, Peter C. Kind, et David J. A. Wyllie. « Contribution of NMDA Receptors to Synaptic Function in Rat Hippocampal Interneurons ». *ENeuro* 8, n° 4 (août 2021): ENEURO.0552-20.2021. <https://doi.org/10.1523/ENEURO.0552-20.2021>.
- Bookheimer, S. Y., M. H. Strojwas, M. S. Cohen, A. M. Saunders, M. A. Pericak-Vance, J. C. Mazziotta, et G. W. Small. « Patterns of Brain Activation in People at Risk for Alzheimer's Disease ». *The New England Journal of Medicine* 343, n° 7 (17 août 2000): 450-56. <https://doi.org/10.1056/NEJM200008173430701>.
- Bordji, Karim, Javier Becerril-Ortega, Olivier Nicole, et Alain Buisson. « Activation of Extrasynaptic, but Not Synaptic, NMDA Receptors Modifies Amyloid Precursor Protein Expression Pattern and Increases Amyloid- $\beta$  Production ». *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 30, n° 47 (24 novembre 2010): 15927-42. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3021-10.2010>.
- Boza-Serrano, Antonio, Yiyi Yang, Agnes Paulus, et Tomas Deierborg. « Innate Immune Alterations Are Elicited in Microglial Cells before Plaque Deposition in the Alzheimer's Disease Mouse Model 5xFAD ». *Scientific Reports* 8, n° 1 (24 janvier 2018): 1550. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-19699-y>.
- Braak, H., et E. Braak. « Neuropathological Stageing of Alzheimer-Related Changes ». *Acta Neuropathologica* 82, n° 4 (1991): 239-59. <https://doi.org/10.1007/BF00308809>.
- Brito-Moreira, J., A. C. Paula-Lima, T. R. Bomfim, F. B. Oliveira, F. J. Sepúlveda, F. G. De Mello, L. G. Aguayo, R. Panizzutti, et S. T. Ferreira. « A $\beta$  Oligomers Induce Glutamate Release from Hippocampal Neurons ». *Current Alzheimer Research* 8, n° 5 (août 2011): 552-62. <https://doi.org/10.2174/156720511796391917>.
- Budd Haeberlein, S., J. O'Gorman, P. Chiao, T. Bussière, P. von Rosenstiel, Y. Tian, Y. Zhu, et al. « Clinical Development of Aducanumab, an Anti-A $\beta$  Human Monoclonal Antibody Being Investigated for the Treatment of Early Alzheimer's Disease ». *The Journal of Prevention of Alzheimer's Disease* 4, n° 4 (2017): 255-63. <https://doi.org/10.14283/jpad.2017.39>.
- Busche, Marc Aurel, Xiaowei Chen, Horst A. Henning, Julia Reichwald, Matthias Staufenbiel, Bert Sakmann, et Arthur Konnerth. « Critical Role of Soluble Amyloid- $\beta$  for Early Hippocampal Hyperactivity in a Mouse Model of Alzheimer's Disease ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 109, n° 22 (29 mai 2012): 8740-45. <https://doi.org/10.1073/pnas.1206171109>.
- Busche, Marc Aurel, et Bradley T. Hyman. « Synergy between Amyloid- $\beta$  and Tau in Alzheimer's Disease ». *Nature Neuroscience* 23, n° 10 (octobre 2020): 1183-93. <https://doi.org/10.1038/s41593-020-0687-6>.

- Busche, Marc Aurel, et Arthur Konnerth. « Impairments of Neural Circuit Function in Alzheimer's Disease ». *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences* 371, n° 1700 (5 août 2016): 20150429. <https://doi.org/10.1098/rstb.2015.0429>.
- — —. « Neuronal Hyperactivity--A Key Defect in Alzheimer's Disease? » *BioEssays: News and Reviews in Molecular, Cellular and Developmental Biology* 37, n° 6 (juin 2015): 624-32. <https://doi.org/10.1002/bies.201500004>.
- Caldinelli, Laura, Silvia Sacchi, Gianluca Molla, Marco Nardini, et Loredano Pollegioni. « Characterization of Human DAAO Variants Potentially Related to an Increased Risk of Schizophrenia ». *Biochimica Et Biophysica Acta* 1832, n° 3 (mars 2013): 400-410. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2012.11.019>.
- Carlesimo, G. A., et M. Oscar-Berman. « Memory Deficits in Alzheimer's Patients: A Comprehensive Review ». *Neuropsychology Review* 3, n° 2 (juin 1992): 119-69. <https://doi.org/10.1007/BF01108841>.
- Cascella, Roberta, et Cristina Cecchi. « Calcium Dyshomeostasis in Alzheimer's Disease Pathogenesis ». *International Journal of Molecular Sciences* 22, n° 9 (6 mai 2021): 4914. <https://doi.org/10.3390/ijms22094914>.
- Castro, Paula, Shahid Zaman, et Anthony Holland. « Alzheimer's Disease in People with Down's Syndrome: The Prospects for and the Challenges of Developing Preventative Treatments ». *Journal of Neurology* 264, n° 4 (avril 2017): 804-13. <https://doi.org/10.1007/s00415-016-8308-8>.
- Celone, Kim A., Vince D. Calhoun, Bradford C. Dickerson, Alireza Atri, Elizabeth F. Chua, Saul L. Miller, Kristina DePeau, et al. « Alterations in Memory Networks in Mild Cognitive Impairment and Alzheimer's Disease: An Independent Component Analysis ». *Journal of Neuroscience* 26, n° 40 (4 octobre 2006): 10222-31. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2250-06.2006>.
- Chang, Yu-Jen, et Yun-Ru Chen. « The Coexistence of an Equal Amount of Alzheimer's Amyloid- $\beta$  40 and 42 Forms Structurally Stable and Toxic Oligomers through a Distinct Pathway ». *The FEBS Journal* 281, n° 11 (juin 2014): 2674-87. <https://doi.org/10.1111/febs.12813>.
- Chen, Wesley, Edsel A. Abud, Stephen T. Yeung, Anita Lakatos, Trevor Nassi, Jane Wang, David Blum, Luc Buée, Wayne W. Poon, et Mathew Blurton-Jones. « Increased tauopathy drives microglia-mediated clearance of beta-amyloid ». *Acta Neuropathologica Communications* 4, n° 1 (23 juin 2016): 63. <https://doi.org/10.1186/s40478-016-0336-1>.
- Chen, Yu, Amy K. Y. Fu, et Nancy Y. Ip. « Synaptic Dysfunction in Alzheimer's Disease: Mechanisms and Therapeutic Strategies ». *Pharmacology & Therapeutics* 195 (mars 2019): 186-98. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2018.11.006>.
- Cheng, Yu-Jung, Chieh-Hsin Lin, et Hsien-Yuan Lane. « D-Amino Acids and PLG72 in Alzheimer's Disease and Schizophrenia ». *International Journal of Molecular Sciences* 22, n° 20 (9 octobre 2021): 10917. <https://doi.org/10.3390/ijms222010917>.
- Chételat, Gaël, Victor L. Villemagne, Pierrick Bourgeat, Kerryn E. Pike, Gareth Jones, David Ames, Kathryn A. Ellis, et al. « Relationship between Atrophy and Beta-Amyloid Deposition in Alzheimer Disease ». *Annals of Neurology* 67, n° 3 (mars 2010): 317-24. <https://doi.org/10.1002/ana.21955>.

- Chong, Fong Ping, Khuen Yen Ng, Rhun Yian Koh, et Soi Moi Chye. « Tau Proteins and Tauopathies in Alzheimer's Disease ». *Cellular and Molecular Neurobiology* 38, n° 5 (juillet 2018): 965-80. <https://doi.org/10.1007/s10571-017-0574-1>.
- Clark, Jason K., Matthew Furgerson, Jonathon D. Crystal, Marcus Fechheimer, Ruth Furukawa, et John J. Wagner. « Alterations in Synaptic Plasticity Coincide with Deficits in Spatial Working Memory in Presymptomatic 3xTg-AD Mice ». *Neurobiology of Learning and Memory* 125 (novembre 2015): 152-62. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2015.09.003>.
- Cline, Erika N., Maíra Assunção Bicca, Kirsten L. Viola, et William L. Klein. « The Amyloid- $\beta$  Oligomer Hypothesis: Beginning of the Third Decade ». *Journal of Alzheimer's Disease: JAD* 64, n° s1 (2018): S567-610. <https://doi.org/10.3233/JAD-179941>.
- Collingridge, G. L., et T. V. Bliss. « Memories of NMDA Receptors and LTP ». *Trends in Neurosciences* 18, n° 2 (février 1995): 54-56.
- . « NMDA receptors: Their role in long-term potentiation ». *Trends in Neurosciences* 10, n° 7 (1987): 288-93. [https://doi.org/10.1016/0166-2236\(87\)90175-5](https://doi.org/10.1016/0166-2236(87)90175-5).
- Collingridge, Graham L., Stephane Peineau, John G. Howland, et Yu Tian Wang. « Long-Term Depression in the CNS ». *Nature Reviews. Neuroscience* 11, n° 7 (juillet 2010): 459-73. <https://doi.org/10.1038/nrn2867>.
- Conway, Myra E. « Alzheimer's Disease: Targeting the Glutamatergic System ». *Biogerontology* 21, n° 3 (juin 2020): 257-74. <https://doi.org/10.1007/s10522-020-09860-4>.
- Coyle, Joseph T., Darrick Balu, et Herman Wolosker. « D-Serine, the Shape-Shifting NMDA Receptor Co-Agonist ». *Neurochemical Research* 45, n° 6 (juin 2020): 1344-53. <https://doi.org/10.1007/s11064-020-03014-1>.
- Crouzin, Nadine, Kevin Baranger, Mélanie Cavalier, Yannick Marchalant, Catherine Cohen-Solal, François S. Roman, Michel Khrestchatisky, Santiago Rivera, François Féron, et Michel Vignes. « Area-Specific Alterations of Synaptic Plasticity in the 5XFAD Mouse Model of Alzheimer's Disease: Dissociation between Somatosensory Cortex and Hippocampus ». *PloS One* 8, n° 9 (2013): e74667. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0074667>.
- Cull-Candy, Stuart G., et Daniel N. Leszkiewicz. « Role of Distinct NMDA Receptor Subtypes at Central Synapses ». *Science's STKE: Signal Transduction Knowledge Environment* 2004, n° 255 (19 octobre 2004): re16. <https://doi.org/10.1126/stke.2552004re16>.
- Dai, Xihuimin, Enxing Zhou, Wei Yang, Xiaohui Zhang, Wenxia Zhang, et Yi Rao. « D-Serine Made by Serine Racemase in Drosophila Intestine Plays a Physiological Role in Sleep ». *Nature Communications* 10, n° 1 (7 mai 2019): 1986. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-09544-9>.
- Daini, Eleonora, Valentina Secco, Wenjie Liao, Michele Zoli, et Antonietta Vilella. « A Regional and Cellular Analysis of the Early Intracellular and Extracellular Accumulation of A $\beta$  in the Brain of 5XFAD Mice ». *Neuroscience Letters* 754 (29 mai 2021): 135869. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2021.135869>.
- Davies, C. A., D. M. Mann, P. Q. Sumpter, et P. O. Yates. « 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, n° 2 (avril 1987): 151-64. [https://doi.org/10.1016/0022-510x\(87\)90057-8](https://doi.org/10.1016/0022-510x(87)90057-8).

- Davis, Katherine E., Sarah Fox, et John Gigg. « Increased Hippocampal Excitability in the 3xTgAD Mouse Model for Alzheimer's Disease in Vivo ». *PLoS One* 9, n° 3 (2014): e91203. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0091203>.
- De Jonghe, C., C. Esselens, S. Kumar-Singh, K. Craessaerts, S. Serneels, F. Checler, W. Annaert, C. Van Broeckhoven, et B. De Strooper. « Pathogenic APP Mutations near the Gamma-Secretase Cleavage Site Differentially Affect Abeta Secretion and APP C-Terminal Fragment Stability ». *Human Molecular Genetics* 10, n° 16 (1 août 2001): 1665-71. <https://doi.org/10.1093/hmg/10.16.1665>.
- De Miranda, Joari, Rogerio Panizzutti, Veronika N. Foltyn, et Herman Wolosker. « Cofactors of Serine Racemase That Physiologically Stimulate the Synthesis of the N-Methyl-D-Aspartate (NMDA) Receptor Coagonist D-Serine ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 99, n° 22 (29 octobre 2002): 14542-47. <https://doi.org/10.1073/pnas.222421299>.
- delpolyi, A. R., K. P. Rankin, L. Mucke, B. L. Miller, et M. L. Gorno-Tempini. « Spatial Cognition and the Human Navigation Network in AD and MCI ». *Neurology* 69, n° 10 (4 septembre 2007): 986-97. <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000271376.19515.c6>.
- Dejakaisaya, Hattapark, Patrick Kwan, et Nigel C. Jones. « Astrocyte and Glutamate Involvement in the Pathogenesis of Epilepsy in Alzheimer's Disease ». *Epilepsia* 62, n° 7 (juillet 2021): 1485-93. <https://doi.org/10.1111/epi.16918>.
- Dhillon, Sohita. « Aducanumab: First Approval ». *Drugs* 81, n° 12 (août 2021): 1437-43. <https://doi.org/10.1007/s40265-021-01569-z>.
- Dickerson, B. C., D. H. Salat, D. N. Greve, E. F. Chua, E. Rand-Giovannetti, D. M. Rentz, L. Bertram, et al. « Increased Hippocampal Activation in Mild Cognitive Impairment Compared to Normal Aging and AD ». *Neurology* 65, n° 3 (9 août 2005): 404-11. <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000171450.97464.49>.
- Diniz, Luan Pereira, Juliana Carvalho Almeida, Vanessa Tortelli, Charles Vargas Lopes, Pedro Setti-Perdigão, Joice Stipursky, Suzana Assad Kahn, et al. « Astrocyte-Induced Synaptogenesis Is Mediated by Transforming Growth Factor  $\beta$  Signaling through Modulation of D-Serine Levels in Cerebral Cortex Neurons ». *The Journal of Biological Chemistry* 287, n° 49 (30 novembre 2012): 41432-45. <https://doi.org/10.1074/jbc.M112.380824>.
- Dodart, J. C., H. Meziane, C. Mathis, K. R. Bales, S. M. Paul, et A. Ungerer. « Behavioral Disturbances in Transgenic Mice Overexpressing the V717F Beta-Amyloid Precursor Protein ». *Behavioral Neuroscience* 113, n° 5 (octobre 1999): 982-90. <https://doi.org/10.1037//0735-7044.113.5.982>.
- Drummond, Eleanor, et Thomas Wisniewski. « Alzheimer's Disease: Experimental Models and Reality ». *Acta Neuropathologica* 133, n° 2 (février 2017): 155-75. <https://doi.org/10.1007/s00401-016-1662-x>.
- « D-Serine as the gatekeeper of NMDA receptor activity: implications for the pharmacologic management of anxiety disorders - PubMed ». Consulté le 7 mars 2022. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32518273/>.

