



Caractérisation d'un modèle murin transgénique de la maladie d'Alzheimer et de vieillessement accéléré

Mémoire

Jessica Virgili

Maîtrise en sciences pharmaceutiques
Maître ès sciences (M.Sc.)

Québec, Canada

© Jessica Virgili, 2018

Caractérisation d'un modèle murin transgénique de la maladie d'Alzheimer et de vieillessement accéléré

Mémoire

Jessica Virgili

Sous la direction de :

Frédéric Calon, directeur de recherche

Résumé

Le vieillissement est un facteur clé dans la pathogenèse de la maladie d'Alzheimer (MA), forme la plus courante de démence chez la personne âgée. L'incidence de la MA est faible avant 65 ans ; celle-ci double ensuite tous les 5 à 6 ans pour dépasser 8 cas pour 100 années-personnes après 85 ans. Au cours des dernières décennies, plusieurs modèles transgéniques de la MA ont été conçus et caractérisés. Il a été observé que chez les souris qui surexprimaient les formes mutées de la protéine précurseur amyloïde- β ($A\beta$) humaine (hAPP) développaient des dépôts du peptide $A\beta$ dans leur cerveau et des déficits de mémoire. Néanmoins, puisque le diagnostic de la MA repose sur la visualisation histologique de plaques $A\beta$ et d'enchevêtrements neurofibrillaires de la protéine tau, le groupe du Dr LaFerla (Université de Californie, Irvine, É-U) a développé un modèle triple transgénique (3xTg-AD) exprimant trois transgènes : la protéine précurseur $A\beta$ (APP_{Swe}), préséniline-1 ($PS1_{M146V}$) et tau ($MAPT_{P301L}$). Cette lignée développe progressivement les pathologies $A\beta$ et tau dans les régions cérébrales impliquées dans la MA, ainsi que des déficits de plasticité synaptique et de cognition. Toutefois, la souris 3xTg-AD ne développe pas de perte neuronale comme chez l'humain. Il est possible que les facteurs de vieillissement associés à la MA ne puissent pas s'exprimer pleinement en raison de leur courte espérance de vie. L'objectif de l'étude était de croiser la souris 3xTg-AD avec un modèle de sénescence accélérée, la souris SAMP8 (*senescence-accelerated prone 8*), afin de créer un modèle plus représentatif de la maladie humaine. Nos résultats montrent que les facteurs de sénescence liés au modèle SAMP8 ont accentué les déficits de mémoire et certains marqueurs neuropathologiques – en particulier la pathologie amyloïde – chez les souris 3xTg-AD femelles. Les données présentées mettent en évidence des interactions complexes entre les facteurs liés au génotype, au vieillissement et au sexe chez ce modèle.

Abstract

Aging is central to the pathogenesis of Alzheimer's disease, the most common form of dementia during the elderly. The incidence of sporadic AD is low before 65 years old; it then doubles every 5 to 6 years to surpass 8 cases per 100 person-years after 85. To model AD, numerous transgenic mice have been produced and characterized in the last decades. It was found that mice overexpressing mutated forms of the human amyloid- β (A β) precursor protein (hAPP) develop A β deposits in their brain, along with quantifiable memory deficits. Since the diagnosis of AD is dependent upon the histological visualization of both A β plaques and tau-laden neurofibrillary tangles, Dr LaFerla's group (University of California, Irvine, USA) has developed the triple-transgenic model (3xTg-AD) expressing three mutant transgenes: A β precursor protein (APP^{Swe}), presenilin-1 (PS1^{M146V}), and tau^{P301L}. This mouse line progressively develops both A β and tau pathologies in AD-relevant brain regions as well as deficits in synaptic plasticity and cognitive performance. However, the 3xTg-AD mouse does not develop frank neuronal loss as found in AD brain. A likely simple explanation is that, within the lifespan of a mouse, AD-relevant aging factors do not have the time to be fully expressed. To that aim, we crossed senescence-accelerated prone 8 mice (SAMP8) with 3xTg-AD mice to produce senescence-accelerated 3xTg-AD mice with the hope to generate a model closer to the human disease. Our results indicate that senescence acceleration amplifies memory deficits and several AD-related neuropathological features -particularly the amyloid pathology- in female 3xTg-AD mice. Overall, the present data suggest that the SAMP8/3xTg-AD mouse is a valuable model combining aging factors and AD neuropathology, but also evidence complex interactions between genetic backgrounds, aging- and sex-related factors.

Table des matières

RÉSUMÉ	III
ABSTRACT	IV
TABLE DES MATIÈRES	V
LISTE DES TABLEAUX	VIII
LISTE DES FIGURES	IX
LISTE D'ABRÉVIATIONS	X
REMERCIEMENTS	XI
AVANT-PROPOS	XIII
CHAPITRE 1 : INTRODUCTION	1
1. 1 LA MALADIE D'ALZHEIMER	1
1.1.1 Généralités	1
1.1.2 Épidémiologie et impacts sociaux économiques	2
1.1.3 Manifestations cliniques classiques	4
1.1.4 Le diagnostic	4
1.1.5 Étiologie	5
1.1.5.1 Étiologie de la forme familiale de la MA	5
1.1.5.2 Étiologie de la forme sporadique de la MA	6
1.1.5.2.1 Facteurs de risque génétiques	7
1.1.5.2.1.1 Allèle 4 du gène apolipoprotéine E (apoE4)	7
1.1.5.2.1.2 Autres gènes	9
1.1.5.2.2 Facteurs de risque non génétiques	9
1.1.5.2.2.1 L'âge avancé	9
1.1.5.2.2.2 Le sexe	11
1.1.5.2.2.3 Le diabète de type 2	13
1.1.5.2.2.4 Autres facteurs de risques	14
1.1.5.2.3 Facteurs protecteurs de la MA	15
1.1.6 Neuropathologie	16
1.1.6.1 La pathologie amyloïde	16
1.1.6.1.1 Hypothèse de la cascade amyloïde	16
1.1.6.1.2 Métabolisme de APP et implications dans les formes héréditaires de la MA	17
1.1.6.1.3 Mécanismes de dégradation et de clairance d'A β	18
1.1.6.2 La pathologie tau	20
1.1.6.2 Autres marqueurs neuropathologiques	22
1.1.6.2.1 Déficits synaptiques	22
1.1.6.2.2 Mort neuronale	22
1.1.6.2.3 Gliose, stress oxydatif et inflammation	24

1.1.7 Traitements de la MA	26
1.1.7.1 Traitements pharmacologiques approuvés	26
1.1.7.2 Autres traitements	28
1.1.7.3 Prévention de la MA	30
1.1.8 Modèles animaux pour étudier la MA	31
1.1.8.1 Les modèles transgéniques	32
1.1.8.1.1 Modèles de souris simples transgéniques APP	32
1.1.8.1.2 Modèles de souris doubles transgéniques APP/PS1	33
1.1.8.1.3 Modèle de souris triple transgénique 3xTg-AD	34
1.1.8.1.4 Autres modèles de souris transgéniques	37
1.1.8.1.5 Principales limites des modèles transgéniques.....	38
1.1.8.2 Les modèles de vieillissement « accéléré »	39
1.1.8.2.1 Lignée de souris SAMP (senescence-accelerated mouse prone)	39
 CHAPITRE 2 : PROBLÉMATIQUE, HYPOTHÈSE ET OBJECTIFS.....	 42
2.1 Problématique	42
2.2 Hypothèse	43
2.3 Objectifs	43
 CHAPITRE 3 : ARTICLE: CHARACTERIZATION OF A 3XTG-AD MOUSE MODEL OF ALZHEIMER'S DISEASE WITH THE SENESCENCE ACCELERATED MOUSE PRONE 8 (SAMP8) BACKGROUND.	
3.1 Résumé en français	45
3.2 Abstract	47
3.3. Introduction.....	48
3.4 Material and methods.....	50
3.4.1 Animals.....	50
3.4.2 Behavioral assessment	51
3.4.2.1 Spatial memory	51
3.4.2.2 Locomotor activity and anxiety-like behavior.....	52
3.4.3 Protein extraction	52
3.4.4 ELISA	53
3.4.5 Western Immunoblotting	54
3.4.6 Statistical analyses.....	55
3.5. Results	56
3.5.1 Confirmation of SAMP8 phenotype in heterozygous P8/3xTg-AD and P8/NonTg mice.	56
3.5.2 Impaired spatial memory in P8/3xTg-AD mice.	58
3.5.3 Higher levels of soluble phosphorylated tau in the parieto-temporal cortex of female P8/3xTg-AD mice.....	60
3.5.4 Marked accumulation of soluble A β in the parieto-temporal cortex of female P8/3xTg-AD.	62
3.5.5 Altered ApoE and IDE concentrations in the parieto-temporal cortex of female P8/3xTg-AD mice.....	65
3.5.6 Association of higher levels of soluble A β 42 with reactive astrogliosis in the parieto-temporal cortex of female P8/3xTg-AD mice.....	67
3.5.7 Unchanged NeuN immunoreactivity in heterozygous P8/3xTg-AD mice	69

3.6. Discussion	70
3.6.1 The SAMP8 background had detrimental effects on spatial memory in heterozygous 3xTg-AD mice.	70
3.6.2 Female-specific tau-related neuropathological alterations in heterozygous P8/3xTg-AD mice	72
3.6.3 Female-specific alterations of A β metabolism in heterozygous P8/3xTg-AD mice.	74
3.6.4 Female-specific astroglial activation in P8/3xTg-AD mice.....	76
3.6.5 Preservation of neurons in heterozygous P8/3xTg-AD mice.....	76
3.6.6 Sex-specific effects of SAMP8 background in 3xTg-AD mouse model.....	77
3.6.7. Limitations	78
3.7. Conclusion.....	78
3.8. Conflict of interest statement.....	79
3.9. Funding	79
3.10. Authors contribution	79
3.11 Supplementay material.....	80
 CHAPITRE 4 : DISCUSSION ET CONCLUSION	 83
4.1 Problématique : rappel	83
4.2 Hypothèse et objectifs du projet : rappel	84
4.3 Résumé des principaux résultats obtenus	85
4.4 Comparaison des principaux résultats de l'étude avec les données scientifiques publiées	86
4.4.1 Effet du génotype SAMP8 sur l'apprentissage et la mémoire spatiale.....	86
4.4.2 Effet du génotype SAMP8 sur la progression de la pathologie tau chez la souris 3xTg-AD hétérozyote.....	87
4.4.3 Effet du génotype SAMP8 sur la progression de la pathologie amyloïdes chez la souris 3xTg-AD hétérozyote.....	88
4.4.4 Effet du génotype SAMP8 sur apoE et IDE.....	89
4.4.5 Effet du génotype SAMP8 sur l'activité des astrocytes	91
4.4.6 Effet du génotype SAMP8 sur l'intégrité des neurones.....	92
4.4.7 Influence du sexe sur les effets du génotype SAMP8 sur le développement de la neuropathologie Alzheimer.....	93
4.4.8 Choix de la méthode de croisement des souris et les répercussions potentielles	94
4.5 Interprétation des résultats et hypothèses	95
4.6 Limitations de l'étude.....	96
4.7 Perspectives et conclusion.....	97
 CHAPITRE 5 : RÉFÉRENCES.....	 99
 CHAPITRE 6 : ANNEXE : AUTRES CONTRIBUTIONS	 128
4.1 Résumé en français de l'article « Le tremblement essentiel : où en sommes-nous ?»	129

Liste des tableaux

CHAPITRE 1

Tableau 1.1 : Estimation de la prévalence des maladies cognitives au Canada entre 2014 et 2033.....3

Tableau 1.2 : Estimation des coûts directs associés aux maladies cognitives au Canada entre 2011 et 2031.....3

Tableau 1.3 : Description du phénotype des souris SAMP.....41

Tableau 1.4 : Description du phénotype des souris SAMR.....41

CHAPITRE 3

Table S1 : List of primary antibodies used for Western blots.....80

Table S2 : Cortical synaptic proteins in 20-month-old mice.....82

Liste des figures

CHAPITRE 1

Figure 1.1 : Prévalence de la MA en fonction du groupe d'âge.....	10
Figure 1.2 : Métabolisme de APP.....	18
Figure 1.3 : Neuropathologie de la maladie d'Alzheimer.....	21

CHAPITRE 3 :

Figure 3.1: (A) Body weight at sacrifice (20 months of age (B) Premature deaths before sacrifice.....	57
Figure 3.2: Barnes maze test (A-C).....	59
Figure 3.3: Analysis of tau pathology by Western immunoblots (A-D).....	61
Figure 3.4 : A β pathology in 3xTg-AD mice (A-E). (F) Full-length hAPP. (G) sAPP α . (H) BACE enzyme.....	64
Figure 3.5 : Mechanisms of A β clearance in 3xTg-AD mice.....	66
Figure 3.6: Reactive astrogliosis (A) and correlations between cortical GFAP and soluble A β 42 concentrations (B).....	68
Figure 3.7: NeuN immunoreactivity.....	69
Figure S1: Locomotor activity (supplementary material, section 3.11).....	81

Liste d'abréviations

A β	Peptide bêta-amyloïde
AD	Alzheimer disease
ADN	Acide désoxyribonucléique
APP	Protéine précurseur de l'amyloïde
ApoE	Apolipoprotéine E
ApoER2	Apolipoprotéine E récepteur 2
hAPP	Protéine précurseur amyloïde- β (A β) humaine
Bax	Protéine Bcl-2-associated X
iChE	Inhibiteurs des cholinestérasés
ELISA	<i>Enzyme-linked immunosorbent assay</i>
GFAP	Protéine acide fibrillaire gliale
IDE	<i>Insulin-degrading enzyme</i> / enzyme de dégradation de l'insuline
LDL	<i>Low density lipoprotein</i>
LDLR	Récepteur à LDL
LRP-1	<i>Low density lipoprotein receptor-related protein 1</i>
MA	Maladie d'Alzheimer
MAPT	Microtubule-associated protein tau
MMSE	<i>Mini-mental state examination</i>
MOCA	<i>Montreal cognitive assessment</i>
NMDA	Récepteur N-méthyl-D-aspartate
PSEN1	Préséniline-1
PSEN2	Préséniline-2
RecQ	Famille d'hélicase RecQ (réparation de l'ADN).
SAMP8	<i>Senescence-accelerated mouse prone-8</i>
SORL1/LR11	<i>Sortilin-related receptor 1</i>
SAMP8	<i>Senescence-accelerated prone-8 mouse</i>
SAMR1	<i>Senescence-accelerated-resistant-1 mouse</i>
Swe	Mutation Swedish
SW	Syndrome de Werner
VLDL	Very Low Density Lipoprotein
WRN	Protéine associée syndrome de Werner

Remerciements

Je tiens à adresser mes remerciements les plus sincères aux personnes qui ont contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce mémoire. D'abord, j'aimerais remercier le Dr Frédéric Calon de m'avoir accueillie dans son laboratoire lors de mes trois stages de recherche d'été durant le PharmD et durant ma maîtrise. J'aimerais particulièrement remercier Milène Vandal pour la qualité de son encadrement et sa grande patience à l'époque où j'étais stagiaire d'été. Désolée pour mes 1000000 questions et courriels. Merci de m'avoir tout appris et de m'avoir fait aimer la recherche. J'aimerais remercier mes collègues de travail pour la belle ambiance de travail (Marine, Philippe, Vincent, Émilie, Olivier K, Olivier L, Hortense et Cyntia).

Un grand merci à mes stagiaires Audrey et Carolanne qui m'ont aidé à analyser (et re- re- et encore re-analyser à l'infini) un nombre incalculable d'images de *Western blots* pour le projet SAM. Merci à ma gentille voisine de bureau, Manel, je m'avoir écoutée râler durant 2 ans de mes plis de joue et de nez causés par mon masque N95 à l'animalerie. Nos conversations scientifiques et non scientifiques, ainsi que nos échanges de collations beaucoup trop sucrées m'ont permis de demeurer motivée malgré les très nombreuses heures à travailler au laboratoire le soir, la nuit (p. ex être avec une lampe frontale dans le réfrigérateur avec les souris de Marine) et la fin de semaine.

J'aimerais aussi souligner le dévouement exceptionnel du personnel de l'animalerie du CHUL, qui ont été une aide précieuse dans la réalisation de mes protocoles animaux. Un grand merci à Sonia Francoeur pour sa précieuse aide technique et qui a accompli un nombre incalculable d'injections intraveineuses. Nos discussions ont rendu mes nombreux séjours à l'animalerie plus joyeux. Merci à Andrée du bloc R de m'avoir sauvée la vie durant les vacances de Sonia !! Merci à Stéphanie Bernard pour avoir pris soin et nourri mes petites souris durant neuf longs mois. Merci à Karine Levasseur pour sa patience d'ange lors de mes

nombreux tests de tolérance au glucose. Ce n'est pas facile de prélever 50 microlitres de sang à des souris qui pèsent 93 grammes (nommée affectueusement Kiwi) et 89 grammes (nommée affectueusement Biscuit) respectivement (c'est un nouveau record dans l'équipe Calon) !!! Je voudrais également remercier Nathalie Alain et France Duclos pour leur collaboration et leur soutien pour mener à terme mes protocoles animaux.

J'aimerais également remercier la Faculté de pharmacie de l'Université Laval (Fonds d'enseignement et de recherche), l'association des facultés de pharmacie du Canada (AFPC), Merck Canada et la Fondation du centre hospitalier université (CHU) de Québec (en collaboration avec Desjardins) pour le soutien financier au cours de ma maîtrise.

J'aimerais remercier ma famille, mes amis et mes collègues de travail qui m'ont toujours encouragée à poursuivre mes rêves jusqu'au bout et qui me soutiennent dans la poursuite de mes études. Merci Élodie, Marie-Pier, Zabe et Caro de m'avoir encouragée durant toutes ces années au cours du PharmD et même après. Je remercie également la direction de programme de leur grande compréhension vis-à-vis mes problèmes de santé et de m'avoir encouragée à poursuivre mes études doctorales malgré tout (J.J , T.D et F.P). Merci à Jessica Jean de m'avoir laissé vider tes réserves de mouchoirs et à Frédéric Picard pour tous tes judicieux conseils.

Merci à tous ceux que je n'ai pas nommé personnellement, mais qui m'ont encouragée envers et contre tout à poursuivre mes objectifs de vie même dans les moments plus difficiles.

En terminant, j'aimerais remercier mon comité d'évaluateurs, plus particulièrement les Drs Sébastien Hébert et Michel Lebel, d'avoir accepté gentiment d'évaluer mon mémoire.

Avant-propos

L'avant-propos suivant résume les différents travaux réalisés au cours de mes études de deuxième cycle en sciences pharmaceutiques, dont l'objectif principal était de caractériser un modèle animal transgénique de la maladie d'Alzheimer (MA) croisé à un modèle de souris possédant un phénotype de vieillissement accéléré, la souris SAMP8.

Le premier chapitre de ce mémoire est une introduction sur les principaux modèles animaux de la MA et de vieillissement. Cette section est une mise en contexte qui permettra aux lecteurs de bien comprendre la pertinence scientifique du projet. Le second chapitre présente l'hypothèse et les objectifs spécifiques liés au projet.

Le troisième chapitre présente un manuscrit intitulé « *Characterization of a 3xTg-AD mouse model of Alzheimer's disease with senescence accelerated mouse prone 8 (SAMP8) background* » rassemblant les principaux résultats obtenus au cours de la réalisation du projet. La dernière version du manuscrit a été acceptée le 22 janvier 2018 et sera publiée au cours des prochains mois. J'ai réalisé en grande partie les analyses biochimiques, les analyses statistiques et rédigé l'article dont j'en suis la première auteure. Meryem Lebbadi, étudiante au doctorat et co-première auteure de cet article, a réalisé la majorité des tests comportementaux et a effectué les analyses métaboliques, biochimiques et histologiques initiales. Caroline Perrinard a contribué aux tests comportementaux. Cyntia Tremblay et Isabelle St-Amour ont effectué les dosages par ELISA. Audrey Faucher-Genest a participé aux analyses quantitatives d'images. Carl Julien a contribué à la production des souris et à leur sacrifice. Vincent Émond a participé à la rédaction du manuscrit. Enfin, Frédéric Calon, le dernier auteur, a élaboré le projet, obtenu le financement des IRSC, corrigé l'article et aidé aux analyses statistiques.

Le quatrième chapitre est une discussion et une conclusion en lien avec les résultats présentés dans le troisième chapitre. Les forces et les limites de l'étude seront également présentées dans cette section.

En terminant, en annexe, un bref résumé des projets parallèles auxquels j'ai contribué au cours de ma maîtrise est présenté. Dans cette section, est également jointe une brève description du manuscrit intitulé « *Le tremblement essentiel : où en sommes-nous ?* », une pharmacothérapie publiée dans le journal «Pharmactuel» en septembre 2016 et dont j'en suis la première auteure. Audrey Faucher-Genest, deuxième auteure de l'article, a contribué à l'écriture de cet article. Émilie Aubry-Lafontaine, troisième auteure, a contribué à la recherche d'article scientifique. Nicolas Dupré, quatrième auteur, a relu le manuscrit et s'est assuré que le contenu scientifique était conforme à la pratique clinique. Enfin, Frédéric Calon, dernier auteur, a corrigé l'article et s'est assuré de la conformité du contenu.