- Dubois, Bruno, Harald Hampel, Howard H. Feldman, Philip Scheltens, Paul Aisen, Sandrine Andrieu, Hovagim Bakardjian, et al. « Preclinical Alzheimer's Disease: Definition, Natural History, and Diagnostic Criteria ». *Alzheimer's & Dementia: The Journal of the Alzheimer's Association* 12, n° 3 (mars 2016): 292-323. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2016.02.002>.
- Dunlop, D. S., et A. Neidle. « The Origin and Turnover of D-Serine in Brain ». *Biochemical and Biophysical Research Communications* 235, n° 1 (9 juin 1997): 26-30. <https://doi.org/10.1006/bbrc.1997.6724>.
- Dunlop, D. S., A. Neidle, D. McHale, D. M. Dunlop, et A. Lajtha. « The Presence of Free D-Aspartic Acid in Rodents and Man ». *Biochemical and Biophysical Research Communications* 141, n° 1 (26 novembre 1986): 27-32. [https://doi.org/10.1016/s0006-291x\(86\)80329-1](https://doi.org/10.1016/s0006-291x(86)80329-1).
- Eimer, William A., et Robert Vassar. « Neuron Loss in the 5XFAD Mouse Model of Alzheimer's Disease Correlates with Intraneuronal A $\beta$ 42 Accumulation and Caspase-3 Activation ». *Molecular Neurodegeneration* 8 (14 janvier 2013): 2. <https://doi.org/10.1186/1750-1326-8-2>.
- Engelhardt, Jakob von, Christina Bocklisch, Lars Tönges, Anne Herb, Masayoshi Mishina, et Hannah Monyer. « GluN2D-Containing NMDA Receptors-Mediate Synaptic Currents in Hippocampal Interneurons and Pyramidal Cells in Juvenile Mice ». *Frontiers in Cellular Neuroscience* 9 (2015): 95. <https://doi.org/10.3389/fncel.2015.00095>.
- Escobar, Martha L., et Brian Derrick. « Long-Term Potentiation and Depression as Putative Mechanisms for Memory Formation ». In *Neural Plasticity and Memory: From Genes to Brain Imaging*, édité par Federico Bermúdez-Rattoni. Frontiers in Neuroscience. Boca Raton (FL): CRC Press/Taylor & Francis, 2007. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK3912/>.
- Ewald, Rebecca C., et Hollis T. Cline. « NMDA Receptors and Brain Development ». In *Biology of the NMDA Receptor*, édité par Antonius M. Van Dongen. Frontiers in Neuroscience. Boca Raton (FL): CRC Press/Taylor & Francis, 2009. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK5287/>.
- Fani, Giulia, Benedetta Mannini, Giulia Vecchi, Roberta Cascella, Cristina Cecchi, Christopher M. Dobson, Michele Vendruscolo, et Fabrizio Chiti. « A $\beta$  Oligomers Dysregulate Calcium Homeostasis by Mechanosensitive Activation of AMPA and NMDA Receptors ». *ACS Chemical Neuroscience* 12, n° 4 (17 février 2021): 766-81. <https://doi.org/10.1021/acscemneuro.0c00811>.
- Fanselow, Michael S., et Hong-Wei Dong. « Are the Dorsal and Ventral Hippocampus Functionally Distinct Structures? ». *Neuron* 65, n° 1 (14 janvier 2010): 7-19. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2009.11.031>.
- Ferreira, I. L., L. M. Bajouco, S. I. Mota, Y. P. Auberson, C. R. Oliveira, et A. C. Rego. « Amyloid Beta Peptide 1-42 Disturbs Intracellular Calcium Homeostasis through Activation of GluN2B-Containing N-Methyl-d-Aspartate Receptors in Cortical Cultures ». *Cell Calcium* 51, n° 2 (février 2012): 95-106. <https://doi.org/10.1016/j.ceca.2011.11.008>.
- Ferreira, Joana S., Thomas Papouin, Laurent Ladépêche, Andrea Yao, Valentin C. Langlais, Delphine Bouchet, Jérôme Dulong, et al. « Co-Agonists Differentially Tune GluN2B-NMDA Receptor Trafficking at Hippocampal Synapses ». *ELife* 6 (9 juin 2017): e25492. <https://doi.org/10.7554/eLife.25492>.

- Ferrero, James, Leslie Williams, Heather Stella, Kate Leitermann, Alvydas Mikulskis, John O’Gorman, et Jeff Sevigny. « First-in-Human, Double-Blind, Placebo-Controlled, Single-Dose Escalation Study of Aducanumab (BIIB037) in Mild-to-Moderate Alzheimer’s Disease ». *Alzheimer’s & Dementia (New York, N. Y.)* 2, n° 3 (septembre 2016): 169-76. <https://doi.org/10.1016/j.trci.2016.06.002>.
- Ferretti, Maria Teresa, Maria Florencia Iulita, Enrica Cavedo, Patrizia Andrea Chiesa, Annemarie Schumacher Dimech, Antonella Santuccione Chadha, Francesca Baracchi, et al. « Sex Differences in Alzheimer Disease - the Gateway to Precision Medicine ». *Nature Reviews. Neurology* 14, n° 8 (août 2018): 457-69. <https://doi.org/10.1038/s41582-018-0032-9>.
- Findley, Caleigh A., Andrzej Bartke, Kevin N. Hascup, et Erin R. Hascup. « Amyloid Beta-Related Alterations to Glutamate Signaling Dynamics During Alzheimer’s Disease Progression ». *ASN Neuro* 11 (décembre 2019): 1759091419855541. <https://doi.org/10.1177/1759091419855541>.
- Flanigan, T. J., Y. Xue, S. Kishan Rao, A. Dhanushkodi, et M. P. McDonald. « Abnormal Vibrissa-Related Behavior and Loss of Barrel Field Inhibitory Neurons in 5xFAD Transgenics ». *Genes, Brain, and Behavior* 13, n° 5 (juin 2014): 488-500. <https://doi.org/10.1111/gbb.12133>.
- Förner, Stefania, Shimako Kawauchi, Gabriela Balderrama-Gutierrez, Enikő A. Kramár, Dina P. Matheos, Jimmy Phan, Dominic I. Javonillo, et al. « Systematic Phenotyping and Characterization of the 5xFAD Mouse Model of Alzheimer’s Disease ». *Scientific Data* 8, n° 1 (15 octobre 2021): 270. <https://doi.org/10.1038/s41597-021-01054-y>.
- Fuchs, Sabine A., Lambertus Dorland, Monique G. de Sain-van der Velden, Margriet Hendriks, Leo W. J. Klomp, Ruud Berger, et Tom J. de Koning. « D-Serine in the Developing Human Central Nervous System ». *Annals of Neurology* 60, n° 4 (octobre 2006): 476-80. <https://doi.org/10.1002/ana.20977>.
- Fukasawa, Y., H. Segawa, J. Y. Kim, A. Chairoungdua, D. K. Kim, H. Matsuo, S. H. Cha, H. Endou, et Y. Kanai. « Identification and Characterization of a Na(+)-Independent Neutral Amino Acid Transporter That Associates with the 4F2 Heavy Chain and Exhibits Substrate Selectivity for Small Neutral D- and L-Amino Acids ». *The Journal of Biological Chemistry* 275, n° 13 (31 mars 2000): 9690-98. <https://doi.org/10.1074/jbc.275.13.9690>.
- Gallardo, Gilbert, et David M. Holtzman. « Amyloid- $\beta$  and Tau at the Crossroads of Alzheimer’s Disease ». *Advances in Experimental Medicine and Biology* 1184 (2019): 187-203. [https://doi.org/10.1007/978-981-32-9358-8\\_16](https://doi.org/10.1007/978-981-32-9358-8_16).
- Gao, Yu, Lin Tan, Jin-Tai Yu, et Lan Tan. « Tau in Alzheimer’s Disease: Mechanisms and Therapeutic Strategies ». *Current Alzheimer Research* 15, n° 3 (2018): 283-300. <https://doi.org/10.2174/1567205014666170417111859>.
- Glenner, G. G., et C. W. Wong. « Alzheimer’s Disease: Initial Report of the Purification and Characterization of a Novel Cerebrovascular Amyloid Protein ». *Biochemical and Biophysical Research Communications* 120, n° 3 (16 mai 1984): 885-90. [https://doi.org/10.1016/s0006-291x\(84\)80190-4](https://doi.org/10.1016/s0006-291x(84)80190-4).
- Grande, Xenia, David Berron, Aidan J. Horner, James A. Bisby, Emrah Düzel, et Neil Burgess. « Holistic Recollection via Pattern Completion Involves Hippocampal Subfield CA3 ». *The Journal of*

- Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 39, n° 41 (9 octobre 2019): 8100-8111. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0722-19.2019>.
- Groc, L., L. Bard, et D. Choquet. « Surface Trafficking of N-Methyl-D-Aspartate Receptors: Physiological and Pathological Perspectives ». *Neuroscience* 158, n° 1 (12 janvier 2009): 4-18. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2008.05.029>.
- Gu, Lihua, Di Wu, Xiang Tang, Xinyang Qi, Xiaoli Li, Feng Bai, Xiaochun Chen, Qingguo Ren, et Zhijun Zhang. « Myelin Changes at the Early Stage of 5XFAD Mice ». *Brain Research Bulletin* 137 (1 mars 2018): 285-93. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2017.12.013>.
- Guarino, Angela, Francesca Favieri, Ilaria Boncompagni, Francesca Agostini, Micaela Cantone, et Maria Casagrande. « Executive Functions in Alzheimer Disease: A Systematic Review ». *Frontiers in Aging Neuroscience* 10 (2019). <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fnagi.2018.00437>.
- Gulisano, Walter, Daniele Maugeri, Marian A. Baltrons, Mauro Fà, Arianna Amato, Agostino Palmeri, Luciano D'Adamio, et al. « Role of Amyloid- $\beta$  and Tau Proteins in Alzheimer's Disease: Confuting the Amyloid Cascade ». *Journal of Alzheimer's Disease: JAD* 64, n° s1 (2018): S611-31. <https://doi.org/10.3233/JAD-179935>.
- Gulisano, Walter, Marcello Melone, Domenica D. Li Puma, Maria Rosaria Tropea, Agostino Palmeri, Ottavio Arancio, Claudio Grassi, Fiorenzo Conti, et Daniela Puzzo. « The Effect of Amyloid- $\beta$  Peptide on Synaptic Plasticity and Memory Is Influenced by Different Isoforms, Concentrations, and Aggregation Status ». *Neurobiology of Aging* 71 (novembre 2018): 51-60. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2018.06.025>.
- Hamase, Kenji, Ryuichi Konno, Akiko Morikawa, et Kiyoshi Zaitso. « Sensitive Determination of D-Amino Acids in Mammals and the Effect of D-Amino-Acid Oxidase Activity on Their Amounts ». *Biological & Pharmaceutical Bulletin* 28, n° 9 (septembre 2005): 1578-84. <https://doi.org/10.1248/bpb.28.1578>.
- Han, Lu, Verónica A. Campanucci, James Cooke, et Michael W. Salter. « Identification of a Single Amino Acid in GluN1 That Is Critical for Glycine-Primed Internalization of NMDA Receptors ». *Molecular Brain* 6 (13 août 2013): 36. <https://doi.org/10.1186/1756-6606-6-36>.
- Hansen, Kasper B., Lonnie P. Wollmuth, Derek Bowie, Hiro Furukawa, Frank S. Menniti, Alexander I. Sobolevsky, Geoffrey T. Swanson, et al. « Structure, Function, and Pharmacology of Glutamate Receptor Ion Channels ». Édité par Eric Barker. *Pharmacological Reviews* 73, n° 4 (1 octobre 2021): 1469-1658. <https://doi.org/10.1124/pharmrev.120.000131>.
- Hardingham, Giles E. « Coupling of the NMDA Receptor to Neuroprotective and Neurodestructive Events ». *Biochemical Society Transactions* 37, n° Pt 6 (décembre 2009): 1147-60. <https://doi.org/10.1042/BST0371147>.
- Hardingham, Giles E., et Hilmar Bading. « Synaptic versus extrasynaptic NMDA receptor signalling: implications for neurodegenerative disorders ». *Nature reviews. Neuroscience* 11, n° 10 (octobre 2010): 682-96. <https://doi.org/10.1038/nrn2911>.
- Hascup, Kevin N., Caleigh A. Findley, Lindsey N. Sime, et Erin R. Hascup. « Hippocampal Alterations in Glutamatergic Signaling during Amyloid Progression in A $\beta$ PP/PS1 Mice ». *Scientific Reports* 10, n° 1 (2 septembre 2020): 14503. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-71587-6>.