Chapitre 1 : Introduction

1. 1 La maladie d'Alzheimer

1.1.1 Généralités

En novembre 1906, lors de la 37^e Conférence des psychiatres allemands à Tübingen, en Allemagne, un médecin allemand du nom de Alois Alzheimer expose pour la première fois le cas d'Auguste Deter, âgée de 51 ans, atteinte de démence qu'il nomma « maladie particulière du cortex ». Auguste Deter souffrait de problèmes de mémoire et de plusieurs autres troubles neuropsychiatriques (hallucinations, troubles du langage, désorientation) (Hippius et Neundorfer 2003; Dahm 2006). À la suite de son décès en avril 1906, le Dr. Alzheimer obtenu l'autorisation de la famille afin de pratiquer une autopsie sur sa patiente. En examinant le tissu cérébral, il constata d'abord une importante atrophie du cortex. Afin d'étudier de façon approfondie l'histologie de cette maladie, Alois imprégna les tissus à l'aide de sels d'argent. Cette technique lui permit de distinguer deux types de dépôts anormaux, soit les dégénérescences neurofibrillaires intracellulaires et les plaques amyloïdes (ou séniles) extracellulaires (Hippius et Neundorfer 2003 ; Dahm 2006). Les travaux d'Alois Alzheimer firent l'objet d'une première publication en 1907. Au cours des années suivantes, d'autres scientifiques comme le psychiatre et neuropathologiste tchèque Oskar Fisher (Goedert 2009) et le médecin italien Gaetano Perusini (Lucci 1998), un collaborateur d'Alois Alzheimer, vont confirmer ces découvertes. En 1910, le médecin-psychiatre Emil Kraepelin, le mentor d'Alois Alzheimer, proposa de donner le nom de « maladie d'Alzheimer » à cette forme de démence en l'honneur des travaux de son collaborateur (Hippius et Neundorfer 2003 ; Dahm 2006).

1.1.2 Épidémiologie et impacts sociaux économiques

Il est maintenant bien connu que la MA est une maladie neurodégénérative et cause la plus courante des démences chez la personne âgée de 65 ans et plus. Sa prévalence exacte est difficile à estimer, puisque le diagnostic définitif de la maladie ne peut être réalisé qu'au décès du patient. Selon le dernier rapport de la Société Alzheimer du Canada en 2016, on estime que près de 564 000 canadiens sont aujourd'hui atteints de la MA ou d'une maladie apparentée (p. ex la démence vasculaire), tandis que le nombre de nouveaux cas diagnostiqués chaque année s'élèverait à près de 25 000 individus (Société Alzheimer du Canada 2017).

En 2031, on prévoit que 937 000 personnes seront atteintes de MA ou de toute autre forme de maladie cognitive apparentée (Société Alzheimer du Canada 2017). Cette maladie évolue progressivement sur plusieurs années ; l'impact socio-économique lié à la prise en charge des patients est majeur, puisqu'il n'existe aucun traitement curatif pour cette maladie. Aujourd'hui, au Canada uniquement, le coût annuel associé aux soins de santé des patients atteints de démence s'élèverait à près de 10,4 milliards de dollars par an (coûts directs uniquement) (Société Alzheimer du Canada 2017).

En raison du contexte actuel de vieillissement de la population, l'augmentation de la prévalence et du fardeau économique s'accroîtra d'année en année en l'absence de traitements efficaces contre cette maladie. Fort heureusement, sans doute grâce à une meilleure prise en charge des maladies chroniques comme le diabète, la dyslipidémie et l'hypertension, certains chercheurs estiment que la fréquence de nouveaux cas de démence diagnostiqués tend à diminuer depuis quelques années (Scheltens et coll. 2016).

Tableau 1.1 : Estimation de la prévalence des maladies cognitives au Canada entre 2014 et 2033.

Année	Prévalence	Année	Prévalence
2014	514,000	2024	763,000
2015	539,000	2025	788,000
2016	564,000	2026	813,000
2017	587,000	2027	838,000
2018	614,000	2028	863,000
2019	638,000	2029	887,000
2020	663,000	2030	912,000
2021	688,000	2031	937,000
2022	713,000	2032	962,000
2023	738,000	2033	987,000

Source : Société Alzheimer du Canada. Rapport sur la prévalence et coûts financiers des maladies cognitives au Canada (2016) : Groupe d'experts sur la santé des populations.

Tableau 1.2 : Estimation des coûts directs associés aux maladies cognitives au Canada entre 2011 et 2031.

Année	Millions de \$	Année	Millions de \$	Année	Millions de \$
2011	8 300	2018	11 205	2025	14 110
2012	8 715	2019	11 620	2026	14 525
2013	9 130	2020	12 035	2027	14 940
2014	9 545	2021	12 450	2028	15 355
2015	9 960	2022	12 865	2029	15 770
2016	10 375	2023	13 280	2030	16 185
2017	10 790	2024	13 695	2031	16 600

Source : Société Alzheimer du Canada. Rapport sur la prévalence et coûts financiers des maladies cognitives au Canada (2016) : Groupe d'experts sur la santé des populations.

1.1.3 Manifestations cliniques classiques

La MA est une maladie insidieuse qui se développe progressivement sur plusieurs années. Dans la majorité des cas de MA non héréditaires (ou sporadiques), les premiers symptômes apparaissent après l'âge de 65 ans (Hebert et coll. 2013; von Strauss et coll. 1999). La MA se caractérise par une perte progressive de la mémoire, particulièrement les souvenirs récents, nuisant aux activités quotidiennes de la personne (Association américaine de psychiatrie 2013). On observe également une perte des fonctions exécutives. Par conséquent, certaines tâches de la vie quotidienne, comme par exemple préparer un repas et utiliser un appareil ménager, deviennent plus difficiles à réaliser. D'autres symptômes comme l'instabilité émotionnelle, les troubles de langage, le jugement altéré et la désorientation spatio-temporelle sont également fréquemment observés chez les patients atteints de cette maladie. Dans les stades plus avancés de la maladie, certains patients développent aussi des troubles de comportements pouvant se manifester sous diverses formes, notamment l'agressivité, l'apathie, la méfiance et la désinhibition (Association américaine de psychiatrie 2013).

1.1.4 Le diagnostic

L'acte de poser un diagnostic de MA est complexe puisqu'il n'existe pas de test sanguin ou de techniques d'imagerie qui permet de confirmer hors de tout doute la présence de cette maladie chez un patient. Les analyses *post-mortem* du tissu cérébral au décès du patient demeurent incontournables afin de poser un diagnostic définitif (Moore et coll. 2014 ; McKhann et coll. 2011; Hyman et Trojanowski 1997). Ainsi, lorsque le patient est vivant, le diagnostic est dit « clinique » et repose principalement sur les symptômes rapportés par le malade et/ou ses proches auprès du médecin spécialiste. Le médecin, quant à lui, doit procéder à des tests de laboratoire pour s'assurer que les symptômes, comme les pertes de mémoire par exemple, ne soient pas secondaires à certains troubles métaboliques (hypoglycémie, hypothyroïdie, hyponatrémie, etc). Par la suite, le médecin effectue des tests cognitifs afin d'évaluer le degré de sévérité du trouble cognitif. Deux tests sont couramment utilisés dans la pratique clinique courante : le *Mini-mental state examination* (MMSE) et le *Montreal cognitive assessment*

(MOCA) (Moore et coll. 2014; McKhann et coll. 2011; Gomez-Rio et coll. 2016). Le test MOCA est utilisé pour les cas de stade léger à sévère de MA (Nasreddine et coll. 2005), tandis que le MMSE est utilisé dans les cas de stade modéré à sévère. Dans les deux cas, il s'agit d'un questionnaire à réponses courtes qui nécessite la participation du patient qui doit accomplir certaines tâches. Ces tests évaluent la mémoire à court terme, les habiletés visuospatiales, les fonctions exécutives, l'attention, la concentration, mémoire de travail, le langage et orientation dans l'espace et le temps (Nasreddine et coll. 2005). Le principal avantage du test MOCA est que celui-ci est plus sensible et permet de détecter les cas légers de démence comparativement au test MMSE en raison d'une plus grande complexité des tâches à réaliser (Nasreddine et coll. 2005). Depuis quelques années, un certain nombre de chercheurs tentent d'identifier des biomarqueurs présents dans le liquide cérébro-spinal ou par imagerie cérébrale dans l'objectif de permettre un diagnostic précoce de la maladie (Blennow et coll. 2015; James, Doraiswamy et Borges-Neto 2015; Sorensen et coll. 2016; Sorensen et coll. 2017). Bien que ces tests ne soient pas utilisés de façon systématique, ceux-ci sont principalement utilisés chez les patients présentant des symptômes atypiques de la MA afin de confirmer le diagnostic clinique.

1.1.5 Étiologie

Il existe au moins deux formes de la MA, soit la forme familiale (ou héréditaire), soit la forme sporadique (Piaceri, Nacmias et Sorbi 2013).

1.1.5.1 Étiologie de la forme familiale de la MA

La forme familiale affecterait moins de 5% des individus diagnostiqués comme ayant la MA (Piaceri, Nacmias, and Sorbi 2013). Des études génomiques menées auprès de familles touchées par cette forme de la MA ont permis d'identifier un nombre considérable de mutations de gènes impliqués dans la production et le métabolisme du peptide A β (Abêta) (Bekris et coll. 2010) ; (Zekanowski et coll. 2003 ; Lanoiselee et coll. 2017). Bien que rares, ces mutations se transmettraient d'une génération à l'autre de façon autosomale dominante. Lanoiselée et coll.

(2017) ont identifié plus de 170 mutations sur les gènes préséniline 1 (PSEN1), préséniline 2 (PSEN2) et le gène codant pour la protéine précurseur de l'amyloïde (APP) chez des cas de forme héréditaire de la MA pour la plupart (Zekanowski et coll. 2003 ; Lanoiselee et coll. 2017). Dans certains cas, les sujets n'avaient pas d'antécédents familiaux, mais présentaient plutôt des mutations de *novo* (Lanoiselee et coll. 2017). Ces mutations augmentent la production du peptide A β 42 (rapport A β 42 :40) et causent une forme de MA dont les manifestations cliniques sont similaires à celles de la forme sporadique (Gomez-Isla et coll. 1999; Ataka et coll. 2004). L'âge d'apparition des premiers symptômes est variable et dépend du type de mutation ainsi que des facteurs intrinsèques liés au patient lui-même (ex : comorbidités) (Cacace, Sleegers et Van Broeckhoven 2016; Goldman et coll. 2002). Jusqu'à présent, les causes de ces mutations de *novo* demeurent inconnues.

1.1.5.2 Étiologie de la forme sporadique de la MA

La majorité des personnes atteintes de la MA (environ 95% des cas de MA) ont une forme dite sporadique (Piaceri, Nacmias et Sorbi 2013). L'origine exacte de cette forme de la MA est incertaine et est, dans la majorité des cas, multifactorielle. Celle-ci est généralement associée à l'âge avancé puisque les premiers symptômes surviennent après l'âge de 65 ans (Société Alzheimer du Canada 2017). Plusieurs études épidémiologiques réalisées au cours des dernières décennies ont permis d'identifier un certain nombre de facteurs de risque génétiques et non génétiques associés à un risque accru de développer la sporadique ou tardive de la MA (Winblad et coll. 2016). Les facteurs de risque sont considérés comme des facteurs pouvant être associés à une susceptibilité accrue de développer une maladie ; ils peuvent également être associés à son étiologie dans certains cas. Plusieurs facteurs de risque ont été associés à la MA ; ceux -ci sont divisés en facteurs génétiques et non génétiques.

1.1.5.2.1 Facteurs de risque génétiques

1.1.5.2.1.1 Allèle 4 du gène apolipoprotéine E (apoE4)

L'apoE est une glycoprotéine de 299 acides aminés qui se présente sous trois formes de variantes alléliques principales : apoE epsilon-2 (apoE2), epsilon-3 (apoE3) et epsilon-4 (apoE4) (Weisgraber, Rall et Mahley 1981). Ces trois isoformes diffèrent par un simple acide aminé aux résidus 112 et 158. Le résidu d'arginine en position 112 dans l'ApoE4 réduit la stabilité de la protéine et nuit à sa liaison aux récepteurs (Salem, Vandal et Calon 2015). Cette protéine joue un rôle central dans le transport du cholestérol et d'autres lipides au niveau du foie, mais elle contrôle également le transport du cholestérol dans le cerveau (Holtzman, Herz et Bu 2012; Salem, Vandal et Calon 2015). Dans le cerveau, les niveaux d'apoE sont régulés par les astrocytes qui sont responsable en grande partie de sa production (Pitas et coll. 1987). Le cerveau est particulièrement vulnérable aux dommages oxydatifs. Une baisse de l'expression d'ApoE total et le génotype ApoE4 sont associés à un mauvais pronostic du vieillissement cognitif (Sakurai et Montero-Odasso 2017; Salem, Vandal et Calon 2015). Le rôle de l'ApoE sur l'oxydation des lipides est susceptible d'avoir des implications importantes puisque la peroxydation des lipides des régions cérébrales atteintes a été bien établie dans la MA de stade avancé (Montine et Morrow 2005; Poirier et coll. 2014; Leduc et coll. 2011). La présence de l'allèle E4 du gène apoE est non seulement associé à un risque accru de développer la MA, mais est également associée à un début précoce des premiers symptômes, en particulier chez les personnes porteuses de deux allèles E4 du gène apoE (environ 2% des individus dans la population générale) (Sando et coll. 2008). La fréquence de l'allèle APOE3 dans la population caucasienne est 76,5%, tandis que 13,7% des individus expriment au moins un allèle de l'isoforme APOE4 (Bird 2008). Cependant, parmi les patients atteints de la MA, la prévalence du génotype APOE4 est significativement plus élevée comparativement à la population générale non malade. On estime que près de 48,7 à 61,3% (selon la région) des patients atteints de la MA seraient porteurs d'au moins un allèle du génotype APOE4, ce qui met en évidence l'importance de ce facteur génétique (Ward et coll. 2012). La proportion de personnes atteintes de MA

porteuse d'un double allèle epsilon-4 s'élèverait à environ 9 et 14% (selon la région) (Ward et coll. 2012). À l'opposé, la présence de l'allèle APOE2 serait un facteur protecteur de la MA. Toutefois, seulement 9% de la population serait concernée (Bird 2008). Dans l'étude de Lambert et coll. (2005), les analyses par la méthode de réaction en chaîne par polymérase quantitative ont permis de déceler une baisse de l'expression de l'ARN messager (ARNm) de l'apoE dans les lymphocytes indépendamment du statut ApoE4 des sujets atteints de la MA présentant un polymorphisme de type -219 G/T au niveau du promoteur du gène apoE. Par ailleurs, les niveaux d'apoE étaient négativement corrélés avec les niveaux d'A β dans plusieurs zones du cerveau des sujets (Lambert et coll. 2005), ce qui suggère qu'apoE pourrait moduler les niveaux d'A β en réduisant son accumulation. Bien que plusieurs études *in vitro* et *in vivo* publiés proposent quelques pistes, les mécanismes exacts pour expliquer le lien entre apoE4 et la MA ne sont pas encore entièrement compris (Salem, Vandal et Calon 2015). Toutefois, des études ont montré que apoE interagissait avec A β pour former un complexe apoE/A β (Tai et coll. 2014). L'une des hypothèses formulées est que les complexes apoE2/A β et apoE3/A β seraient éliminés plus rapidement et plus efficacement du parenchyme cérébral via les récepteurs à lipoprotéines de faible densité-1 (LRP1) et à lipoprotéines de très basse densité (VLDLR), tandis que le complexe apoE4/A β serait éliminé plus difficilement en raison d'une diminution de l'endocytose expliquée par une perte d'affinité pour ces mêmes récepteurs. Ultiment, cela nuirait aux processus de dégradation protéolytique au niveau de l'endosome et du lysosome. Conséquemment, cela causerait une accumulation accrue du peptide A β dans le milieu extracellulaire (Tokuda et coll. 2000; Tai et coll. 2014 ; Tai et coll. 2013; Salem, Vandal et Calon 2015).

1.1.5.2.1.2 Autres gènes

D'autres gènes sont susceptibles d'être impliqués dans la MA comme celui du récepteur associé à la sortiline neuronale (SORL1 ou LR11) (Jin et coll. 2013). Il s'agit d'un récepteur membranaire de 250 kDa qui est exprimé dans les neurones du système nerveux central et périphérique. SORL1 est localisé au niveau du réseau trans-golgien et participe à la translocation de l'APP. Une baisse de l'expression de SORL1 mènerait à une surproduction d'A β (Spoelgen et coll. 2006 ; Nielsen et coll. 2007). Certains polymorphismes ont été associés à une baisse de l'expression de SORL1 chez certains cas de MA sporadique (Felsky et coll. 2014). Néanmoins, l'impact clinique de ces polymorphismes est moins bien compris en raison des données conflictuelles (Dodson et coll. 2006 ; Louwersheimer et coll. 2017 ; Nicolas et coll. 2016).

1.1.5.2.2 Facteurs de risque non génétiques

1.1.5.2.2.1 L'âge avancé

L'âge est le principal facteur de risque de développer la MA. Le risque d'être atteint de cette maladie dévastatrice double tous les 5 ans après l'âge de 65 ans ; on estime que près d'une personne sur trois serait atteinte de la MA après l'âge de 85 ans (Société Alzheimer, 2017). La MA n'est ni un processus du vieillissement normal ni une conséquence obligatoire de l'âge avancé. Certaines personnes ne développeront jamais la maladie au cours de leur vie (Figure 1.1) (Société Alzheimer, 2017).

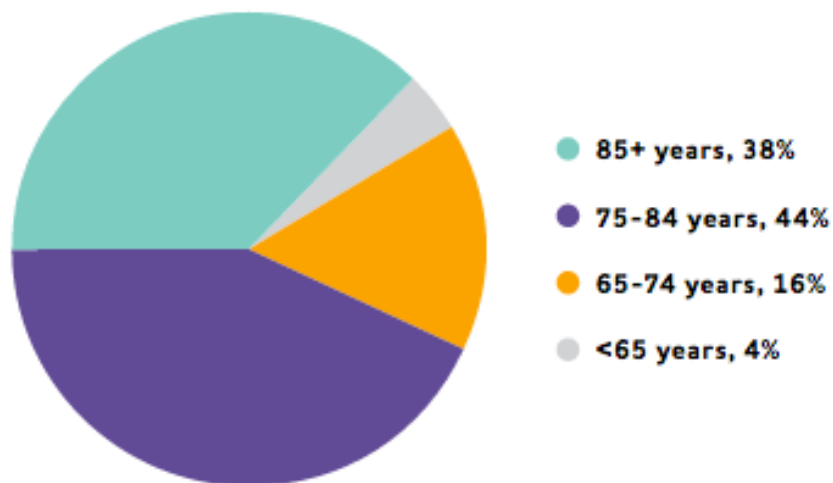


Figure 1.1 : Prévalence de la MA en fonction du groupe d'âge (Source : Association Alzheimer, la figure illustrée provient du rapport "*Alzheimer's disease facts and figures 2017*").

L'absence de traitement permettant de guérir cette pathologie s'explique en partie par le manque de connaissances des mécanismes physiopathologiques conduisant à la MA. La distinction entre les causes et les conséquences physiologiques d'une maladie complexe comme la MA représente un défi colossal pour les chercheurs. Il est essentiel de mieux discerner les facteurs qui rendent un individu, plutôt qu'un autre, davantage susceptible de développer la MA au cours de sa vie. Certains chercheurs ont émis l'hypothèse que la MA serait une forme accélérée du vieillissement naturel, et ce, en raison des similitudes entre les changements physiologiques observés au cours du vieillissement normal et dans la MA. La MA se différencierait du vieillissement normal par l'ampleur de ces changements physiologiques qui sont accentués en condition pathologique. Par exemple, la diminution du volume et du poids cérébral, en parallèle avec une production accrue de plaques d'A β et d'enchevêtrements neurofibrillaires sont des signatures histopathologiques caractéristiques de la MA (Braak et Braak 1991, 1995; Tremblay et coll. 2017; Schuff et coll. 2009). Cependant, ces mêmes phénomènes s'observent également chez les sujets âgés cognitivement normaux,

mais de manière plus limitée par rapport aux sujets atteints de MA ou présentant un trouble cognitif léger (Knopman et coll. 2003; Guillozet et coll. 2003; Fjell et coll. 2009). Or, de toute évidence, le facteur de l'âge avancé ne peut, à lui-seul, être l'unique facteur déclencheur de la maladie. Outre les facteurs génétiques, plusieurs autres facteurs de risque ont été identifiés par le biais d'études épidémiologiques (Farrer et coll. 1997; Ott et coll. 1998; Tyas et coll. 2001; Honig et coll. 2003; Arvanitakis et coll. 2004; Rasgon et coll. 2005; Louis A. Profenno 2009; Scheltens et coll. 2016). Ceux-ci seront discutés dans les sections subséquentes.

1.1.5.2.2 Le sexe

Près du deux tiers des personnes atteintes de MA sont des femmes (Snyder et coll. 2016). Or, les études épidémiologiques visant à évaluer l'impact du sexe comme facteur de risque de la MA ont donné lieu à des résultats conflictuels (Ott et coll. 1998 ; Kukull et coll. 2002 ; Imfeld et coll. 2013; Lindsay et coll. 2002). Certes, les femmes ont une espérance de vie plus longue ; celles-ci représentent donc la plus grande proportion des personnes âgées. Cependant, la longévité allongée ne peut expliquer, à elle seule, cette disparité entre les hommes et les femmes. Les différences mâles et femelles sur le développement de la neuropathologie de la MA, particulièrement en ce qui concerne la pathologie amyloïde, est bien documentées chez les modèles animaux comme la souris triple-transgénique 3xTg-AD (Bories et coll. 2012). En effet, la production du peptide A β chez les souris 3xTg-AD femelles âgées de 18 mois est significativement plus importante que chez les souris mâles du même âge (Bories et coll. 2012). L'hypothèse d'un déficit hormonal a fait l'objet de plusieurs études chez la femme, tandis que cette piste a été peu explorée chez l'homme. L'observation de changements dans les concentrations plasmatiques de certaines hormones stéroïdiennes telles que la 17 β -estradiol (œstrogène) chez des femmes post-ménopausées atteintes de la MA comparée à des sujets sains d'âge similaire a donné naissance à certaines hypothèses (Manly et coll. 2000). Or, lors de la période de ménopause, les ovaires cessent de produire de l'œstrogène, se

traduisant en une baisse significative des taux sanguins en estradiol. Dans l'étude Manly et coll. (2000), cette baisse en estradiol serait plus importante chez les sujets atteints de MA que les sujets cognitivement normaux (Manly et coll. 2000). Conséquemment, plusieurs équipes de chercheurs ont investigué la piste de la thérapie de remplacement hormonal comme traitement potentiel de la MA. Des études réalisées chez des modèles de rongeurs transgéniques de la MA ont montré qu'un traitement hormonal basé sur l'utilisation d'oestrogènes, comme la 17 β -estradiol, permettraient d'inhiber la production de plaques amyloïdes et d'accentuer la dégradation du peptide A β (Amtul et coll. 2010). Toutefois, les bienfaits de la thérapie hormonale basée sur l'utilisation d'estradiol chez les femmes post-ménopausées demeurent incertains (Imtiaz et coll. 2017; Lindsay et coll. 2002). Une étude de cohorte prospective réalisée auprès de femmes post-ménopausées, initialement âgées de 47 à 56 ans, n'a montré aucune évidence que la thérapie de remplacement de l'estradiol diminuait le risque de développer la MA sur une période de vingt ans (Imtiaz et coll. 2017). Par la suite, il est important de souligner que l'impact de la baisse de testostérone chez les hommes âgés a été peu exploré jusqu'à présent. Tout comme chez la femme, la production d'hormones, particulièrement la testostérone dans le cas des hommes, diminue à un âge avancé (Fabbri et coll. 2016). Tout comme les oestrogènes, la testostérone aurait des effets neuroprotecteurs. Quelques études publiées montrent une association entre la faible biodisponibilité plasmatique de la testostérone et le risque accru de développer la MA (Moffat et coll. 2004; Chu et coll. 2010).