- Hashimoto, A., T. Nishikawa, T. Hayashi, N. Fujii, K. Harada, T. Oka, et K. Takahashi. « The Presence of Free D-Serine in Rat Brain ». *FEBS Letters* 296, n° 1 (13 janvier 1992): 33-36. [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(92\)80397-y](https://doi.org/10.1016/0014-5793(92)80397-y).
- Hashimoto, A., T. Nishikawa, T. Oka, et K. Takahashi. « Endogenous D-Serine in Rat Brain: N-Methyl-D-Aspartate Receptor-Related Distribution and Aging ». *Journal of Neurochemistry* 60, n° 2 (février 1993): 783-86. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.1993.tb03219.x>.
- Hashimoto, A., T. Oka, et T. Nishikawa. « Anatomical Distribution and Postnatal Changes in Endogenous Free D-Aspartate and D-Serine in Rat Brain and Periphery ». *The European Journal of Neuroscience* 7, n° 8 (1 août 1995): 1657-63. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.1995.tb00687.x>.
- Hashimoto, Kenji, Göran Engberg, Eiji Shimizu, Conny Nordin, Leif H. Lindström, et Masaomi Iyo. « Reduced D-Serine to Total Serine Ratio in the Cerebrospinal Fluid of Drug Naive Schizophrenic Patients ». *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry* 29, n° 5 (juin 2005): 767-69. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2005.04.023>.
- Helboe, Lone, Jan Egebjerg, Morten Møller, et Christian Thomsen. « Distribution and Pharmacology of Alanine-Serine-Cysteine Transporter 1 (Asc-1) in Rodent Brain ». *The European Journal of Neuroscience* 18, n° 8 (octobre 2003): 2227-38. <https://doi.org/10.1046/j.1460-9568.2003.02966.x>.
- Hemonnot, Anne-Laure, Jennifer Hua, Lauriane Ulmann, et Hélène Hirbec. « Microglia in Alzheimer Disease: Well-Known Targets and New Opportunities ». *Frontiers in Aging Neuroscience* 11 (2019): 233. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2019.00233>.
- Henneberger, Christian, Thomas Papouin, Stéphane H. R. Oliet, et Dmitri A. Rusakov. « Long-Term Potentiation Depends on Release of D-Serine from Astrocytes ». *Nature* 463, n° 7278 (14 janvier 2010): 232-36. <https://doi.org/10.1038/nature08673>.
- Hesaka, Atsushi, Yusuke Tsukamoto, Shigeyuki Nada, Masataka Kawamura, Naotsugu Ichimaru, Shinsuke Sakai, Maiko Nakane, et al. « D-Serine Mediates Cellular Proliferation for Kidney Remodeling ». *Kidney360* 2, n° 10 (28 octobre 2021): 1611-24. <https://doi.org/10.34067/KID.0000832021>.
- Hsiao, K., P. Chapman, S. Nilsen, C. Eckman, Y. Harigaya, S. Younkin, F. Yang, et G. Cole. « Correlative Memory Deficits, Abeta Elevation, and Amyloid Plaques in Transgenic Mice ». *Science (New York, N.Y.)* 274, n° 5284 (4 octobre 1996): 99-102. <https://doi.org/10.1126/science.274.5284.99>.
- Huang, Ya-Ru, et Rui-Tian Liu. « The Toxicity and Polymorphism of  $\beta$ -Amyloid Oligomers ». *International Journal of Molecular Sciences* 21, n° 12 (24 juin 2020): E4477. <https://doi.org/10.3390/ijms21124477>.
- « Identity of the NMDA receptor coagonist is synapse specific and developmentally regulated in the hippocampus - PubMed ». Consulté le 7 mars 2022. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25550512/>.
- Hyman, Bradley T., Creighton H. Phelps, Thomas G. Beach, Eileen H. Bigio, Nigel J. Cairns, Maria C. Carrillo, Dennis W. Dickson, et al. « National Institute on Aging-Alzheimer's Association Guidelines for the Neuropathologic Assessment of Alzheimer's Disease ». *Alzheimer's &*

- Dementia: The Journal of the Alzheimer's Association 8, n° 1 (janvier 2012): 1-13. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2011.10.007>.
- Jacob, C. P., E. Koutsilieri, J. Bartl, E. Neuen-Jacob, T. Arzberger, N. Zander, R. Ravid, W. Roggendorf, P. Riederer, et E. Grünblatt. « Alterations in Expression of Glutamatergic Transporters and Receptors in Sporadic Alzheimer's Disease ». *Journal of Alzheimer's Disease: JAD* 11, n° 1 (mars 2007): 97-116. <https://doi.org/10.3233/jad-2007-11113>.
- Jacobi, Ariel A., Sarah Halawani, David R. Lynch, et Hong Lin. « Neuronal Serine Racemase Associates with Disrupted-In-Schizophrenia-1 and DISC1 Agglomerates: Implications for Schizophrenia ». *Neuroscience Letters* 692 (23 janvier 2019): 107-14. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2018.10.055>.
- Jahn, Holger. « Memory loss in Alzheimer's disease ». *Dialogues in Clinical Neuroscience* 15, n° 4 (décembre 2013): 445-54.
- Jan, Asad, Ozgun Gokce, Ruth Luthi-Carter, et Hilal A. Lashuel. « The Ratio of Monomeric to Aggregated Forms of Abeta40 and Abeta42 Is an Important Determinant of Amyloid-Beta Aggregation, Fibrillogenesis, and Toxicity ». *The Journal of Biological Chemistry* 283, n° 42 (17 octobre 2008): 28176-89. <https://doi.org/10.1074/jbc.M803159200>.
- Johnson, J. W., et P. Ascher. « Glycine Potentiates the NMDA Response in Cultured Mouse Brain Neurons ». *Nature* 325, n° 6104 (février 1987): 529-31. <https://doi.org/10.1038/325529a0>.
- Junjaud, G., E. Rouaud, F. Turpin, J.-P. Mothet, et J.-M. Billard. « Age-Related Effects of the Neuromodulator D-Serine on Neurotransmission and Synaptic Potentiation in the CA1 Hippocampal Area of the Rat ». *Journal of Neurochemistry* 98, n° 4 (août 2006): 1159-66. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2006.03944.x>.
- Kaindl, A. M., V. Degos, S. Peineau, E. Gouadon, G. Loron, A. Lombet, C. Verney, J. Mantz, et P. Gressens. « Microglia Express Functional NMDA Receptors: A Novel Finding and a Promise for Innovative Treatment of Excitotoxic and Inflammatory Brain Disease ». *Neuropediatrics* 39, n° 05 (décembre 2008): V23. <https://doi.org/10.1055/s-0029-1215736>.
- Kaindl, Angela M., Vincent Degos, Stéphane Peineau, Elodie Gouadon, Vibol Chhor, Gauthier Loron, Tifenn Le Charpentier, et al. « Activation of Microglial N-Methyl-D-Aspartate Receptors Triggers Inflammation and Neuronal Cell Death in the Developing and Mature Brain ». *Annals of Neurology* 72, n° 4 (octobre 2012): 536-49. <https://doi.org/10.1002/ana.23626>.
- Kang, Shinwoo, Jinho Kim, et Keun-A. Chang. « Spatial Memory Deficiency Early in 6xTg Alzheimer's Disease Mouse Model ». *Scientific Reports* 11, n° 1 (14 janvier 2021): 1-15. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-79344-5>.
- Kaplan, Eitan, Salman Zubedat, Inna Radzishevsky, Alec C. Valenta, Ohad Rechnitz, Hagit Sason, Clara Sajrawi, et al. « ASCT1 (Slc1a4) Transporter Is a Physiologic Regulator of Brain d-Serine and Neurodevelopment ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 115, n° 38 (18 septembre 2018): 9628-33. <https://doi.org/10.1073/pnas.1722677115>.
- Karran, Eric, Marc Mercken, et Bart De Strooper. « The Amyloid Cascade Hypothesis for Alzheimer's Disease: An Appraisal for the Development of Therapeutics ». *Nature Reviews. Drug Discovery* 10, n° 9 (19 août 2011): 698-712. <https://doi.org/10.1038/nrd3505>.

- Kartvelishvily, Elena, Maria Shleper, Livia Balan, Elena Dumin, et Herman Wolosker. « Neuron-Derived D-Serine Release Provides a Novel Means to Activate N-Methyl-D-Aspartate Receptors ». *The Journal of Biological Chemistry* 281, n° 20 (19 mai 2006): 14151-62. <https://doi.org/10.1074/jbc.M512927200>.
- Katsuki, Hiroshi, Miki Nonaka, Hisashi Shirakawa, Toshiaki Kume, et Akinori Akaike. « Endogenous D-Serine Is Involved in Induction of Neuronal Death by N-Methyl-D-Aspartate and Simulated Ischemia in Rat Cerebrocortical Slices ». *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 311, n° 2 (novembre 2004): 836-44. <https://doi.org/10.1124/jpet.104.070912>.
- Kayed, Rakez, et Cristian A. Lasagna-Reeves. « Molecular Mechanisms of Amyloid Oligomers Toxicity ». *Journal of Alzheimer's Disease: JAD* 33 Suppl 1 (2013): S67-78. <https://doi.org/10.3233/JAD-2012-129001>.
- Kazim, Syed Faraz, Joon Ho Seo, Riccardo Bianchi, Chloe S. Larson, Abhijeet Sharma, Robert K. S. Wong, Kirill Y. Gorbachev, et Ana C. Pereira. « Neuronal Network Excitability in Alzheimer's Disease: The Puzzle of Similar versus Divergent Roles of Amyloid  $\beta$  and Tau ». *ENeuro* 8, n° 2 (avril 2021): ENEURO.0418-20.2020. <https://doi.org/10.1523/ENeuro.0418-20.2020>.
- Kim, J. H., R. Anwyl, Y. H. Suh, M. B. Djamgoz, et M. J. Rowan. « Use-Dependent Effects of Amyloidogenic Fragments of (Beta)-Amyloid Precursor Protein on Synaptic Plasticity in Rat Hippocampus in Vivo ». *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 21, n° 4 (15 février 2001): 1327-33.
- Kimura, Ryoichi, et Masuo Ohno. « Impairments in Remote Memory Stabilization Precede Hippocampal Synaptic and Cognitive Failures in 5XFAD Alzheimer Mouse Model ». *Neurobiology of Disease* 33, n° 2 (février 2009): 229-35. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2008.10.006>.
- Klohs, Jan. « An Integrated View on Vascular Dysfunction in Alzheimer's Disease ». *Neuro-Degenerative Diseases* 19, n° 3-4 (2019): 109-27. <https://doi.org/10.1159/000505625>.
- Korzhova, V., P. Marinković, J. Rudan Njavro, P. M. Goltstein, F. Sun, S. Tahirovic, J. Herms, et S. Liebscher. « Long-Term Dynamics of Aberrant Neuronal Activity in Awake Alzheimer's Disease Transgenic Mice ». *Communications Biology* 4, n° 1 (7 décembre 2021): 1-12. <https://doi.org/10.1038/s42003-021-02884-7>.
- Kunz, Lukas, Tobias Navarro Schröder, Hweeling Lee, Christian Montag, Bernd Lachmann, Rayna Sariyska, Martin Reuter, et al. « Reduced Grid-Cell-like Representations in Adults at Genetic Risk for Alzheimer's Disease ». *Science (New York, N.Y.)* 350, n° 6259 (23 octobre 2015): 430-33. <https://doi.org/10.1126/science.aac8128>.
- Lamsa, Karri, Elaine E. Irvine, K. Peter Giese, et Dimitri M. Kullmann. « NMDA Receptor-Dependent Long-Term Potentiation in Mouse Hippocampal Interneurons Shows a Unique Dependence on Ca<sup>2+</sup>/Calmodulin-Dependent Kinases ». *The Journal of Physiology* 584, n° 3 (2007): 885-94. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2007.137380>.
- Larson, John, et Erin Munkácsy. « Theta-Burst LTP ». *Brain Research* 1621 (24 septembre 2015): 38-50. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2014.10.034>.
- Le Bail, Matildé, Magalie Martineau, Silvia Sacchi, Natalia Yatsenko, Inna Radzishovsky, Sandrine Conrod, Karima Ait Ouares, et al. « Identity of the NMDA Receptor Coagonist Is Synapse Specific

and Developmentally Regulated in the Hippocampus ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 112, n° 2 (13 janvier 2015): E204-213. <https://doi.org/10.1073/pnas.1416668112>.

- Le Douce, Juliette, Marianne Maugard, Julien Veran, Marco Matos, Pierrick Jégo, Pierre-Antoine Vigneron, Emilie Faivre, et al. « Impairment of Glycolysis-Derived l-Serine Production in Astrocytes Contributes to Cognitive Deficits in Alzheimer's Disease ». *Cell Metabolism* 31, n° 3 (3 mars 2020): 503-517.e8. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2020.02.004>.
- Leal, Stephanie L, Susan M Landau, Rachel K Bell, et William J Jagust. « Hippocampal activation is associated with longitudinal amyloid accumulation and cognitive decline ». *eLife* 6 (s. d.): e22978. <https://doi.org/10.7554/eLife.22978>.
- Lei, Ming, Huixin Xu, Zhangyuan Li, Zemin Wang, Tiernan T. O'Malley, Dainan Zhang, Dominic M. Walsh, Pingyi Xu, Dennis J. Selkoe, et Shaomin Li. « Soluble A $\beta$  Oligomers Impair Hippocampal LTP by Disrupting Glutamatergic/GABAergic Balance ». *Neurobiology of Disease* 85 (janvier 2016): 111-21. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2015.10.019>.
- Lelong-Boulouard, Véronique, Thomas Quentin, Fabien Moreaux, Danièle Debruyne, Michel Boulouard, et Antoine Coquerel. « Interactions of Buprenorphine and Dipotassium Clorazepate on Anxiety and Memory Functions in the Mouse ». *Drug and Alcohol Dependence* 85, n° 2 (novembre 2006): 103-13. <https://doi.org/10.1016/j.drugalcdep.2006.03.017>.
- Leutgeb, Jill K., Stefan Leutgeb, May-Britt Moser, et Edvard I. Moser. « Pattern Separation in the Dentate Gyrus and CA3 of the Hippocampus ». *Science (New York, N.Y.)* 315, n° 5814 (16 février 2007): 961-66. <https://doi.org/10.1126/science.1135801>.
- Li, Ning, Yang Li, Li-Juan Li, Ke Zhu, Yan Zheng, et Xiao-Min Wang. « Glutamate receptor delocalization in postsynaptic membrane and reduced hippocampal synaptic plasticity in the early stage of Alzheimer's disease ». *Neural Regeneration Research* 14, n° 6 (juin 2019): 1037-45. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.250625>.
- Li, S., M. Mallory, M. Alford, S. Tanaka, et E. Masliah. « Glutamate Transporter Alterations in Alzheimer Disease Are Possibly Associated with Abnormal APP Expression ». *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology* 56, n° 8 (août 1997): 901-11. <https://doi.org/10.1097/00005072-199708000-00008>.
- Li, Shaomin, Soyong Hong, Nina E. Shepardson, Dominic M. Walsh, Ganesh M. Shankar, et Dennis Selkoe. « Soluble Oligomers of Amyloid Beta Protein Facilitate Hippocampal Long-Term Depression by Disrupting Neuronal Glutamate Uptake ». *Neuron* 62, n° 6 (25 juin 2009): 788-801. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2009.05.012>.
- Li, Shaomin, Ming Jin, Thomas Koeglsperger, Nina E. Shepardson, Ganesh M. Shankar, et Dennis J. Selkoe. « Soluble A $\beta$  Oligomers Inhibit Long-Term Potentiation through a Mechanism Involving Excessive Activation of Extrasynaptic NR2B-Containing NMDA Receptors ». *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 31, n° 18 (4 mai 2011): 6627-38. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0203-11.2011>.
- Li, Yan, Silvia Sacchi, Loredano Pollegioni, Alo C. Basu, Joseph T. Coyle, et Vadim Y. Bolshakov. « Identity of Endogenous NMDAR Glycine Site Agonist in Amygdala Is Determined by Synaptic

Activity Level ». *Nature Communications* 4 (2013): 1760.  
<https://doi.org/10.1038/ncomms2779>.