Enfin, il est également nécessaire de prendre en considération certains facteurs confondants comme le mode de vie, l'origine ethnique, ainsi que les polymorphismes génétiques des gènes liés au sexe qui varient d'un individu à l'autre. Ces mêmes facteurs pourraient expliquer les contradictions observées dans les études épidémiologiques.

1.1.5.2.2.3 Le diabète de type 2

Au cours des dernières décennies, plusieurs équipes de recherche ont cherché à établir la relation entre les facteurs de risque vasculaire et la MA (Louis A. Profenno 2009). L'épidémie d'obésité que connaît actuellement notre société a entraîné une forte progression de l'incidence des complications métaboliques et vasculaires (Ng et coll. 2014; Lavie et coll. 2016). En parallèle, grâce aux avancées scientifiques, l'espérance de vie ne cesse de progresser dans les pays industrialisés (Statistiques Canada 2016 ; Organisation mondiale de la santé 2016). Les gens vivent plus longtemps, mais développent en revanche davantage de maladies liées au vieillissement (Statistiques Canada 2016 ; Organisation mondiale de la santé 2016).

Le vieillissement est associé à des changements importants du métabolisme énergétique. Le DT2 de type 2 se manifeste généralement après l'âge de 40 ans. Néanmoins, en raison de l'évolution de l'industrie alimentaire et la plus grande exposition à la malbouffe, cette maladie est diagnostiquée chez des personnes de plus en plus jeunes, parfois même des enfants, en raison des mauvaises habitudes de vie (sédentarité, diète inadéquate, obésité, etc) (Franks 2012). Le DT2 est une maladie qui se caractérise par une résistance à l'insuline causant une augmentation anormale des niveaux de glucose dans le sang. Lorsque le DT2 n'est pas pris en charge adéquatement, cette condition est associée à un risque élevé de complications cardiovasculaires incluant les accidents vasculaires cérébraux, l'infarctus du myocarde ou autres cardiomyopathies (Association américaine du diabète 2017).

Plusieurs études ont identifié le DT2 comme étant un facteur de risque important de développer des troubles cognitifs ou une démence comme la démence vasculaire ou la MA au cours du vieillissement (Gudala et coll. 2013; Geroldi et coll. 2005; Profenno, Porsteinsson et Faraone 2010; Hildreth, Van Pelt et Schwartz 2012; Louis A. Profenno 2009; Morris et coll. 2014). En effet, le risque de développer la MA serait jusqu'à deux fois plus élevé chez les patients atteints de DT2, comparativement à ceux qui ne souffrent pas de DT2 (Ott et coll. 1999; Ott et

coll. 1996). Dans l'étude de Ott et coll. (1999), le risque relatif de développer la MA était de 1,9 (1,2 à 3,1 ; intervalle de confiance = 95%) chez les patients diabétiques, comparativement aux sujets non diabétiques (Ott et coll. 1999). Ces anomalies métaboliques augmenteraient la production de radicaux libres responsables de l'oxydation cellulaire, ce qui perturberait le système de défense antioxydant des mitochondries (Butterfield, Di Domenico et Barone 2014; Gradinaru et coll. 2013). Par ailleurs, la coexistence de comorbidités comme par exemple l'hypertension augmente les risques de dommages vasculaires, un facteur de risque important de troubles cognitifs chez la personne âgée (Ronnemaa et coll. 2011; Yasar et coll. 2011). Ultimement, ces perturbations déclenchent une cascade métabolique conduisant à une réaction inflammatoire se traduisant par une élévation des concentrations sériques des marqueurs pro-inflammatoires comme le facteur de nécrose tumoral alpha ($TNF\alpha$) (Liu et coll. 2007; Chen et coll. 2012). Certains chercheurs proposent aussi que la résistance à l'insuline périphérique associée au DT2 s'observerait également dans le cerveau (Rivera et coll. 2005; Talbot et coll. 2012). Au niveau cérébral, l'insuline n'agit pas de la même manière qu'en périphérie. En effet, la captation du glucose au cerveau est indépendante de l'action de l'insuline. Néanmoins, le dysfonctionnement des récepteurs à insuline affecterait le fonctionnement normal des cellules neuronales, contribuant à l'apparition de déficits de mémoire et autres troubles cognitifs (Fu et coll. 2017; Biessels et Reagan 2015; Catrina Sims-Robinson 2010). Enfin, le stress oxydatif et l'inflammation sont des phénomènes soupçonnés d'être impliqués dans la pathogénèse de la MA, mais dont leur contribution exacte demeure incertaine (Carvalho et coll. 2012; Chen et coll. 2012; Aluise et coll. 2011).

1.1.5.2.2.4 Autres facteurs de risques

D'autres facteurs de risque liés aux habitudes de vie, comme une diète pauvre en acides gras oméga-3, les accidents vasculaires cérébraux, l'obésité, les dyslipidémies, les traumatismes crâniens, le faible niveau de scolarisation, un bas niveau du statut socioéconomique (Gabin et coll. 2017 ; Kivipelto et coll. 2001; Scheltens et coll. 2016), pourraient également influencer le risque de développer la

MA. Généralement considéré comme un facteur de risque, l'impact de l'hypertension artérielle sur le risque de développer MA a été remis en question en raison des données conflictuelles publiées (Gabin et coll. 2017).

1.1.5.2.3 Facteurs protecteurs de la MA

Certains facteurs ont été identifiés comme étant protecteurs contre la MA (Scheltens et coll. 2016). Une saine alimentation et une meilleure prise en charge des maladies métaboliques peuvent contribuer à diminuer l'incidence de la maladie (Ngandu et coll. 2015; Scheltens et coll. 2016). Plusieurs études suggèrent que l'augmentation de la consommation d'oméga-3 et la diète de type méditerranéenne diminueraient le risque de développer la MA ou, du moins, apporteraient des bénéfices dans la MA (Arsenault et coll. 2011; Calon et coll. 2004 ; Morris et coll. 2003 ; Scarmeas et coll. 2006). Toutefois, selon les résultats d'une étude récemment publiée menée auprès de 1680 participants âgés de 70 ans et plus sans trouble cognitif, la prise de suppléments d'oméga-3 (800 mg d'acide docosahexaénoïque et 225 mg d'acide eicosapentaénoïque) seuls ou en combinaison avec un programme d'entraînement physique et cognitif n'a pas eu d'effet significatif sur l'incidence de troubles cognitifs *de novo* sur une période de 3 ans en comparaison avec les groupes de sujets exposés au placebo (Andrieu et coll. 2017). De nouvelles études évaluant différents dosages d'acides gras oméga-3 chez une population plus jeune seraient pertinentes afin d'évaluer l'efficacité de ce traitement en prévention. Enfin, d'autres facteurs comme un haut niveau de scolarisation et le statut socio-économique favorable ont également été identifiés comme des facteurs pouvant être protecteurs (Evans et coll. 1997 ; Karp et coll. 2004).

1.1.6 Neuropathologie

1.1.6.1 La pathologie amyloïde

1.1.6.1.1 Hypothèse de la cascade amyloïde

Les plaques amyloïdes constituent l'une des signatures histopathologiques de la MA (Braak et Braak 1991). Celles-ci sont principalement constituées de dépôts denses du peptide A β (A β 40 et A β 42) se localisant en dehors des cellules dans le milieu extracellulaire (Braak et Braak 1991; Lazarov et coll. 2002). Les peptides A β sont formés par le clivage enzymatique de l'APP par des sécrétases (O'Brien et Wong 2011). D'abord produit sous forme d'oligomère soluble, le peptide A β , particulièrement A β 42, s'agrège pour former des plaques amyloïdes diffuses ou en dépôts denses appelés « plaques séniles » (ou neuritiques) ; les plaques diffuses seraient des précurseurs des plaques neuritiques majoritairement constituées du peptide A β 42, un marqueur histopathologique important de la MA (Tagliavini et coll. 1988 ; D'Andrea et Nagele 2010 ; Wippold et coll. 2008). Selon l'hypothèse de la cascade amyloïde formulée par Hardy et Higgins en 1992, ces dérèglements dans la production et l'agrégation du peptide A β causerait une entrée excessive de calcium à l'intérieur des cellules, un phénomène pouvant mener à la mort de cellules dont les neurones (Hardy et Higgins 1992 ; Mattson et coll. 1992). Au cours des dernières décennies, cette hypothèse a été remise en question par plusieurs chercheurs. Cette controverse provient du fait que des plaques amyloïdes diffuses ont été observées chez des personnes âgées en santé sans aucun trouble cognitif (Giacobini et Gold 2013; Knopman et coll. 2003; Morris, Clark et Vissel 2014; Scheltens et coll. 2016; Masliah et coll. 1990; Fukumoto et coll. 2004). Cependant, des analyses quantitatives réalisées par ELISA à partir du tissu cérébral de sujets humains atteints de la MA ont montré une corrélation significative entre l'augmentation des concentrations en A β 42 insoluble et le degré de sévérité des symptômes cliniques de la maladie évalué juste avant le décès (Tremblay et coll. 2007 ; Nelson et coll. 2012 ; Tremblay et coll. 2017).

1.1.6.1.2 Métabolisme de APP et implications dans les formes héréditaires de la MA.

APP est une protéine transmembranaire produite naturellement fortement exprimée dans les neurones. Des études chez les rongeurs montrent que APP joue un rôle essentiel dans le développement normal du cerveau (Nicolas and Hassan 2014 ; Demars et coll. 2011). APP peut être clivée selon deux voies métaboliques distinctes : la voie dite amyloïdogénique ou la voie non amyloïdogénique (O'Brien et Wong 2011). La voie non amyloïdogénique est initiée par le clivage d'une α -sécrétase dans le domaine cytosolique de l'APP (partie C-terminale), conduisant à la libération d'un fragment soluble α APP qui exercerait certains effets neuroprotecteurs en stimulant, entre autres, la neurogénèse (Thornton et coll. 2006 ; Gralle, Botelho et Wouters 2009 ; Nicolas et Hassan 2014 ; Demars et coll. 2011). La deuxième voie de clivage de l'APP est la voie amyloïdogénique qui est initiée par l'enzyme β -sécrétase qui clive APP au niveau du domaine cytosolique. Puis, un second clivage initié par une γ -sécrétase au niveau transmembranaire entraîne la formation de peptides $A\beta$ de longueur variable, allant de 38 à 42 acides aminés (Figure 1.2) (O'Brien et Wong 2011). Bien que l'isoforme $A\beta_{40}$ soit produit en plus grande quantité que les autres formes, $A\beta_{42}$ est généralement associé à la formation des plaques amyloïdes et neuritiques en raison de sa capacité à s'agréger et à former des réseaux de fibrilles facilement. C'est la voie amyloïdogénique qui est impliquée dans le processus physiopathologique de la MA. Une altération dans la production ou la clairance d' $A\beta$ sont des mécanismes qui peuvent entraîner une accumulation accrue de ce peptide au niveau du parenchyme cérébral, contribuant ainsi au développement de la pathologie Alzheimer (O'Brien et Wong 2011). Le dérèglement du processus de clivage enzymatique de la protéine APP est bien documenté chez les patients atteints de la forme héréditaire de la MA. Les mutations sont généralement situées sur les sites catalytiques des sécrétases ou sur le gène de l'APP, ce qui entraînerait une accumulation accrue des peptides $A\beta_{42}$ liée à une augmentation du métabolisme amyloïdogénique de l'APP ou à une surproduction de l'APP (Cruts, Hendriks et Van Broeckhoven 1996; Hutton et coll. 1996 ; O'Brien et Wong 2011 ; Lanoiselee et coll. 2017).

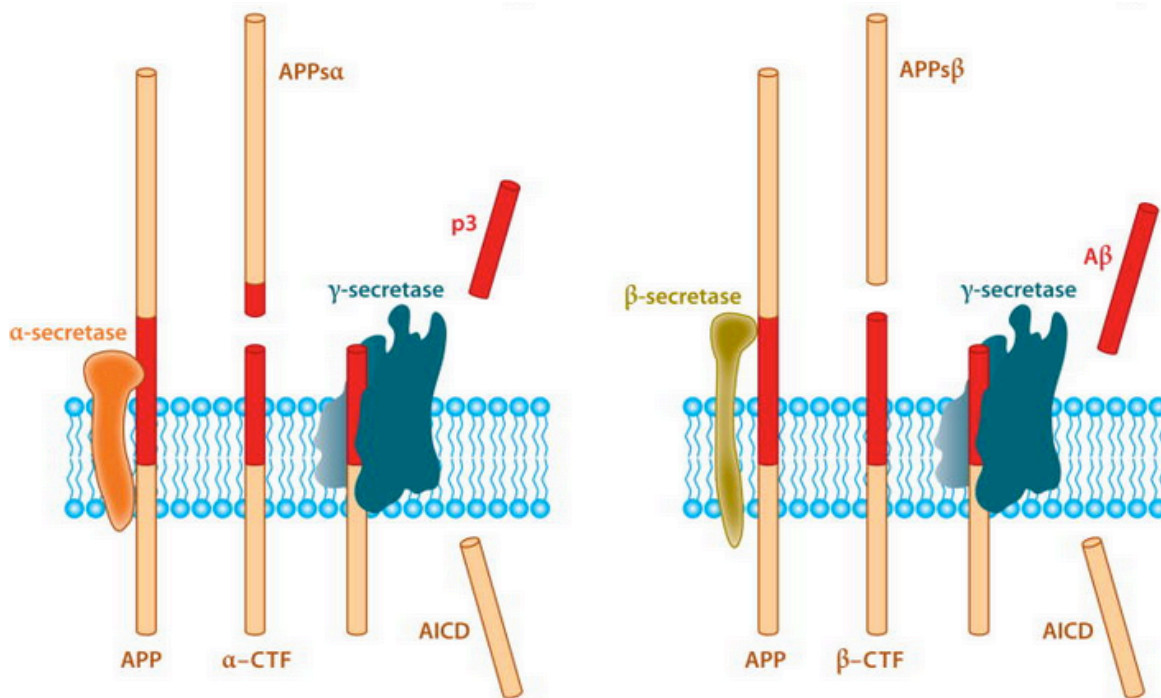


Figure 1.2 : Métabolisme de APP. A) Clivage non-amyloïdogénique de la protéine APP par l'enzyme α -sécrétase. B) Clivage amyloïdogénique par l'enzyme β -sécrétase conduisant à la formation du peptide $A\beta$ (Source de la figure : O'Brien et Wong, 2011).

1.1.6.1.3 Mécanismes de dégradation et de clairance d' $A\beta$.

Chez les patients atteints de la forme sporadique de la MA, la cause de l'accumulation d' $A\beta$ est moins claire. La surproduction d'APP ou les mutations *de novo* des gènes PSEN1 ou PSEN2 ne sont pas mis en cause. Plusieurs études ont rapporté une augmentation de l'expression de la β -sécrétase chez des cas de MA sporadique (Yang et coll. 2003 ; Li et coll. 2004). On soupçonne également qu'un dysfonctionnement des mécanismes de dégradation et de clairance du peptide $A\beta$ contribuerait à son accumulation dans les cas de forme tardive (sporadique) de la MA (Ries et Sastre 2016). Plusieurs mécanismes moléculaires potentiels ont été suggérés afin d'expliquer l'accumulation accrue d' $A\beta$ au cours du vieillissement. Bien que la présence de plaques amyloïdes ait été observée dans le cerveau de certains individus cognitivement sains, celles-ci sont retrouvées en un plus grand

nombre chez les sujets atteints de MA (Giacobini et Gold 2013; Knopman et coll. 2003; Morris, Clark et Vissel 2014; Scheltens et coll. 2016; Masliah et coll. 1990) (Fukumoto et coll. 2004; Braak et Braak 1991). Cette observation pourrait suggérer que certains processus liés au vieillissement soient accélérés chez les individus atteints de la MA.

Afin d'identifier les mécanismes physiologiques à l'origine de l'augmentation de la formation des plaques amyloïdes, plusieurs études d'inactivation de gènes réalisées sur des modèles animaux ont montré qu'une perte d'activité des protéases responsables de la dégradation d'A β , comme l'enzyme de dégradation de l'insuline (IDE) et la néprilysine, entraînerait une accumulation accrue du peptide A β (Farris et coll. 2003 ; Huttenrauch et coll. 2015). Les protéines chaperones comme apoE jouent également un rôle dans la clairance d'A β (Salem, Vandal et Calon 2015). Selon certaines hypothèses, chez les patients porteurs de l'allèle apoE4, apoE aurait une plus faible affinité pour le peptide A β , ce qui empêcherait la lipoprotéine de transporter A β jusqu'aux lysosomes des cellules gliales, empêchant ainsi sa dégradation (Tai et coll. 2014; Salem, Vandal et Calon 2015). Selon de récentes études *in vitro*, apoE interagirait avec les récepteurs d'endocytose de type LRP-1 et LDLR des astrocytes, ce qui affecterait la clairance d'A β (Basak et coll. 2012 ; Verghese et coll. 2013; Salem, Vandal et Calon 2015). Enfin, il existe d'autres mécanismes pouvant contribuer à réguler les niveaux d' A β , mais qui n'ont pas été abordés dans ce mémoire (Ries et Sastre 2016).

1.1.6.2 La pathologie tau

La protéine tau hyperphosphorylée, principale composante des dégénérescences neurofibrillaires, aussi appelées enchevêtrements neurofibrillaires, est également un marqueur histopathologique important de la MA. Tau est une protéine endogène qui jouerait un rôle essentiel pour stabiliser le cytosquelette et pour maintenir en place les microtubules, dont le rôle physiologique consiste à assurer le transport des nutriments à l'intérieur des cellules (Hernandez, Garcia-Garcia et Avila 2013 ; Kadavath et coll. 2015). La protéine tau possède plus de 80 résidus susceptibles d'être phosphorylés par l'intermédiaire de kinases (Hanger et coll. 2007 ; Simic et coll. 2016). Sa capacité de liaison aux microtubules dépendrait de son degré de phosphorylation (Hernandez, Garcia-Garcia et Avila 2013 ; Kadavath et coll. 2015). En condition pathologique, l'hyperphosphorylation de cette protéine entraîne la formation d'agrégats insolubles intraneuronaux et une diminution de son affinité pour les microtubules. Conséquemment, cela entraîne la déstabilisation du système de microtubules et une perturbation du transport axonal.

Les dégénérescences neurofibrillaires se développent progressivement au cours du vieillissement normal, mais de manière circonscrite au niveau de l'hippocampe et du gyrus parahippocampique, deux régions du cerveau vulnérables aux effets de l'âge ; ce phénomène pourrait possiblement être impliqué dans les changements cognitifs observés chez les personnes âgées non démentes (Price et Morris 1999; Belarbi et coll. 2009). Dans la MA, la pathologie tau se propage aussi dans le néocortex ainsi que dans les autres structures du système limbique (Price et Morris 1999; Braak et Braak 1995). Ultimement, une modification de l'état de phosphorylation de la protéine tau pourrait altérer les mécanismes intervenant dans le cycle cellulaire et l'apoptose, un phénomène qui, à long terme, mènerait possiblement à la mort des neurones (Alonso et coll. 1994 ; Simic et coll. 2016; Lorio, Avila et Diaz-Nido 2001; LeBlanc 2005). Par ailleurs, selon plusieurs études réalisées avec des modèles de souris transgéniques ou sur des cellules neuronales en culture, l'augmentation de la phosphorylation de la protéine tau peut contribuer, ou du moins en partie, aux effets toxiques d'A β . (Ittner et coll. 2010 ;

Lagunes et coll. 2014 ; Nisbet et coll. 2015; Pascoal et coll. 2017). L'interaction entre ces deux protéines est complexe et n'est pas encore entièrement comprise.

La présence de dégénérescences neurofibrillaires n'est pas unique à la MA. Cette lésion histopathologique est également présente dans plusieurs autres pathologies à caractère dégénératif comme la démence fronto-temporale, la démence cortico-basale et la paralysie supranucléaire progressive (Pollock et coll. 1986). Toutefois, dans la MA, plusieurs études *post mortem* ont montré que les niveaux en protéine tau insoluble corrélaient bien avec le degré de sévérité clinique de la maladie (Tremblay et coll. 2007 ; Tremblay et coll. 2017 ; Nelson et coll. 2012).