Li, Yuan-Long, Peng-Fei Wu, Jian-Guo Chen, Sheng Wang, Qian-Qian Han, Dan Li, Wen Wang, et al. « Activity-Dependent Sulfhydration Signal Controls N-Methyl-D-Aspartate Subtype Glutamate Receptor-Dependent Synaptic Plasticity via Increasing d-Serine Availability ». *Antioxidants & Redox Signaling* 27, n° 7 (1 septembre 2017): 398-414. <https://doi.org/10.1089/ars.2016.6936>.

Liu, Jinping, Lirong Chang, Yizhi Song, Hui Li, et Yan Wu. « The Role of NMDA Receptors in Alzheimer's Disease ». *Frontiers in Neuroscience* 13 (2019).  
<https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fnins.2019.00043>.

« Long-term potentiation and the role of N-methyl-d-aspartate receptors - ScienceDirect ». Consulté le 6 mars 2022. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S000689931500027X>.

López-Valdés, Héctor E., Andrew N. Clarkson, Yan Ao, Andrew C. Charles, S. Thomas Carmichael, Michael V. Sofroniew, et K. C. Brennan. « Memantine Enhances Recovery from Stroke ». *Stroke* 45, n° 7 (juillet 2014): 2093-2100. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.113.004476>.

Lujan, Brendan, Xiaoxuan Liu, et Qi Wan. « Differential Roles of GluN2A- and GluN2B-Containing NMDA Receptors in Neuronal Survival and Death ». *International Journal of Physiology, Pathophysiology and Pharmacology* 4, n° 4 (2012): 211-18.

Luo, Y., T. Sunderland, G. S. Roth, et B. Wolozin. « Physiological Levels of  $\beta$ -Amyloid Peptide Promote PC12 Cell Proliferation ». *Neuroscience Letters* 217, n° 2 (18 octobre 1996): 125-28.  
[https://doi.org/10.1016/0304-3940\(96\)13087-1](https://doi.org/10.1016/0304-3940(96)13087-1).

Lüscher, Christian, et Robert C. Malenka. « NMDA Receptor-Dependent Long-Term Potentiation and Long-Term Depression (LTP/LTD) ». *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* 4, n° 6 (1 juin 2012): a005710. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a005710>.

Ma, Ting Martin, Bindu D. Paul, Chenglai Fu, Shaohui Hu, Heng Zhu, Seth Blackshaw, Herman Wolosker, et Solomon H. Snyder. « Serine Racemase Regulated by Binding to Stargazin and PSD-95 ». *Journal of Biological Chemistry* 289, n° 43 (24 octobre 2014): 29631-41.  
<https://doi.org/10.1074/jbc.M114.571604>.

Maarouf, Chera L., Tyler A. Kokjohn, Charisse M. Whiteside, MiMi P. Macias, Walter M. Kalback, Marwan N. Sabbagh, Thomas G. Beach, Robert Vassar, et Alex E. Roher. « Molecular Differences and Similarities Between Alzheimer's Disease and the 5XFAD Transgenic Mouse Model of Amyloidosis ». *Biochemistry Insights* 6 (2013): 1-10. <https://doi.org/10.4137/BCI.S13025>.

Madeira, C., M. V. Lourenco, C. Vargas-Lopes, C. K. Suemoto, C. O. Brandão, T. Reis, R. E. P. Leite, et al. « D-Serine Levels in Alzheimer's Disease: Implications for Novel Biomarker Development ». *Translational Psychiatry* 5 (5 mai 2015): e561. <https://doi.org/10.1038/tp.2015.52>.

Maiti, Panchanan, Zackary Bowers, Ali Bourcier-Schultz, Jarod Morse, et Gary L. Dunbar. « Preservation of Dendritic Spine Morphology and Postsynaptic Signaling Markers after Treatment with Solid Lipid Curcumin Particles in the 5xFAD Mouse Model of Alzheimer's Amyloidosis ». *Alzheimer's Research & Therapy* 13, n° 1 (8 février 2021): 37.  
<https://doi.org/10.1186/s13195-021-00769-9>.

- Malenka, R. C., et R. A. Nicoll. « NMDA-Receptor-Dependent Synaptic Plasticity: Multiple Forms and Mechanisms ». *Trends in Neurosciences* 16, n° 12 (décembre 1993): 521-27. [https://doi.org/10.1016/0166-2236\(93\)90197-t](https://doi.org/10.1016/0166-2236(93)90197-t).
- Malinow, Roberto. « New developments on the role of NMDA receptors in Alzheimer's disease ». *Current opinion in neurobiology* 22, n° 3 (juin 2012): 559-63. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2011.09.001>.
- Martín-Belmonte, Alejandro, Carolina Aguado, Rocío Alfaro-Ruíz, Ana Esther Moreno-Martínez, Luis de la Ossa, José Martínez-Hernández, Alain Buisson, et al. « Reduction in the Neuronal Surface of Post and Presynaptic GABAB Receptors in the Hippocampus in a Mouse Model of Alzheimer's Disease ». *Brain Pathology (Zurich, Switzerland)* 30, n° 3 (mai 2020): 554-75. <https://doi.org/10.1111/bpa.12802>.
- Martineau, Magalie, Gérard Baux, et Jean-Pierre Mothet. « Gliotransmission at Central Glutamatergic Synapses: D-Serine on Stage ». *Journal of Physiology, Paris* 99, n° 2-3 (mai 2006): 103-10. <https://doi.org/10.1016/j.jphysparis.2005.12.011>.
- Masliah, E., M. Alford, R. DeTeresa, M. Mallory, et L. Hansen. « Deficient Glutamate Transport Is Associated with Neurodegeneration in Alzheimer's Disease ». *Annals of Neurology* 40, n° 5 (novembre 1996): 759-66. <https://doi.org/10.1002/ana.410400512>.
- Mawuenyega, Kwasi G., Wendy Sigurdson, Vitaliy Ovod, Ling Munsell, Tom Kasten, John C. Morris, Kevin E. Yarasheski, et Randall J. Bateman. « Decreased Clearance of CNS Beta-Amyloid in Alzheimer's Disease ». *Science (New York, N.Y.)* 330, n° 6012 (24 décembre 2010): 1774. <https://doi.org/10.1126/science.1197623>.
- McBain, C. J., N. W. Kleckner, S. Wyrick, et R. Dingledine. « Structural Requirements for Activation of the Glycine Coagonist Site of N-Methyl-D-Aspartate Receptors Expressed in *Xenopus* Oocytes ». *Molecular Pharmacology* 36, n° 4 (octobre 1989): 556-65.
- McGowan, Eileen, Fiona Pickford, Jungsu Kim, Luisa Onstead, Jason Eriksen, Cindy Yu, Lisa Skipper, et al. « Abeta42 Is Essential for Parenchymal and Vascular Amyloid Deposition in Mice ». *Neuron* 47, n° 2 (21 juillet 2005): 191-99. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2005.06.030>.
- Mendez, Mario F. « The Relationship Between Anxiety and Alzheimer's Disease<sup>1</sup> ». *Journal of Alzheimer's Disease Reports* 5, n° 1 (s. d.): 171-77. <https://doi.org/10.3233/ADR-210294>.
- Mensch, Maria, Jade Dunot, Sandy M. Yishan, Samuel S. Harris, Aline Blistein, Alban Avdiu, Paula A. Pousinha, et al. « A $\eta$ - $\alpha$  and A $\eta$ - $\beta$  peptides impair LTP ex vivo within the low nanomolar range and impact neuronal activity in vivo ». *Alzheimer's Research & Therapy* 13, n° 1 (8 juillet 2021): 125. <https://doi.org/10.1186/s13195-021-00860-1>.
- Michaelson, Daniel M. « APOE E4: The Most Prevalent yet Understudied Risk Factor for Alzheimer's Disease ». *Alzheimer's & Dementia: The Journal of the Alzheimer's Association* 10, n° 6 (novembre 2014): 861-68. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2014.06.015>.
- Miya, Kazushi, Ran Inoue, Yoshimi Takata, Manabu Abe, Rie Natsume, Kenji Sakimura, Kazuhisa Hongou, Toshio Miyawaki, et Hisashi Mori. « Serine Racemase Is Predominantly Localized in Neurons in Mouse Brain ». *The Journal of Comparative Neurology* 510, n° 6 (20 octobre 2008): 641-54. <https://doi.org/10.1002/cne.21822>.

- Miyoshi, Yurika, Kenji Hamase, Tadashi Okamura, Ryuichi Konno, Noriyuki Kasai, Yosuke Tojo, et Kiyoshi Zaitzu. « Simultaneous Two-Dimensional HPLC Determination of Free D-Serine and D-Alanine in the Brain and Periphery of Mutant Rats Lacking D-Amino-Acid Oxidase ». *Journal of Chromatography. B, Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences* 879, n° 29 (1 novembre 2011): 3184-89. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2010.08.024>.
- Miyoshi, Yurika, Kenji Hamase, Yosuke Tojo, Masashi Mita, Ryuichi Konno, et Kiyoshi Zaitzu. « Determination of D-Serine and D-Alanine in the Tissues and Physiological Fluids of Mice with Various D-Amino-Acid Oxidase Activities Using Two-Dimensional High-Performance Liquid Chromatography with Fluorescence Detection ». *Journal of Chromatography. B, Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences* 877, n° 24 (15 août 2009): 2506-12. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2009.06.028>.
- « Molecular biomarkers of Alzheimer's disease: progress and prospects - PubMed ». Consulté le 6 mars 2022. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29739861/>.
- Montesinos Guevara, Camila, et Ali R. Mani. « The Role of D-Serine in Peripheral Tissues ». *European Journal of Pharmacology* 780 (5 juin 2016): 216-23. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2016.03.054>.
- Moodley, K. K., et D. Chan. « The Hippocampus in Neurodegenerative Disease ». *Frontiers of Neurology and Neuroscience* 34 (2014): 95-108. <https://doi.org/10.1159/000356430>.
- Morita, Yukitaka, Hiroshi Ujike, Yuji Tanaka, Kyohei Otani, Makiko Kishimoto, Akiko Morio, Tatsuya Kotaka, et al. « A Genetic Variant of the Serine Racemase Gene Is Associated with Schizophrenia ». *Biological Psychiatry* 61, n° 10 (15 mai 2007): 1200-1203. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2006.07.025>.
- Morley, John E., et Susan A. Farr. « The Role of Amyloid-Beta in the Regulation of Memory ». *Biochemical Pharmacology* 88, n° 4 (15 avril 2014): 479-85. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2013.12.018>.
- Morris, Richard G. M. « Spatial Localization Does Not Require the Presence of Local Cues ». *Learning and Motivation* 12, n° 2 (1 mai 1981): 239-60. [https://doi.org/10.1016/0023-9690\(81\)90020-5](https://doi.org/10.1016/0023-9690(81)90020-5).
- Mota, Sandra I., Ildete L. Ferreira, et A. Cristina Rego. « Dysfunctional Synapse in Alzheimer's Disease - A Focus on NMDA Receptors ». *Neuropharmacology* 76 Pt A (janvier 2014): 16-26. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2013.08.013>.
- Mothet, J. P., A. T. Parent, H. Wolosker, R. O. Brady, D. J. Linden, C. D. Ferris, M. A. Rogawski, et S. H. Snyder. « D-Serine Is an Endogenous Ligand for the Glycine Site of the N-Methyl-D-Aspartate Receptor ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 97, n° 9 (25 avril 2000): 4926-31. <https://doi.org/10.1073/pnas.97.9.4926>.
- Mothet, Jean-Pierre, Jean-Marie Billard, Loredano Pollegioni, Joseph T. Coyle, et Jonathan V. Sweedler. « Investigating Brain D-Serine: Advocacy for Good Practices ». *Acta Physiologica (Oxford, England)* 226, n° 1 (mai 2019): e13257. <https://doi.org/10.1111/apha.13257>.
- Mueller, Susanne G., Norbert Schuff, Kristine Yaffe, Catherine Madison, Bruce Miller, et Michael W. Weiner. « Hippocampal Atrophy Patterns in Mild Cognitive Impairment and Alzheimer's Disease ». *Human Brain Mapping* 31, n° 9 (septembre 2010): 1339-47. <https://doi.org/10.1002/hbm.20934>.

- Mufson, E. J., L. Mahady, D. Waters, S. E. Counts, S. E. Perez, S. T. DeKosky, S. D. Ginsberg, M. D. Ikonovic, S. W. Scheff, et L. I. Binder. « Hippocampal Plasticity during the Progression of Alzheimer's Disease ». *Neuroscience* 309 (19 novembre 2015): 51-67. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2015.03.006>.
- Mustafa, Asif K., Abdullah S. Ahmad, Emil Zeynalov, Sadia K. Gazi, Gautam Sikka, Jeffrey T. Ehmsen, Roxanne K. Barrow, Joseph T. Coyle, Solomon H. Snyder, et Sylvain Doré. « Serine Racemase Deletion Protects against Cerebral Ischemia and Excitotoxicity ». *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 30, n° 4 (27 janvier 2010): 1413-16. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4297-09.2010>.
- Nagata, Y., R. Yamada, H. Nagasaki, R. Konno, et Y. Yasumura. « Administration of D-Alanine Did Not Cause Increase of D-Amino Acid Oxidase Activity in Mice ». *Experientia* 47, n° 8 (15 août 1991): 835-38. <https://doi.org/10.1007/BF01922467>.
- Nagata, Yoko, Kihachiro Horiike, et Toshihiro Maeda. « Distribution of Freed-Serine in Vertebrate Brains ». *Brain Research* 634, n° 2 (21 janvier 1994): 291-95. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(94\)91932-1](https://doi.org/10.1016/0006-8993(94)91932-1).
- Nakai, Tsuyoshi, Kiyofumi Yamada, et Hiroyuki Mizoguchi. « Alzheimer's Disease Animal Models: Elucidation of Biomarkers and Therapeutic Approaches for Cognitive Impairment ». *International Journal of Molecular Sciences* 22, n° 11 (24 mai 2021): 5549. <https://doi.org/10.3390/ijms22115549>.
- Nakauchi, J., H. Matsuo, D. K. Kim, A. Goto, A. Chairoungdua, S. H. Cha, J. Inatomi, et al. « Cloning and Characterization of a Human Brain Na(+)-Independent Transporter for Small Neutral Amino Acids That Transports D-Serine with High Affinity ». *Neuroscience Letters* 287, n° 3 (30 juin 2000): 231-35. [https://doi.org/10.1016/s0304-3940\(00\)01169-1](https://doi.org/10.1016/s0304-3940(00)01169-1).
- Naseri, Nima N., Hong Wang, Jennifer Guo, Manu Sharma, et Wenjie Luo. « The Complexity of Tau in Alzheimer's Disease ». *Neuroscience Letters* 705 (13 juillet 2019): 183-94. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2019.04.022>.
- « National Institute on Aging-Alzheimer's Association guidelines for the neuropathologic assessment of Alzheimer's disease - PubMed ». Consulté le 6 mars 2022. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22265587/>.
- Naur, Peter, Kasper B. Hansen, Anders S. Kristensen, Shashank M. Dravid, Darryl S. Pickering, Lars Olsen, Bente Vestergaard, et al. « Ionotropic Glutamate-like Receptor Delta2 Binds D-Serine and Glycine ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 104, n° 35 (28 août 2007): 14116-21. <https://doi.org/10.1073/pnas.0703718104>.
- Nelson, Peter T., Irina Alafuzoff, Eileen H. Bigio, Constantin Bouras, Heiko Braak, Nigel J. Cairns, Rudolph J. Castellani, et al. « Correlation of Alzheimer Disease Neuropathologic Changes With Cognitive Status: A Review of the Literature ». *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology* 71, n° 5 (1 mai 2012): 362-81. <https://doi.org/10.1097/NEN.0b013e31825018f7>.
- Neuner, Sarah M., Sarah E. Heuer, Matthew J. Huentelman, Kristen M. S. O'Connell, et Catherine C. Kaczorowski. « Harnessing Genetic Complexity to Enhance Translatability of Alzheimer's Disease Mouse Models: A Path toward Precision Medicine ». *Neuron* 101, n° 3 (6 février 2019): 399-411.e5. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2018.11.040>.



- Newman, Morgan, Doris Kretschmar, Imran Khan, Mengqi Chen, Giuseppe Verdile, et Michael Lardelli. « Chapter 40 - Animal Models of Alzheimer's Disease ». In *Animal Models for the Study of Human Disease (Second Edition)*, édité par P. Michael Conn, 1031-85. Academic Press, 2017. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809468-6.00040-1>.
- Nicholls, Russell E., Juan Marcos Alarcon, Gaël Malleret, Reed C. Carroll, Michael Grody, Svetlana Vronskaya, et Eric R. Kandel. « Transgenic Mice Lacking NMDAR-Dependent LTD Exhibit Deficits in Behavioral Flexibility ». *Neuron* 58, n° 1 (10 avril 2008): 104-17. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2008.01.039>.
- Nicoll, Roger A. « A Brief History of Long-Term Potentiation ». *Neuron* 93, n° 2 (18 janvier 2017): 281-90. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2016.12.015>.
- Nong, Yi, Yue-Qiao Huang, William Ju, Lorraine V. Kalia, Gholamreza Ahmadian, Yu Tian Wang, et Michael W. Salter. « Glycine Binding Primes NMDA Receptor Internalization ». *Nature* 422, n° 6929 (20 mars 2003): 302-7. <https://doi.org/10.1038/nature01497>.
- Nuzzo, Tommaso, Mattia Miroballo, Alessia Casamassa, Andrea Mancini, Lorenzo Gaetani, Robert Nisticò, Paolo Eusebi, et al. « Cerebrospinal Fluid and Serum D-Serine Concentrations Are Unaltered across the Whole Clinical Spectrum of Alzheimer's Disease ». *Biochimica Et Biophysica Acta. Proteins and Proteomics* 1868, n° 12 (décembre 2020): 140537. <https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2020.140537>.
- Oakley, Holly, Sarah L. Cole, Sreemathi Logan, Erika Maus, Pei Shao, Jeffery Craft, Angela Guillozet-Bongaarts, et al. « Intraneuronal  $\beta$ -Amyloid Aggregates, Neurodegeneration, and Neuron Loss in Transgenic Mice with Five Familial Alzheimer's Disease Mutations: Potential Factors in Amyloid Plaque Formation ». *Journal of Neuroscience* 26, n° 40 (4 octobre 2006): 10129-40. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1202-06.2006>.
- O'Brien, Richard J., et Philip C. Wong. « Amyloid Precursor Protein Processing and Alzheimer's Disease ». *Annual Review of Neuroscience* 34 (2011): 185-204. <https://doi.org/10.1146/annurev-neuro-061010-113613>.
- Oddo, Salvatore, Antonella Caccamo, Jason D. Shepherd, M. Paul Murphy, Todd E. Golde, Rakez Kaye, Raju Metherate, Mark P. Mattson, Yama Akbari, et Frank M. LaFerla. « Triple-Transgenic Model of Alzheimer's Disease with Plaques and Tangles: Intracellular Abeta and Synaptic Dysfunction ». *Neuron* 39, n° 3 (31 juillet 2003): 409-21. [https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(03\)00434-3](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(03)00434-3).
- Oikawa, Naoto, et Jochen Walter. « Presenilins and  $\gamma$ -Secretase in Membrane Proteostasis ». *Cells* 8, n° 3 (1 mars 2019): E209. <https://doi.org/10.3390/cells8030209>.
- O'Keefe, J., et J. Dostrovsky. « The Hippocampus as a Spatial Map. Preliminary Evidence from Unit Activity in the Freely-Moving Rat ». *Brain Research* 34, n° 1 (novembre 1971): 171-75. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(71\)90358-1](https://doi.org/10.1016/0006-8993(71)90358-1).
- O'Leary, T. P., A. Robertson, P. H. Chipman, V. F. Rafuse, et R. E. Brown. « Motor Function Deficits in the 12 Month-Old Female 5xFAD Mouse Model of Alzheimer's Disease ». *Behavioural Brain Research* 337 (30 janvier 2018): 256-63. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2017.09.009>.
- Oliveira, Jade de, Ewa Kucharska, Michelle Lima Garcez, Matheus Scarpato Rodrigues, João Quevedo, Ines Moreno-Gonzalez, et Josiane Budni. « Inflammatory Cascade in Alzheimer's

- Disease Pathogenesis: A Review of Experimental Findings ». *Cells* 10, n° 10 (28 septembre 2021): 2581. <https://doi.org/10.3390/cells10102581>.
- Ondrejčák, Tomas, Igor Klyubin, Neng-Wei Hu, Andrew E. Barry, William K. Cullen, et Michael J. Rowan. « Alzheimer's Disease Amyloid Beta-Protein and Synaptic Function ». *Neuromolecular Medicine* 12, n° 1 (mars 2010): 13-26. <https://doi.org/10.1007/s12017-009-8091-0>.
- O'Riordan, Kenneth J., Neng-Wei Hu, et Michael J. Rowan. « A $\beta$  Facilitates LTD at Schaffer Collateral Synapses Preferentially in the Left Hippocampus ». *Cell Reports* 22, n° 8 (20 février 2018): 2053-65. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2018.01.085>.
- Palop, Jorge J., et Lennart Mucke. « Amyloid-Beta-Induced Neuronal Dysfunction in Alzheimer's Disease: From Synapses toward Neural Networks ». *Nature Neuroscience* 13, n° 7 (juillet 2010): 812-18. <https://doi.org/10.1038/nn.2583>.
- Pandya, Virenkumar A., et Rickie Patani. « Region-Specific Vulnerability in Neurodegeneration: Lessons from Normal Ageing ». *Ageing Research Reviews* 67 (mai 2021): 101311. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2021.101311>.
- Palygin, Oleg, Ulyana Lalo, et Yuriy Pankratov. « Distinct pharmacological and functional properties of NMDA receptors in mouse cortical astrocytes ». *British Journal of Pharmacology* 163, n° 8 (août 2011): 1755-66. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2011.01374.x>.
- Paoletti, Pierre. « Molecular Basis of NMDA Receptor Functional Diversity ». *The European Journal of Neuroscience* 33, n° 8 (avril 2011): 1351-65. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2011.07628.x>.
- Paoletti, Pierre, Camilla Bellone, et Qiang Zhou. « NMDA Receptor Subunit Diversity: Impact on Receptor Properties, Synaptic Plasticity and Disease ». *Nature Reviews. Neuroscience* 14, n° 6 (juin 2013): 383-400. <https://doi.org/10.1038/nrn3504>.
- Papouin, Thomas, Laurent Ladépêche, Jérôme Ruel, Silvia Sacchi, Marilyne Labasque, Marwa Hanini, Laurent Groc, Loredano Pollegioni, Jean-Pierre Mothet, et Stéphane H. R. Oliet. « Synaptic and Extrasynaptic NMDA Receptors Are Gated by Different Endogenous Coagonists ». *Cell* 150, n° 3 (3 août 2012): 633-46. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.06.029>.
- Park, Hwan Ki, Yuji Shishido, Sayaka Ichise-Shishido, Tomoya Kawazoe, Koji Ono, Sanae Iwana, Yumiko Tomita, Kazuko Yorita, Takashi Sakai, et Kiyoshi Fukui. « Potential Role for Astroglial D-Amino Acid Oxidase in Extracellular D-Serine Metabolism and Cytotoxicity ». *Journal of Biochemistry* 139, n° 2 (février 2006): 295-304. <https://doi.org/10.1093/jb/mvj036>.
- Park, Pojeong, Arturas Volianskis, Thomas M. Sanderson, Zuner A. Bortolotto, David E. Jane, Min Zhuo, Bong-Kiun Kaang, et Graham L. Collingridge. « NMDA receptor-dependent long-term potentiation comprises a family of temporally overlapping forms of synaptic plasticity that are induced by different patterns of stimulation ». *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 369, n° 1633 (5 janvier 2014): 20130131. <https://doi.org/10.1098/rstb.2013.0131>.
- Park, R., S.-Y. Kook, J.-C. Park, et I. Mook-Jung. « A $\beta$ 1-42 Reduces P-Glycoprotein in the Blood-Brain Barrier through RAGE-NF-KB Signaling ». *Cell Death & Disease* 5, n° 6 (juin 2014): e1299-e1299. <https://doi.org/10.1038/cddis.2014.258>.

- Parsons, Chris G., Albrecht Stöffler, et Wojciech Danysz. « Memantine: A NMDA Receptor Antagonist That Improves Memory by Restoration of Homeostasis in the Glutamatergic System--Too Little Activation Is Bad, Too Much Is Even Worse ». *Neuropharmacology* 53, n° 6 (novembre 2007): 699-723. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2007.07.013>.
- Parsons, Matthew P., et Lynn A. Raymond. « Extrasynaptic NMDA Receptor Involvement in Central Nervous System Disorders ». *Neuron* 82, n° 2 (16 avril 2014): 279-93. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2014.03.030>.
- Patterson, Christopher, John W. Feightner, Angeles Garcia, G.-Y. Robin Hsiung, Christopher MacKnight, et A. Dessa Sadovnick. « Diagnosis and treatment of dementia: 1. Risk assessment and primary prevention of Alzheimer disease ». *CMAJ : Canadian Medical Association Journal* 178, n° 5 (26 février 2008): 548-56. <https://doi.org/10.1503/cmaj.070796>.
- Persson, J., J. Lind, A. Larsson, M. Ingvar, K. Slegers, C. Van Broeckhoven, R. Adolfsson, L.-G. Nilsson, et L. Nyberg. « Altered Deactivation in Individuals with Genetic Risk for Alzheimer's Disease ». *Neuropsychologia* 46, n° 6 (2008): 1679-87. <https://doi.org/10.1016/j.neuropsychologia.2008.01.026>.
- Petrache, Alexandra L., Aarib Rajulawalla, Anqi Shi, Andrea Wetzel, Takashi Saito, Takaomi C. Saido, Kirsten Harvey, et Afia B. Ali. « Aberrant Excitatory-Inhibitory Synaptic Mechanisms in Entorhinal Cortex Microcircuits During the Pathogenesis of Alzheimer's Disease ». *Cerebral Cortex (New York, N.Y.: 1991)* 29, n° 4 (1 avril 2019): 1834-50. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhz016>.
- Piguel, Nicolas H., Sabine Fievre, Jean-Michel Blanc, Mario Carta, Maité M. Moreau, Enora Moutin, Vera L. Pinheiro, et al. « Scribble1/AP2 Complex Coordinates NMDA Receptor Endocytic Recycling ». *Cell Reports* 9, n° 2 (23 octobre 2014): 712-27. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2014.09.017>.
- Pike, Kerryn E., Greg Savage, Victor L. Villemagne, Steven Ng, Simon A. Moss, Paul Maruff, Chester A. Mathis, William E. Klunk, Colin L. Masters, et Christopher C. Rowe. « Beta-Amyloid Imaging and Memory in Non-Demented Individuals: Evidence for Preclinical Alzheimer's Disease ». *Brain: A Journal of Neurology* 130, n° Pt 11 (novembre 2007): 2837-44. <https://doi.org/10.1093/brain/awm238>.
- Piubelli, Luciano, Loredano Pollegioni, Valentina Rabattoni, Marco Mauri, Lucia Princiotta Cariddi, Maurizio Versino, et Silvia Sacchi. « Serum D-Serine Levels Are Altered in Early Phases of Alzheimer's Disease: Towards a Precocious Biomarker ». *Translational Psychiatry* 11, n° 1 (26 janvier 2021): 77. <https://doi.org/10.1038/s41398-021-01202-3>.
- Ploux, E., T. Freret, et J.-M. Billard. « D-Serine in Physiological and Pathological Brain Aging ». *Biochimica Et Biophysica Acta. Proteins and Proteomics* 1869, n° 1 (janvier 2021): 140542. <https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2020.140542>.
- Pollegioni, Loredano, Luciano Piubelli, Gianluca Molla, et Elena Rosini. « D-Amino Acid Oxidase-pLG72 Interaction and D-Serine Modulation ». *Frontiers in Molecular Biosciences* 5 (24 janvier 2018): 3. <https://doi.org/10.3389/fmolb.2018.00003>.