Depuis quelques années, plusieurs équipes de recherche cherchent à utiliser la protéine tau, en particulier les épitopes phospho-tau Thr181 et phospho-tau Thr231 et le ratio phospho-tau/A β , comme biomarqueur d'un diagnostic précoce de la MA (Hampel et Blennow 2004 ; Hampel et coll. 2004). En effet, plusieurs études ont montré que les niveaux en protéine tau augmentaient dans le liquide cérébro-spinal, un phénomène qui reflèterait la perte neuronale dans le parenchyme cérébral. À l'heure actuelle, les mesures de tau dans le liquide cérébro-spinal n'est pas recommandé d'emblée chez tous les patients, puisque cela requiert une ponction lombaire, une technique qui est considérée comme étant invasive (Ritchie et coll. 2017). Il s'agit d'un test pouvant orienter le diagnostic chez les personnes qui présentent des symptômes atypiques de la MA.

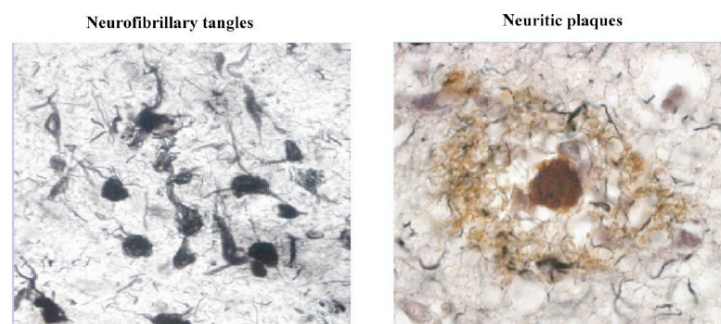


Figure 1.3: Neuropathologie de la maladie d'Alzheimer : dégénérescences neurofibrillaires (image de gauche) et plaques neuritiques (image de droite) (Source de la figure : Deckert et coll. 2004).

1.1.6.2 Autres marqueurs neuropathologiques

1.1.6.2.1 Déficits synaptiques

Des études *post-mortem* réalisées chez l'humain et sur des modèles transgéniques de la MA ont montré un lien entre l'augmentation des concentrations des oligomères solubles d'A β , les déficits mnésiques et la perte de jonctions synaptiques des épines dendritiques (Lue et coll. 1999 ; Tu et coll. 2014). Bien qu'une altération de la morphologie des synapses et une perte en protéines synaptiques soient observées lors du vieillissement normal (Masliah et coll. 1993; Mostany et coll. 2013), ces phénomènes s'accroissent significativement chez les personnes atteintes de la MA et surviennent dès les premiers stades de la maladie (Counts et coll. 2006). En effet, les changements morphologiques des synapses ainsi que la perte de certaines protéines synaptiques, comme drébrine ou synaptophysine, pourraient contribuer aux processus physiopathologiques de la MA (Julien et coll. 2008 ; Scheff et coll. 2006 ; Berchtold et coll. 2013; Tremblay et coll. 2017; Sze et coll. 1997; Counts et coll. 2006). Les mécanismes moléculaires par lesquels A β altère la transmission synaptique demeurent mal connus.

1.1.6.2.2 Mort neuronale

La MA est également associée à une perte progressive des neurones, ce qui perturbe leur bon fonctionnement. Ultimement, la perte massive de neurones entraîne une atrophie corticale qui se manifeste par un élargissement des ventricules cérébraux (Braak et Braak 1991). L'atrophie cérébrale est un phénomène qui se développe de manière spontanée et âge-dépendant chez les personnes âgées sans diagnostic de MA (Forstl et coll. 1995 ; Jack et coll. 1997; Fjell et coll. 2013). Toutefois, ce phénomène se développe de façon précoce et progresse plus rapidement chez les sujets atteints de la MA (Forstl et coll. 1995 ; Jack et coll. 1997; Erten-Lyons et coll. 2013; Scheltens et coll. 1992). Par ailleurs, des analyses par résonance magnétique semblent montrer que les régions atteintes par l'atrophie diffèrent entre le vieillissement normal et la MA, ce qui peut expliquer pourquoi la cognition n'est pas affectée de la même manière chez une personne âgée non dément et une personne atteinte de la MA (Bakkour et coll. 2013).

L'acétylcholine est un neurotransmetteur majeur associé à la mémoire et à l'apprentissage ; une baisse des niveaux de l'acétylcholine peut entraîner un dysfonctionnement des fonctions cognitives (Ikonovic et coll. 2005). La perte de neurones cholinergiques, principaux responsables de la synthèse de l'acétylcholine, est prédominante dans la MA, particulièrement dans la région du noyau basal de Meynert (Arendt et coll. 1983; Arendt et coll. 2015; Ikonovic et coll. 2005). Ces déficits cholinergiques se produisent également dans plusieurs autres régions du cerveau comme le cortex entorhinal, l'amygdale et l'hippocampe (Arendt et coll. 2015; Ikonovic et coll. 2005; Lagarde et coll. 2017). D'autres types de neurones sont également affectés dans la MA. En effet, des baisses des niveaux de plusieurs autres neurotransmetteurs, comme la sérotonine (5-HT) et la noradrénaline (NA), ont été rapportés dans certaines régions du cerveau, incluant le cortex fronto-temporal (NA), l'hippocampe (NA et 5-HT), le putamen (NA et 5-HT), le noyau caudé (5-HT) et le locus coeruleus (NA) (Reinikainen et coll. 1988; Grudzien et coll. 2007). Ces deux neurotransmetteurs seraient impliqués dans l'apparition de certaines comorbidités, entre autres la dépression, l'insomnie et les troubles de comportement, qui souvent présentes chez les individus atteints de la MA (Association américaine de psychiatrie 2013). Par ailleurs, le glutamate pourrait également jouer un rôle important dans la pathogénèse de la MA. En effet, une baisse des transporteurs impliqués dans la recapture du glutamate extracellulaire a été mis en évidence dans le cerveau des sujets atteints de la MA (Scott et coll. 2011), un phénomène qui est fortement associé à l'âge avancé (Potier et coll. 2010). Selon certaines hypothèses, l'hyperactivité glutaminergique, un neurotransmetteur excitateur, exercerait un effet toxique sur les cellules. En effet, une activation prolongée des récepteurs NMDA (N-méthyl-D-aspartate) provoque une entrée importante de calcium dans le milieu intracellulaire, ce qui a pour conséquence d'activer des enzymes de dégradation des structures cellulaires pouvant entraîner la mort de la cellule. Ce phénomène est communément appelé l'excitotoxicité (Danysz et Parsons 2012).

1.1.6.2.3 Gliose, stress oxydatif et inflammation

Le stress oxydatif survient lorsqu'il y a un déséquilibre entre les processus pro-oxydants et les mécanismes de défense cellulaire antioxydants. Il s'agit d'un phénomène étroitement lié aux processus inflammatoires et serait impliqué dans le développement de plusieurs maladies neurodégénératives comme la MA (DiCiero Miranda et coll. 2000; Yao et coll. 2004 ; Kim, Kim, Rhie et coll. 2015) Selon certaines hypothèses, le stress oxydatif surviendrait tôt dans l'évolution de la maladie, bien avant l'apparition des plaques amyloïdes (Pratico et coll. 2001). Les oligomères d'A β (surtout A β 42) stimuleraient les mécanismes de stress oxydatif et la réponse inflammatoire (Butterfield, Swomley et Sultana 2013 ; Boyd-Kimball et coll. 2004). À long terme, la surproduction de radicaux libres aurait des effets délétères sur le fonctionnement de la cellule, particulièrement lorsque les mécanismes de protection de la cellule sont dysfonctionnels, ce qui peut mener à la mort cellulaire (Yu 1994). Le stress oxydatif et l'inflammation jouent également un rôle important dans les processus physiologiques du vieillissement (Lang et coll. 1992; Sekhar et coll. 2011; Tripathy et coll. 2010; Guzik et Touyz 2017). En effet, le système vasculaire est particulièrement vulnérable aux dommages cellulaires ; le stress oxydatif et l'inflammation liés au vieillissement pourrait altérer la fonction des cellules endothéliales, un facteur déterminant de la bonne santé vasculaire autant au niveau de la périphérie qu'au niveau de la vasculature cérébrale (Silva, Pernomian et Bendhack 2012; Koizumi, Wang et Park 2016).

En parallèle, une augmentation du volume et du nombre de cellules gliales, comme les astrocytes et les microglies, un phénomène appelé gliose, est souvent observés dans le cerveau des patients atteints de la MA (Kamphuis et coll. 2014; Thomason et coll. 2013; Colangelo, Alberghina et Papa 2014). Ces phénomènes ne sont pas spécifiques à la MA, puisque qu'ils sont aussi observés dans d'autres maladies neurodégénératives comme la maladie de Parkinson (Maragakis et Rothstein 2006; Colangelo, Alberghina et Papa 2014). Le rôle exact des cellules gliales dans la MA n'est pas clairement établi (Rodriguez-Arellano et coll. 2016; Mosher et Wyss-Coray 2014). D'un côté, certaines études mécanistiques ont montré que les astrocytes et les microglies produiraient davantage de cytokines

anti-inflammatoires et de glutathion, un antioxydant important considéré comme étant un facteur protecteur contre le stress oxydatif (Mandal et coll. 2015; Pocernich et Butterfield 2012). Au contraire, d'autres études ont plutôt montré qu'une hyperactivité des cellules gliales favoriserait plutôt une production accrue de cytokines pro-inflammatoires (Meda et coll. 1999; Henry et coll. 2009; Bosson et coll. 2017). Selon certaines observations, il y aurait une co-localisation des plaques et des astrocytes (Kamphuis et coll. 2014; Thomason et coll. 2013). Enfin, la relation de cause à effets entre les phénomènes de gliose, le stress oxydatif, l'inflammation et la pathologie amyloïde est complexe et n'est pas entièrement comprise.

1.1.7 Traitements de la MA

1.1.7.1 Traitements pharmacologiques approuvés

Actuellement, il n'existe ni traitement préventif efficace, ni de traitements permettant de guérir ou renverser la progression de la MA. Il existe néanmoins quelques options de traitements pharmacologiques qui permettent d'améliorer la qualité de vie des patients.