- PONGRÁCZ, FERENC, NICHOLAS P. POOLOS, JEFFERY D. KOCSIS, et GORDON M. SHEPHERD. « A Model of NMDA Receptor-Mediated Activity in Dendrites of Hippocampal CA1 Pyramidal Neurons ». *Journal of neurophysiology* 68, n° 6 (décembre 1992): 2248-59.
- Potter III, Richard R, Alexandra P Long, et Maya L Lichtenstein. « Population Prevalence of Autosomal Dominant Alzheimer's Disease: A Systematic Review ». *Alzheimer's & Dementia* 16, n° S10 (2020): e037129. <https://doi.org/10.1002/alz.037129>.
- Puyal, Julien, Magalie Martineau, Jean-Pierre Mothet, Marie-Thérèse Nicolas, et Jacqueline Raymond. « Changes in D-Serine Levels and Localization during Postnatal Development of the Rat Vestibular Nuclei ». *The Journal of Comparative Neurology* 497, n° 4 (1 août 2006): 610-21. <https://doi.org/10.1002/cne.21016>.
- Puzzo, Daniela, et Ottavio Arancio. « Amyloid- $\beta$  Peptide: Dr. Jekyll or Mr. Hyde? » *Journal of Alzheimer's Disease: JAD* 33 Suppl 1 (2013): S111-120. <https://doi.org/10.3233/JAD-2012-129033>.
- Qiu, Chengxuan, Miia Kivipelto, et Eva von Strauss. « Epidemiology of Alzheimer's disease: occurrence, determinants, and strategies toward intervention ». *Dialogues in Clinical Neuroscience* 11, n° 2 (juin 2009): 111-28.
- Qiu, Tian, Qian Liu, Yong-Xiang Chen, Yu-Fen Zhao, et Yan-Mei Li. « A $\beta$ 42 and A $\beta$ 40: Similarities and Differences ». *Journal of Peptide Science* 21, n° 7 (2015): 522-29. <https://doi.org/10.1002/psc.2789>.
- Quiroz, Yakeel T., Andrew E. Budson, Kim Celone, Adriana Ruiz, Randall Newmark, Gabriel Castrillón, Francisco Lopera, et Chantal E. Stern. « Hippocampal Hyperactivation in Presymptomatic Familial Alzheimer's Disease ». *Annals of Neurology* 68, n° 6 (décembre 2010): 865-75. <https://doi.org/10.1002/ana.22105>.
- Quon, D., Y. Wang, R. Catalano, J. Marian Scardina, K. Murakami, et B. Cordell. « Formation of  $\beta$ -Amyloid Protein Deposits in Brains of Transgenic Mice ». *Nature* 352, n° 6332 (juillet 1991): 239-41. <https://doi.org/10.1038/352239a0>.
- Rabbito, Alessandro, Maciej Dulewicz, Agnieszka Kulczyńska-Przybik, et Barbara Mroczko. « Biochemical Markers in Alzheimer's Disease ». *International Journal of Molecular Sciences* 21, n° 6 (14 mars 2020): E1989. <https://doi.org/10.3390/ijms21061989>.
- Rahman, Aneela, Eva Schelbaum, Katherine Hoffman, Ivan Diaz, Hollie Hristov, Randolph Andrews, Steven Jett, et al. « Sex-Driven Modifiers of Alzheimer Risk: A Multimodality Brain Imaging Study ». *Neurology* 95, n° 2 (14 juillet 2020): e166-78. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000009781>.
- Ranasinghe, Kamalini G., Kiwamu Kudo, Leighton Hinkley, Alexander Beagle, Hannah Lerner, Danielle Mizuiri, Anne Findlay, et al. « Neuronal Synchrony Abnormalities Associated with Subclinical Epileptiform Activity in Early Onset Alzheimer's Disease ». *Brain: A Journal of Neurology*, 17 décembre 2021, awab442. <https://doi.org/10.1093/brain/awab442>.
- Ripke, Stephan, Benjamin M. Neale, Aiden Corvin, James T. R. Walters, Kai-How Farh, Peter A. Holmans, Phil Lee, et al. « Biological Insights from 108 Schizophrenia-Associated Genetic Loci ». *Nature* 511, n° 7510 (juillet 2014): 421-27. <https://doi.org/10.1038/nature13595>.

- Roher, Alex E., Tyler A. Kokjohn, Steven G. Clarke, Michael R. Sierks, Chera L. Maarouf, Geidy E. Serrano, Marwan S. Sabbagh, et Thomas G. Beach. « APP/A $\beta$  Structural Diversity and Alzheimer's Disease Pathogenesis ». *Neurochemistry international* 110 (novembre 2017): 1-13. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2017.08.007>.
- Rose, Christiane, Emilie Dorard, Mickael Audrain, Lucie Gorisse-Hussonnois, Nathalie Cartier, Jérôme Braudeau, et Bernadette Allinquant. « Transient Increase in SAPP $\alpha$  Secretion in Response to A $\beta$ 1-42 Oligomers: An Attempt of Neuronal Self-Defense? » *Neurobiology of Aging* 61 (janvier 2018): 23-35. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2017.09.008>.
- Rosenberg, Dina, Samar Artoul, Adi C. Segal, Goren Kolodney, Inna Radzishovsky, Elena Dikopoltsev, Veronika N. Foltyn, et al. « Neuronal D-Serine and Glycine Release via the Asc-1 Transporter Regulates NMDA Receptor-Dependent Synaptic Activity ». *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 33, n° 8 (20 février 2013): 3533-44. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3836-12.2013>.
- Roux, Candice M., Marianne Leger, et Thomas Freret. « Memory Disorders Related to Hippocampal Function: The Interest of 5-HT4Rs Targeting ». *International Journal of Molecular Sciences* 22, n° 21 (8 novembre 2021): 12082. <https://doi.org/10.3390/ijms222112082>.
- Rudy, Carolyn C., Holly C. Hunsberger, Daniel S. Weitzner, et Miranda N. Reed. « The Role of the Tripartite Glutamatergic Synapse in the Pathophysiology of Alzheimer's Disease ». *Aging and Disease* 6, n° 2 (mars 2015): 131-48. <https://doi.org/10.14336/AD.2014.0423>.
- Ruiter, Marvin, Lotte J. Herstel, et Corette J. Wierenga. « Reduction of Dendritic Inhibition in CA1 Pyramidal Neurons in Amyloidosis Models of Early Alzheimer's Disease ». *Journal of Alzheimer's Disease* 78, n° 3 (s. d.): 951-64. <https://doi.org/10.3233/JAD-200527>.
- Rush, Travis, et Alain Buisson. « Reciprocal Disruption of Neuronal Signaling and A $\beta$  Production Mediated by Extrasynaptic NMDA Receptors: A Downward Spiral ». *Cell and Tissue Research* 356, n° 2 (mai 2014): 279-86. <https://doi.org/10.1007/s00441-013-1789-1>.
- Ryman, Davis, Yuan Gao, et Bruce T. Lamb. « Genetic Loci Modulating Amyloid-Beta Levels in a Mouse Model of Alzheimer's Disease ». *Neurobiology of Aging* 29, n° 8 (août 2008): 1190-98. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2007.02.017>.
- Sabuncu, Mert R., Rahul S. Desikan, Jorge Sepulcre, Boon Thye T. Yeo, Hesheng Liu, Nicholas J. Schmansky, Martin Reuter, et al. « The Dynamics of Cortical and Hippocampal Atrophy in Alzheimer Disease ». *Archives of Neurology* 68, n° 8 (août 2011): 1040-48. <https://doi.org/10.1001/archneurol.2011.167>.
- Salmon, David P., Nelson Butters, et Agnes S. Chan. « The deterioration of semantic memory in Alzheimer's disease ». *Canadian Journal of Experimental Psychology/Revue canadienne de psychologie expérimentale* 53, n° 1 (1999): 108-17. <https://doi.org/10.1037/h0087303>.
- Sanchez-Varo, Raquel, Elisabeth Sanchez-Mejias, Juan Jose Fernandez-Valenzuela, Vanessa De Castro, Marina Mejias-Ortega, Angela Gomez-Arboledas, Sebastian Jimenez, et al. « Plaque-Associated Oligomeric Amyloid-Beta Drives Early Synaptotoxicity in APP/PS1 Mice Hippocampus: Ultrastructural Pathology Analysis ». *Frontiers in Neuroscience* 15 (2021): 752594. <https://doi.org/10.3389/fnins.2021.752594>.

- Sasabe, Jumpei, Tomohiro Chiba, Marina Yamada, Koichi Okamoto, Ikuo Nishimoto, Masaaki Matsuoka, et Sadakazu Aiso. « D-Serine Is a Key Determinant of Glutamate Toxicity in Amyotrophic Lateral Sclerosis ». *The EMBO Journal* 26, n° 18 (19 septembre 2007): 4149-59. <https://doi.org/10.1038/sj.emboj.7601840>.
- Sasabe, Jumpei, Yurika Miyoshi, Masataka Suzuki, Masashi Mita, Ryuichi Konno, Masaaki Matsuoka, Kenji Hamase, et Sadakazu Aiso. « D-Amino Acid Oxidase Controls Motoneuron Degeneration through D-Serine ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 109, n° 2 (10 janvier 2012): 627-32. <https://doi.org/10.1073/pnas.1114639109>.
- Sasabe, Jumpei, Masataka Suzuki, Nobuaki Imanishi, et Sadakazu Aiso. « Activity of D-amino acid oxidase is widespread in the human central nervous system ». *Frontiers in Synaptic Neuroscience* 6 (10 juin 2014): 14. <https://doi.org/10.3389/fnsyn.2014.00014>.
- Schell, M. J., R. O. Brady, M. E. Molliver, et S. H. Snyder. « D-Serine as a Neuromodulator: Regional and Developmental Localizations in Rat Brain Glia Resemble NMDA Receptors ». *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 17, n° 5 (1 mars 1997): 1604-15.
- Schell, M. J., M. E. Molliver, et S. H. Snyder. « D-Serine, an Endogenous Synaptic Modulator: Localization to Astrocytes and Glutamate-Stimulated Release ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 92, n° 9 (25 avril 1995): 3948-52. <https://doi.org/10.1073/pnas.92.9.3948>.
- Schneider, F., K. Baldauf, W. Wetzel, et K. G. Reymann. « Behavioral and EEG Changes in Male 5xFAD Mice ». *Physiology & Behavior* 135 (août 2014): 25-33. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2014.05.041>.
- Schuff, N., A. A. Capizzano, A. T. Du, D. L. Amend, J. O'Neill, D. Norman, J. Kramer, et al. « Selective Reduction of N-Acetylaspartate in Medial Temporal and Parietal Lobes in AD ». *Neurology* 58, n° 6 (26 mars 2002): 928-35. <https://doi.org/10.1212/wnl.58.6.928>.
- Schuff, N., N. Woerner, L. Boreta, T. Kornfield, L. M. Shaw, J. Q. Trojanowski, P. M. Thompson, C. R. Jack Jr, M. W. Weiner, et the Alzheimer's; Disease Neuroimaging Initiative. « MRI of hippocampal volume loss in early Alzheimer's disease in relation to ApoE genotype and biomarkers ». *Brain* 132, n° 4 (1 avril 2009): 1067-77. <https://doi.org/10.1093/brain/awp007>.
- Scott, Heather A., Florian M. Gebhardt, Ann D. Mitrovic, Robert J. Vandenberg, et Peter R. Dodd. « Glutamate Transporter Variants Reduce Glutamate Uptake in Alzheimer's Disease ». *Neurobiology of Aging* 32, n° 3 (mars 2011): 553.e1-11. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2010.03.008>.
- Seibenhener, Michael L., et Michael C. Wooten. « Use of the Open Field Maze to Measure Locomotor and Anxiety-like Behavior in Mice ». *Journal of Visualized Experiments : JoVE*, n° 96 (6 février 2015): 52434. <https://doi.org/10.3791/52434>.
- Selkoe, Dennis J. « Alzheimer Disease and Aducanumab: Adjusting Our Approach ». *Nature Reviews. Neurology* 15, n° 7 (juillet 2019): 365-66. <https://doi.org/10.1038/s41582-019-0205-1>.
- . « Alzheimer's Disease Is a Synaptic Failure ». *Science (New York, N.Y.)* 298, n° 5594 (25 octobre 2002): 789-91. <https://doi.org/10.1126/science.1074069>.

- Selkoe, Dennis J., et John Hardy. « The Amyloid Hypothesis of Alzheimer's Disease at 25 Years ». *EMBO Molecular Medicine* 8, n° 6 (juin 2016): 595-608. <https://doi.org/10.15252/emmm.201606210>.
- Sepulveda-Falla, Diego, Markus Glatzel, et Francisco Lopera. « Phenotypic Profile of Early-Onset Familial Alzheimer's Disease Caused by Presenilin-1 E280A Mutation ». *Journal of Alzheimer's Disease: JAD* 32, n° 1 (2012): 1-12. <https://doi.org/10.3233/JAD-2012-120907>.
- « Serine racemase modulates intracellular D-serine levels through an alpha,beta-elimination activity - PubMed ». Consulté le 7 mars 2022. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15536068/>.
- Shao, Charles Y., Suzanne S. Mirra, Hameetha B. R. Sait, Todd C. Sacktor, et Einar M. Sigurdsson. « Postsynaptic degeneration as revealed by PSD-95 reduction occurs after advanced A $\beta$  and tau pathology in transgenic mouse models of Alzheimer's disease ». *Acta neuropathologica* 122, n° 3 (septembre 2011): 285-92. <https://doi.org/10.1007/s00401-011-0843-x>.
- Shapiro, M. « Plasticity, Hippocampal Place Cells, and Cognitive Maps ». *Archives of Neurology* 58, n° 6 (juin 2001): 874-81. <https://doi.org/10.1001/archneur.58.6.874>.
- Sheldon, Amanda L., et Michael B. Robinson. « The Role of Glutamate Transporters in Neurodegenerative Diseases and Potential Opportunities for Intervention ». *Neurochemistry international* 51, n° 6-7 (2007): 333-55. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2007.03.012>.
- Shengzhou Wu, Anthony S. Basile, et Steven W. Barger. « Induction of Serine Racemase Expression and D-Serine Release from Microglia by Secreted Amyloid Precursor Protein (SAPP) ». *Current Alzheimer Research* 4, n° 3 (1 juillet 2007): 243-51. <https://doi.org/10.2174/156720507781077241>.
- Shleper, Maria, Elena Kartvelishvily, et Herman Wolosker. « D-Serine Is the Dominant Endogenous Coagonist for NMDA Receptor Neurotoxicity in Organotypic Hippocampal Slices ». *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience* 25, n° 41 (12 octobre 2005): 9413-17. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3190-05.2005>.
- Siafarikas, N., G. Selbaek, T. Fladby, J. Šaltytė Benth, E. Auning, et D. Aarsland. « Frequency and Subgroups of Neuropsychiatric Symptoms in Mild Cognitive Impairment and Different Stages of Dementia in Alzheimer's Disease ». *International Psychogeriatrics* 30, n° 1 (janvier 2018): 103-13. <https://doi.org/10.1017/S1041610217001879>.
- Silva, Marcos Vinícius Ferreira, Cristina de Mello Gomide Loures, Luan Carlos Vieira Alves, Leonardo Cruz de Souza, Karina Braga Gomes Borges, et Maria das Graças Carvalho. « Alzheimer's Disease: Risk Factors and Potentially Protective Measures ». *Journal of Biomedical Science* 26, n° 1 (9 mai 2019): 33. <https://doi.org/10.1186/s12929-019-0524-y>.
- Sivanesan, Senthilkumar, Aaron Tan, et Jayakumar Rajadas. « Pathogenesis of Abeta Oligomers in Synaptic Failure ». *Current Alzheimer Research* 10, n° 3 (mars 2013): 316-23. <https://doi.org/10.2174/1567205011310030011>.
- Skowrońska, Katarzyna, Marta Obara-Michlewska, Magdalena Zielińska, et Jan Albrecht. « NMDA Receptors in Astrocytes: In Search for Roles in Neurotransmission and Astrocytic Homeostasis ». *International Journal of Molecular Sciences* 20, n° 2 (14 janvier 2019): E309. <https://doi.org/10.3390/ijms20020309>.

- Sperling, Reisa A., Bradford C. Dickerson, Maija Pihlajamaki, Patrizia Vannini, Peter S. LaViolette, Ottavio V. Vitolo, Trey Hedden, et al. « Functional Alterations in Memory Networks in Early Alzheimer's Disease ». *Neuromolecular medicine* 12, n° 1 (mars 2010): 27-43. <https://doi.org/10.1007/s12017-009-8109-7>.
- Sperling, Reisa, Elizabeth Mormino, et Keith Johnson. « The evolution of preclinical Alzheimer's disease: Implications for prevention trials ». *Neuron* 84, n° 3 (5 novembre 2014): 608-22. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2014.10.038>.
- Stampanoni Bassi, Mario, Ennio Iezzi, Luana Gilio, Diego Centonze, et Fabio Buttari. « Synaptic Plasticity Shapes Brain Connectivity: Implications for Network Topology ». *International Journal of Molecular Sciences* 20, n° 24 (8 décembre 2019): E6193. <https://doi.org/10.3390/ijms20246193>.
- Stevens, Eric R., Manuel Esguerra, Paul M. Kim, Eric A. Newman, Solomon H. Snyder, Kathleen R. Zahs, et Robert F. Miller. « D-Serine and Serine Racemase Are Present in the Vertebrate Retina and Contribute to the Physiological Activation of NMDA Receptors ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 100, n° 11 (27 mai 2003): 6789-94. <https://doi.org/10.1073/pnas.1237052100>.
- Stoiljkovic, Milan, Craig Kelley, Tamas L. Horvath, et Mihály Hajós. « Neurophysiological Signals as Predictive Translational Biomarkers for Alzheimer's Disease Treatment: Effects of Donepezil on Neuronal Network Oscillations in TgF344-AD Rats ». *Alzheimer's Research & Therapy* 10, n° 1 (10 octobre 2018): 105. <https://doi.org/10.1186/s13195-018-0433-4>.
- Stopford, Cheryl L., Jennifer C. Thompson, David Neary, Anna M. T. Richardson, et Julie S. Snowden. « Working Memory, Attention, and Executive Function in Alzheimer's Disease and Frontotemporal Dementia ». *Cortex; a Journal Devoted to the Study of the Nervous System and Behavior* 48, n° 4 (avril 2012): 429-46. <https://doi.org/10.1016/j.cortex.2010.12.002>.
- « Structure, function, and allosteric modulation of NMDA receptors - PubMed ». Consulté le 6 mars 2022. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30037851/>.
- Talantova, Maria, Sara Sanz-Blasco, Xiaofei Zhang, Peng Xia, Mohd Waseem Akhtar, Shu-ichi Okamoto, Gustavo Dziewczapolski, et al. « A $\beta$  Induces Astrocytic Glutamate Release, Extrasynaptic NMDA Receptor Activation, and Synaptic Loss ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 110, n° 27 (2 juillet 2013): E2518-2527. <https://doi.org/10.1073/pnas.1306832110>.
- Tamburri, Albert, Anthony Dudilot, Sara Lincea, Catherine Bourgeois, et Jannic Boehm. « NMDA-Receptor Activation but Not Ion Flux Is Required for Amyloid-Beta Induced Synaptic Depression ». Édité par Koichi M. Iijima. *PLoS ONE* 8, n° 6 (4 juin 2013): e65350. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0065350>.
- Tang, Xiang, Di Wu, Li-Hua Gu, Bin-Bin Nie, Xin-Yang Qi, Yan-Juan Wang, Fang-Fang Wu, et al. « Spatial learning and memory impairments are associated with increased neuronal activity in 5XFAD mouse as measured by manganese-enhanced magnetic resonance imaging ». *Oncotarget* 7, n° 36 (17 août 2016): 57556-70. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.11353>.
- « Targeted disruption of serine racemase affects glutamatergic neurotransmission and behavior - PubMed ». Consulté le 7 mars 2022. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19065142/>.



- Terry, R. D., E. Masliah, D. P. Salmon, N. Butters, R. DeTeresa, R. Hill, L. A. Hansen, et R. Katzman. « Physical Basis of Cognitive Alterations in Alzheimer's Disease: Synapse Loss Is the Major Correlate of Cognitive Impairment ». *Annals of Neurology* 30, n° 4 (octobre 1991): 572-80. <https://doi.org/10.1002/ana.410300410>.
- « The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease at 25 years - PubMed ». Consulté le 7 mars 2022. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27025652/>.
- « The genetics of Alzheimer's disease - PubMed ». Consulté le 6 mars 2022. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22482448/>.
- Thinakaran, Gopal, et Edward H. Koo. « Amyloid Precursor Protein Trafficking, Processing, and Function ». *The Journal of Biological Chemistry* 283, n° 44 (31 octobre 2008): 29615-19. <https://doi.org/10.1074/jbc.R800019200>.
- Thompson, Misty, John C. Marecki, Stephane Marinesco, Viviane Labrie, John C. Roder, Steven W. Barger, et John P. Crow. « Paradoxical Roles of Serine Racemase and D-Serine in the G93A MSOD1 Mouse Model of Amyotrophic Lateral Sclerosis ». *Journal of Neurochemistry* 120, n° 4 (février 2012): 598-610. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2011.07601.x>.
- Toljan, Karlo, et Jan Homolak. « Circadian Changes in Alzheimer's Disease: Neurobiology, Clinical Problems, and Therapeutic Opportunities ». *Handbook of Clinical Neurology* 179 (2021): 285-300. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819975-6.00018-2>.
- Tolman, E. C. « Cognitive Maps in Rats and Men ». *Psychological Review* 55, n° 4 (juillet 1948): 189-208. <https://doi.org/10.1037/h0061626>.
- Toniolo, Sofia, Arjune Sen, et Masud Husain. « Modulation of Brain Hyperexcitability: Potential New Therapeutic Approaches in Alzheimer's Disease ». *International Journal of Molecular Sciences* 21, n° 23 (7 décembre 2020): 9318. <https://doi.org/10.3390/ijms21239318>.
- « Transgenic mice lacking NMDAR-dependent LTD exhibit deficits in behavioral flexibility - PubMed ». Consulté le 3 mars 2022. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18400167/>.
- « Transient increase in sAPP $\alpha$  secretion in response to A $\beta$ 1–42 oligomers: an attempt of neuronal self-defense? - ScienceDirect ». Consulté le 3 mars 2022. [https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0197458017303019?casa\\_token=p7NiMtzwksAAAAA:5A9XLLPTEdiow7PAwddc9Cm4n7P7fRIZwY\\_Jh1JG5CWNHvVSgtqOKHal-Wu-AIYLcBEKnMWY4Q](https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0197458017303019?casa_token=p7NiMtzwksAAAAA:5A9XLLPTEdiow7PAwddc9Cm4n7P7fRIZwY_Jh1JG5CWNHvVSgtqOKHal-Wu-AIYLcBEKnMWY4Q).
- Traynelis, Stephen F., Lonnie P. Wollmuth, Chris J. McBain, Frank S. Menniti, Katie M. Vance, Kevin K. Ogden, Kasper B. Hansen, Hongjie Yuan, Scott J. Myers, et Ray Dingledine. « Glutamate Receptor Ion Channels: Structure, Regulation, and Function ». *Pharmacological Reviews* 62, n° 3 (septembre 2010): 405-96. <https://doi.org/10.1124/pr.109.002451>.
- Trivedi, Mehul A., Christopher M. Murphy, Celine Goetz, Raj C. Shah, John D. E. Gabrieli, Susan Whitfield-Gabrieli, David A. Turner, et Glenn T. Stebbins. « fMRI Activation Changes during Successful Episodic Memory Encoding and Recognition in Amnesic Mild Cognitive Impairment Relative to Cognitively Healthy Older Adults ». *Dementia and Geriatric Cognitive Disorders* 26, n° 2 (2008): 123-37. <https://doi.org/10.1159/000148190>.

- Tromp, D., A. Dufour, S. Lithfous, T. Pebayle, et O. Després. « Episodic Memory in Normal Aging and Alzheimer Disease: Insights from Imaging and Behavioral Studies ». *Ageing Research Reviews* 24 (novembre 2015): 232-62. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2015.08.006>.
- Tu, Shichun, Shu-ichi Okamoto, Stuart A. Lipton, et Huaxi Xu. « Oligomeric A $\beta$ -Induced Synaptic Dysfunction in Alzheimer's Disease ». *Molecular Neurodegeneration* 9 (14 novembre 2014): 48. <https://doi.org/10.1186/1750-1326-9-48>.
- Utsunomiya-Tate, N., H. Endou, et Y. Kanai. « Cloning and Functional Characterization of a System ASC-like Na<sup>+</sup>-Dependent Neutral Amino Acid Transporter ». *The Journal of Biological Chemistry* 271, n° 25 (21 juin 1996): 14883-90. <https://doi.org/10.1074/jbc.271.25.14883>.
- Van Horn, Marion, Mari Sild, et Edward Ruthazer. « D-serine as a gliotransmitter and its roles in brain development and disease ». *Frontiers in Cellular Neuroscience* 7 (2013). <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fncel.2013.00039>.
- Vergara, Cristina, Sarah Houben, Valérie Suain, Zehra Yilmaz, Robert De Decker, Virginie Vanden Dries, Alain Boom, et al. « Amyloid- $\beta$  Pathology Enhances Pathological Fibrillary Tau Seeding Induced by Alzheimer PHF in Vivo ». *Acta Neuropathologica* 137, n° 3 (mars 2019): 397-412. <https://doi.org/10.1007/s00401-018-1953-5>.
- Verkhatsky, Alexei, et Alexandr Chvátal. « NMDA Receptors in Astrocytes ». *Neurochemical Research* 45, n° 1 (janvier 2020): 122-33. <https://doi.org/10.1007/s11064-019-02750-3>.
- Vitale, Paola, Ana Rita Salgueiro-Pereira, Carmen Alina Lupascu, Michael Willem, Rosanna Migliore, Michele Migliore, et Hélène Marie. « Analysis of Age-Dependent Alterations in Excitability Properties of CA1 Pyramidal Neurons in an APPS1 Model of Alzheimer's Disease ». *Frontiers in Aging Neuroscience* 13 (2021). <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fnagi.2021.668948>.
- Volianskis, Arturas, Grace France, Morten S. Jensen, Zuner A. Bortolotto, David E. Jane, et Graham L. Collingridge. « Long-Term Potentiation and the Role of N-Methyl-D-Aspartate Receptors ». *Brain Research* 1621 (24 septembre 2015): 5-16. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2015.01.016>.
- Volicer, L., D. G. Harper, B. C. Manning, R. Goldstein, et A. Satlin. « Sundowning and Circadian Rhythms in Alzheimer's Disease ». *The American Journal of Psychiatry* 158, n° 5 (mai 2001): 704-11. <https://doi.org/10.1176/appi.ajp.158.5.704>.
- Vossel, Keith A., Alexander J. Beagle, Gil D. Rabinovici, Huidy Shu, Suzee E. Lee, Georges Naasan, Manu Hegde, et al. « Seizures and Epileptiform Activity in the Early Stages of Alzheimer Disease ». *JAMA Neurology* 70, n° 9 (1 septembre 2013): 1158-66. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2013.136>.
- Vossel, Keith A., Kamalini G. Ranasinghe, Alexander J. Beagle, Danielle Mizuiri, Susanne M. Honma, Anne F. Dowling, Sonja M. Darwish, et al. « Incidence and Impact of Subclinical Epileptiform Activity in Alzheimer's Disease ». *Annals of Neurology* 80, n° 6 (décembre 2016): 858-70. <https://doi.org/10.1002/ana.24794>.
- Vossel, Keith A., Maria C. Tartaglia, Haakon B. Nygaard, Adam Z. Zeman, et Bruce L. Miller. « Epileptic Activity in Alzheimer's Disease: Causes and Clinical Relevance ». *The Lancet. Neurology* 16, n° 4 (avril 2017): 311-22. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(17\)30044-3](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(17)30044-3).

- Walsh, Dominic M., Igor Klyubin, Julia V. Fadeeva, William K. Cullen, Roger Anwyl, Michael S. Wolfe, Michael J. Rowan, et Dennis J. Selkoe. « Naturally Secreted Oligomers of Amyloid Beta Protein Potently Inhibit Hippocampal Long-Term Potentiation in Vivo ». *Nature* 416, n° 6880 (4 avril 2002): 535-39. <https://doi.org/10.1038/416535a>.
- Walton, Heather Scott, et Peter R. Dodd. « Glutamate-Glutamine Cycling in Alzheimer's Disease ». *Neurochemistry International* 50, n° 7-8 (juin 2007): 1052-66. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2006.10.007>.
- Wang, Hansen. « Microglia Heterogeneity in Alzheimer's Disease: Insights From Single-Cell Technologies ». *Frontiers in Synaptic Neuroscience* 13 (23 décembre 2021): 773590. <https://doi.org/10.3389/fnsyn.2021.773590>.
- Wang, Li-Zhen, et Xing-Zu Zhu. « Spatiotemporal Relationships among D-Serine, Serine Racemase, and D-Amino Acid Oxidase during Mouse Postnatal Development ». *Acta Pharmacologica Sinica* 24, n° 10 (octobre 2003): 965-74.
- Wang, Zhi-Cong, Jie Zhao, et Shao Li. « Dysregulation of Synaptic and Extrasynaptic N-Methyl-D-Aspartate Receptors Induced by Amyloid- $\beta$  ». *Neuroscience Bulletin* 29, n° 6 (décembre 2013): 752-60. <https://doi.org/10.1007/s12264-013-1383-2>.
- Ward, Joseph, Haizhi Wang, Aleister J. Saunders, Rudolph E. Tanzi, et Can Zhang. « Mechanisms That Synergistically Regulate  $\eta$ -Secretase Processing of APP and A $\eta$ - $\alpha$  Protein Levels: Relevance to Pathogenesis and Treatment of Alzheimer's Disease ». *Discovery Medicine* 23, n° 125 (février 2017): 121-28.
- Webster, Scott J., Adam D. Bachstetter, Peter T. Nelson, Frederick A. Schmitt, et Linda J. Van Eldik. « 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 (2014): 88. <https://doi.org/10.3389/fgene.2014.00088>.
- West, M. J., C. H. Kawas, L. J. Martin, et J. C. Troncoso. « The CA1 Region of the Human Hippocampus Is a Hot Spot in Alzheimer's Disease ». *Annals of the New York Academy of Sciences* 908, n° 1 (2000): 255-59. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2000.tb06652.x>.
- Wiels, Wietse A., Mandy M. J. Wittens, Dieter Zeeuws, Chris Baeken, et Sebastiaan Engelborghs. « Neuropsychiatric Symptoms in Mild Cognitive Impairment and Dementia Due to AD: Relation With Disease Stage and Cognitive Deficits ». *Frontiers in Psychiatry* 12 (2021): 707580. <https://doi.org/10.3389/fpsy.2021.707580>.
- Willem, Michael, Sabina Tahirovic, Marc Aurel Busche, Saak V. Ovsepian, Magda Chafai, Scherazad Kootar, Daniel Hornburg, et al. «  $\eta$ -Secretase processing of APP inhibits neuronal activity in the hippocampus ». *Nature* 526, n° 7573 (15 octobre 2015): 443-47. <https://doi.org/10.1038/nature14864>.
- Wirak, D. O., R. Bayney, T. V. Ramabhadran, R. P. Fracasso, J. T. Hart, P. E. Hauer, P. Hsiao, et al. « Deposits of Amyloid  $\beta$  Protein in the Central Nervous System of Transgenic Mice ». *Science* 253, n° 5017 (19 juillet 1991): 323-25. <https://doi.org/10.1126/science.1857970>.
- Wolosker, Herman, et Darrick T. Balu. « D-Serine as the Gatekeeper of NMDA Receptor Activity: Implications for the Pharmacologic Management of Anxiety Disorders ». *Translational Psychiatry* 10, n° 1 (9 juin 2020): 184. <https://doi.org/10.1038/s41398-020-00870-x>.

- Wolosker, H., K. N. Sheth, M. Takahashi, J. P. Mothet, R. O. Brady, C. D. Ferris, et S. H. Snyder. « Purification of Serine Racemase: Biosynthesis of the Neuromodulator D-Serine ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 96, n° 2 (19 janvier 1999): 721-25. <https://doi.org/10.1073/pnas.96.2.721>.
- Wu, Di, Xiang Tang, Li-Hua Gu, Xiao-Li Li, Xin-Yang Qi, Feng Bai, Xiao-Chun Chen, Jian-Zhi Wang, Qing-Guo Ren, et Zhi-Jun Zhang. « LINGO-1 Antibody Ameliorates Myelin Impairment and Spatial Memory Deficits in the Early Stage of 5XFAD Mice ». *CNS Neuroscience & Therapeutics* 24, n° 5 (mai 2018): 381-93. <https://doi.org/10.1111/cns.12809>.
- Wu, G., R. Malinow, et H. T. Cline. « Maturation of a Central Glutamatergic Synapse ». *Science (New York, N.Y.)* 274, n° 5289 (8 novembre 1996): 972-76. <https://doi.org/10.1126/science.274.5289.972>.
- Wu, Sheng-Zhou, Angela M. Bodles, Mandy M. Porter, W. Sue T. Griffin, Anthony S. Basile, et Steven W. Barger. « Induction of Serine Racemase Expression and D-Serine Release from Microglia by Amyloid Beta-Peptide ». *Journal of Neuroinflammation* 1, n° 1 (20 avril 2004): 2. <https://doi.org/10.1186/1742-2094-1-2>.
- Xian, Yan-Fang, Chang Qu, Yue Liu, Siu-Po Ip, Qiu-Ju Yuan, Wen Yang, et Zhi-Xiu Lin. « Magnolol Ameliorates Behavioral Impairments and Neuropathology in a Transgenic Mouse Model of Alzheimer's Disease ». *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2020 (3 juillet 2020): e5920476. <https://doi.org/10.1155/2020/5920476>.
- Yamada, Kazuo, Tetsuo Ohnishi, Kenji Hashimoto, Hisako Ohba, Yoshimi Iwayama-Shigeno, Manabu Toyoshima, Akira Okuno, et al. « Identification of Multiple Serine Racemase (SRR) mRNA Isoforms and Genetic Analyses of SRR and DAO in Schizophrenia and D-Serine Levels ». *Biological Psychiatry* 57, n° 12 (15 juin 2005): 1493-1503. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2005.03.018>.
- Yang, Yunlei, Wooping Ge, Yiren Chen, Zhijun Zhang, Wanhua Shen, Chienping Wu, Muming Poo, et Shumin Duan. « Contribution of Astrocytes to Hippocampal Long-Term Potentiation through Release of D-Serine ». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 100, n° 25 (9 décembre 2003): 15194-99. <https://doi.org/10.1073/pnas.2431073100>.
- Yin, Ye Ingrid, Bhrandeo Bassit, Lei Zhu, Xia Yang, Chunyu Wang, et Yue-Ming Li. «  $\gamma$ -Secretase Substrate Concentration Modulates the A $\beta$ 42/A $\beta$ 40 Ratio: IMPLICATIONS FOR ALZHEIMER DISEASE\* ». *Journal of Biological Chemistry* 282, n° 32 (10 août 2007): 23639-44. <https://doi.org/10.1074/jbc.M704601200>.
- Zhang, Huiqin, Wei Wei, Ming Zhao, Lina Ma, Xuefan Jiang, Hui Pei, Yu Cao, et Hao Li. « Interaction between A $\beta$  and Tau in the Pathogenesis of Alzheimer's Disease ». *International Journal of Biological Sciences* 17, n° 9 (2021): 2181-92. <https://doi.org/10.7150/ijbs.57078>.
- Zhang, Yan, Peiyao Li, Jianbo Feng, et Minghua Wu. « Dysfunction of NMDA Receptors in Alzheimer's Disease ». *Neurological Sciences: Official Journal of the Italian Neurological Society and of the Italian Society of Clinical Neurophysiology* 37, n° 7 (juillet 2016): 1039-47. <https://doi.org/10.1007/s10072-016-2546-5>.
- Zhang, Yun-wu, Robert Thompson, Han Zhang, et Huaxi Xu. « APP Processing in Alzheimer's Disease ». *Molecular Brain* 4 (7 janvier 2011): 3. <https://doi.org/10.1186/1756-6606-4-3>.

- Zhang, Zhi, Neng Gong, Wei Wang, Lin Xu, et Tian-Le Xu. « Bell-Shaped D-Serine Actions on Hippocampal Long-Term Depression and Spatial Memory Retrieval ». *Cerebral Cortex (New York, N.Y.: 1991)* 18, n° 10 (octobre 2008): 2391-2401. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhn008>.
- Zhao, Qing-Fei, Lan Tan, Hui-Fu Wang, Teng Jiang, Meng-Shan Tan, Lin Tan, Wei Xu, et al. « The Prevalence of Neuropsychiatric Symptoms in Alzheimer's Disease: Systematic Review and Meta-Analysis ». *Journal of Affective Disorders* 190 (15 janvier 2016): 264-71. <https://doi.org/10.1016/j.jad.2015.09.069>.
- Zlokovic, Berislav V. « Neurovascular Pathways to Neurodegeneration in Alzheimer's Disease and Other Disorders ». *Nature Reviews. Neuroscience* 12, n° 12 (3 novembre 2011): 723-38. <https://doi.org/10.1038/nrn3114>.
- Zokaei, Nahid, et Masud Husain. « Working Memory in Alzheimer's Disease and Parkinson's Disease ». *Current Topics in Behavioral Neurosciences* 41 (2019): 325-44. [https://doi.org/10.1007/7854\\_2019\\_103](https://doi.org/10.1007/7854_2019_103).
- Zokaei, Nahid, Annie Sillence, Annika Kienast, Daniel Drew, Olivia Plant, Ellie Slavkova, Sanjay G. Manohar, et Masud Husain. « Different patterns of short-term memory deficit in Alzheimer's disease, Parkinson's disease and subjective cognitive impairment ». *Cortex; a Journal Devoted to the Study of the Nervous System and Behavior* 132 (novembre 2020): 41-50. <https://doi.org/10.1016/j.cortex.2020.06.016>.





## D-sérine : un maillon central de la physiopathologie amyloïde ?

### Résumé :

Les échecs cliniques de ces dernières années concernant le traitement de la maladie d'Alzheimer (MA) poussent aujourd'hui les chercheurs à mieux en comprendre la physiopathologie. L'accumulation toxique du peptide amyloïde- $\beta$  ( $A\beta$ ) est l'une des caractéristiques cardinales de la MA. L'amyloïdogénèse est impliquée dans la perturbation de l'homéostasie des réseaux neuronaux et contribue à terme aux déficits cognitifs retrouvés chez les patients. L'acide aminé D-sérine est important pour cette homéostasie en étant le co-agoniste préférentiel du récepteur N-méthyl-D-aspartate (NMDA-R) du glutamate, un acteur indispensable au contrôle de la plasticité fonctionnelle des réseaux neuronaux de l'hippocampe. Plusieurs études ont directement lié la D-sérine à la MA en rapportant une modification de ses taux ou ceux de son enzyme de conversion – la sérine racémase (SR) – dans le sang, le LCR ou bien le tissu cérébral de patients. Cependant, la direction des modifications et l'implication réelle de la D-sérine dans la MA restent encore débattues. Ce travail de thèse a précisé le rôle de cet acide aminé à l'aide d'un modèle animal innovant associant une amyloïdogénèse à une délétion de la SR (souris 5xFAD/SR-KO). Des études *in vivo*, *ex vivo* et *in vitro* ont été menées de manière à avoir une vision la plus intégrée possible. Dans un premier temps, les travaux ont montré l'implication de la D-sérine dans de nombreux déficits cognitifs retrouvés chez les souris 5xFAD âgées présentant une amyloïdogénèse accentuée. Ces déficits étaient associés à une altération de la plasticité fonctionnelle au niveau des synapses CA3-CA1 de l'hippocampe. Ces atteintes comportementales et fonctionnelles n'étaient pas retrouvées chez la souris 5xFAD/SR-KO indiquant une contribution majeure de la D-sérine dans la physiopathologie amyloïde. Un des résultats majeurs de ce travail est la mise en évidence d'une augmentation précoce et transitoire des taux hippocampiques de D-sérine apparaissant conjointement au début de l'accumulation amyloïde chez les souris 5xFAD et qui se corrèle à une diminution progressive du recrutement des NMDA-R synaptiques. L'ensemble de ces résultats permet une meilleure compréhension de la physiopathologie associée à l'augmentation précoce des taux d' $A\beta$ , en apportant la preuve *in vivo* d'une implication précoce de la D-sérine dans les désordres fonctionnels des réseaux hippocampiques induits dans un contexte d'amyloïdogénèse accentuée et dans les déficiences cognitives qui en résultent.

**Mots clés :** D-sérine, maladie d'Alzheimer, peptide  $A\beta$ , récepteur NMDA, sérine racémase, processus cognitif, potentialisation à long-terme.

### Abstract:

In recent years, failures in clinical settings to treat Alzheimer's disease (AD), create an urge for researchers to better understand AD pathophysiology. The toxic accumulation of amyloid- $\beta$  peptide ( $A\beta$ ) is one of the core features of this disease. Amyloidogenesis is involved in the disruption of neuronal network homeostasis and ultimately contributes to the cognitive impairments found in AD patients. To maintain this homeostasis, D-serine is essential; indeed, this amino acid is the preferential co-agonist of the glutamate N-methyl-D-aspartate receptor (NMDA-R) - a key player in the control of the functional plasticity of hippocampal neuronal networks. Several studies have directly associated D-serine with AD by reporting changed levels of D-serine or its converting enzyme - serine racemase (SR) - in blood, CSF or patients' brain tissue. However, the direction of the changes and the actual involvement of D-serine in AD are still debated. The aim of this thesis was to clarify the role of D-serine using an innovative animal model which displays amyloidogenesis with a deletion of SR (5xFAD/SR-KO mice). *In vivo*, *ex vivo*, and *in vitro* studies were conducted to have the most integrated view possible. To begin, this work showed the involvement of D-serine in several cognitive deficits found in aged 5xFAD mice with accentuated amyloidogenesis. These deficits were associated with an alteration in functional plasticity at the CA3-CA1 synapses of the hippocampus. Behavioral and functional impairments were not found in the 5xFAD/SR-KO mouse, indicating a major contribution of D-serine in amyloid pathophysiology. To finish, one of the major results of this work is the demonstration of an early and transient increase in hippocampal D-serine levels occurring together with the onset of amyloid accumulation in 5xFAD mice and which correlates with a progressive decrease in the recruitment of synaptic NMDA-Rs. The present work provides *in vivo* evidence of early involvement of D-serine in the functional disorders of hippocampal networks, induced in a context of accentuated amyloidogenesis and resulting cognitive deficits. Taken together, these results present a better understanding of AD pathophysiology associated with the early increase in  $A\beta$  level.

**Keywords:** D-serine, Alzheimer's disease,  $A\beta$ , NMDA receptor, serine racemase, cognitive process, long-term potentiation.