Un grand nombre de composés pharmacologiques ont été évalués par des essais cliniques au cours des dernières décennies. Cependant, dans la majorité des cas, leur efficacité n'a pas été démontrée supérieure au placebo lors des essais de phase 3 (Schneider et coll. 2014). Seuls quelques médicaments ont été commercialisés et approuvés par Santé Canada, malgré une efficacité modeste, afin de ralentir la détérioration clinique des fonctions cognitives chez les patients atteints de cette maladie (Farlow et coll. 2010; Winblad et coll. 2007; Raskind et coll. 2000). Sur le marché, deux classes de médicaments sont disponibles pour traiter la MA : les inhibiteurs des cholinestérases (ichE) (donépézil, rivastigmine et galantamine) et les antagonistes sélectifs du récepteur NMDA (N-méthyl-D-aspartate) (mémantine). La tacrine est le premier ichE mis en marché en 1993 pour le traitement de la MA. Cependant, le médicament a dû être retiré du marché en raison de ses effets d'hépatotoxicité (Summers et coll. 1989; Watkins et coll. 1994). Par la suite, le donépézil (Aricept^{MD}) fût le deuxième ichE mis en marché pour le traitement de la MA. Le médicament fût approuvé en 1996 aux États-Unis et en 1997 au Canada et en Europe. Actuellement, le donépézil le seul ichE qui possède l'indication officielle de Santé Canada pour le traitement de la MA léger à sévère (Winblad et coll. 2006). La rivastigmine (Exelon^{MD}) et la galantamine (Reminyl^{MD}) ont été approuvés par Santé Canada en 2000 et en 2005 respectivement pour le traitement de la MA léger à modéré. Le mode d'action des ichE consiste à bloquer la dégradation de acétylcholine (AChE) présente au niveau de la fente synaptique en inhibant l'activité des acétylcholinestérases (Francis et coll. 1999). La rivastigmine bloquerait également la butyrylcholinestérase, une enzyme dont l'action est semblable à l'acétylcholinestérase, mais dont les

concentrations cérébrales sont significativement inférieures à son homologue (Brimijoin and Hammond 1988). Cette double action confère à la rivastigmine un avantage théorique, puisqu'elle bloque deux voies du métabolisme de l'acétylcholine. L'avantage sur le plan clinique de cette caractéristique demeure toutefois incertain. En sommes, les ichE entraînent une augmentation des concentrations en AchE, ce qui permet de combler partiellement les déficits cholinergiques causés par la perte de neurones (Colovic et coll. 2013).

La mémantine (Ebixa^{MD}) agit plutôt comme antagoniste non-compétitif des récepteurs NMDA, situés principalement au cerveau. La libération excessive de neurotransmetteurs excitateurs comme le glutamate a aussi été associée à de l'excitotoxicité neuronale qu'on croit impliquée dans la neurodégénérescence. Ainsi, l'inhibition du système de neurotransmission glutamatergique est une cible thérapeutique possible en présence de troubles cognitifs comme la MA (Danysz et Parsons 2012). La mémantine a été approuvée pour le traitement de la MA par Santé Canada vers la fin 2004. Selon les études cliniques, le traitement à la mémantine entraînerait un ralentissement de la détérioration des fonctions cognitives et une amélioration de la capacité de mener à bien les activités de la vie quotidienne dans le cas des patients se trouvant aux stades intermédiaires à avancés de la MA. Cependant, étant donné que les études cliniques n'ont pu confirmer clairement son efficacité lors des stades initiaux de la maladie, la Régie d'assurance médicaments du Québec (RAMQ) a émis certaines restrictions quant aux modalités de remboursements. En effet, la mémantine est remboursée uniquement chez les patients qui ont un score au MMSE situé entre 3 et 14 (stade intermédiaire ou avancé). Enfin, chez certains patients, la combinaison d'un ichE et de la mémantine peut apporter certains bénéfices supplémentaires au niveau de la cognition, du comportement et de la capacité à réaliser les activités quotidiennes chez les patients atteints de la MA intermédiaire à sévère (Matsunaga, Kishi et Iwata 2014).

1.1.7.2 Autres traitements

À la suite de l'annonce du laboratoire américain Baxter International de l'échec de son médicament expérimental Gammagard^{MD} (immunoglobuline) pour freiner le déclin cognitif chez les personnes atteintes de la maladie d'Alzheimer lors d'un essai clinique de phase 3, certains experts ont remis en question l'approche consistant à cibler directement les plaques beta-amyloïdes (Salloway, Sperling et Brashear 2014). Cette nouvelle fait suite aux échecs annoncés en phase 3 de plusieurs autres anticorps dirigés contre les plaques amyloïdes, comme par exemple le bapineuzumab de Pfizer et Johnson & Johnson ainsi que le solanezumab de Eli Lilly (St-Amour et coll 2016). Jusqu'à présent, les anticorps ciblant directement la protéine tau ou les inhibiteurs de la γ -sécrétase ont également échoué lors des essais de phase 3 (St-Amour et coll 2016). Selon certains experts, les traitements sont testés à une phase trop tardive de la maladie lors des essais cliniques, ce qui ne permet pas d'évaluer adéquatement leurs bénéfices potentiels (Laske 2014).

Un nouveau traitement expérimental basé sur la technologie des oligonucléotides s'est avéré prometteur selon les études chez les souris. L'injection d'oligonucléotides antisens dans le liquide céphalo-rachidien des animaux aurait non seulement délété la protéine tau, mais aussi de renverser en partie les dommages provoqués par les agrégats de cette protéine (DeVos et coll. 2017). Ces changements étaient corrélés avec une amélioration de performance cognitive des animaux (DeVos et coll. 2017). Bien que les traitements par oligonucléotides soient controversés en raison du manque de données d'innocuité et d'efficacité, leur usage a été approuvé aux États-Unis par la FDA en 2016 pour deux maladies neuromusculaires, soit la myopathie de Duchenne et l'amyotrophie spinale, deux conditions rares et incurables pour lesquelles il n'existe aucun traitement curatif ou palliatif (Kinali et coll. 2009; Evers, Toonen et van Roon-Mom 2015). Des essais cliniques de phase 1 sont en cours pour d'autres maladies comme la maladie d'Huntington. Les laboratoires américains Ionis Pharmaceuticals ont mis au point des oligonucléotides antisens ciblant spécifiquement l'ARN messager de protéine tau afin d'inhiber sa traduction. La séquence nucléotidique de l'oligonucléotide

antisens est complémentaire de celle de l'ARN messager ciblé (Crooke 2017). Il peut ainsi modifier le cadre de lecture de l'ARN messager, soit par un saut ou par incorporation d'exon(s), en intervenant à l'étape de l'épissage, ce qui peut bloquer ou modifier la traduction protéine (Crooke 2017). Enfin, avant d'envisager de procéder à des essais cliniques, davantage d'études chez l'animal devront être réalisées et publiées.

D'autres technologies, comme celle de l'insertion microARN, sont actuellement à l'étude pour le traitement de plusieurs maladies comme le cancer et un certain nombre de maladies dégénératives comme la sclérose amyotrophique latérale et la MA (Rupaimoole et Slack 2017; Liu et coll. 2017; Campbell et Booth 2015). Ces petites molécules d'ARN, constitué d'une vingtaine de nucléotides, sont naturellement produites par le corps humain ; celles-ci participent activement aux processus de régulation de l'expression des gènes (Delay et coll. 2011). Selon la maladie, les niveaux en microARN peuvent être modulés à la hausse ou à la baisse. Dans la MA, les niveaux de microARN, comme la miR-132, seraient fortement diminués dans le cerveau des sujets humains atteints de la MA, un phénomène qui a également été observé dans des modèles de souris transgéniques comme la souris 3xTg-AD (Hernandez-Rapp et coll. 2016; Smith et coll. 2015). Le développement d'inhibiteurs ou d'inducteurs des microARN pourrait être une stratégie thérapeutique pour traiter plusieurs maladies dégénératives, comme la MA (Rupaimoole et Slack 2017; Liu et coll. 2017; Campbell et Booth 2015).

1.1.7.3 Prévention de la MA

Il n'existe pas de moyen efficace pour prévenir la MA. Toutefois, la modification de certaines habitudes de vie pourrait possiblement aider maintenir les fonctions cognitives des personnes âgées à risque de développer la MA (Ngandu et coll. 2015). Plusieurs études ont démontré que les facteurs de risque des maladies cardiovasculaires (hypercholestérolémie, obésité, diabète, etc.) prédisposent au développement de la MA (Gabin et coll. 2017 ; Kivipelto et coll. 2001; Scheltens et coll. 2016). Ainsi, un bon contrôle de ces facteurs pourrait réduire significativement les risques associés à la maladie. Malgré le manque de reproductibilité d'une étude à l'autre, il est malgré tout recommandé d'adopter une saine alimentation en préconisant la diète méditerranéenne et en favorisant la consommation de poissons riches en acides gras oméga-3, l'huile d'olive et les fruits et légumes plutôt que la viande rouge ou les aliments gras. La combinaison de l'exercice physique à une saine alimentation serait favorable à un bon état de santé générale et prévenir l'apparition de maladies cardiovasculaires, un facteur déterminant dans l'apparition de troubles cognitifs associés à l'âge (trouble cognitif léger, démence vasculaire ou démence Alzheimer) (Arsenault et coll. 2011; Calon et coll. 2004 ; Morris et coll. 2003 ; Scarmeas et coll. 2006). L'entraînement intellectuel aide la mémoire des personnes ayant de légers déficits cognitifs et peut aider à retarder l'apparition des symptômes de la maladie. Les exercices pour stimuler la mémoire permettraient de retarder le déclin des capacités cognitives de l'individu (Heyn, Abreu et Ottenbacher 2004; Gidicsin et coll. 2015; Wilson et coll. 2002).

1.1.8 Modèles animaux pour étudier la MA

Afin d'approfondir les connaissances actuelles sur la physiopathologie de la MA, une série de modèles animaux, principalement des modèles de souris et des rats transgéniques, ont été développés et caractérisés au cours des dernières décennies (Van Dam et De Deyn 2011). Bien que ces modèles ne reproduisent pas parfaitement chacune des caractéristiques observées chez les sujets humains, ceux-ci demeurent indispensables dans le processus d'évaluation des traitements potentiels avant d'entreprendre des essais cliniques chez l'homme. On retrouve deux principaux types de modèles animaux : les modèles naturels (ou spontanés) ou les modèles génétiques (transgéniques) (Mhillaj, Cuomo et Mancuso 2017). Les rongeurs, en particulier les souris, demeurent les espèces les plus utilisées dans les études en raison de leur faible coût. La transgénèse chez la drosophile, le zébrafish ou le ver *Caenorhabditis elegans* a ouvert de nouvelles voies pour faciliter le criblage des protéines ou de gènes impliqués dans la physiopathologie de la MA (Newman, Ebrahimie et Lardelli 2014; Alexander, Marfil et Li 2014). Toutefois, ceux-ci ne seront pas abordés dans ce mémoire. D'autres modèles, comme le chien, le chat ou le singe, sont parfois utilisés en raison des similitudes des changements neurobiologiques associés au déclin cognitif lié au vieillissement (Head et coll. 2005; Fainman et coll. 2007; Heuer et coll. 2012; Schutt et coll. 2016). Toutefois, le coût élevé limite leur utilisation ; les études de caractérisation sont donc rares.

1.1.8.1 Les modèles transgéniques

Plusieurs modèles transgéniques ont été développés et caractérisés pour étudier la MA. Ces modèles consistent généralement en l'expression chez un animal d'un ou plusieurs gènes mutés connus pour causer la maladie chez l'homme (Van Dam et De Deyn 2011). Les modèles de souris simple transgénique APP, double transgénique APP/PS1 et triple transgénique 3xTg-AD (APP_{swe}, PS1_{M146V}, tau_{P301L}) demeurent parmi les plus utilisés dans les études de la MA (Mhillaj, Cuomo et Mancuso 2017). En parallèle, des modèles de rats transgéniques pour APP ont également été développés, mais ceux-ci sont moins utilisés pour plusieurs raisons incluant, entre autres, les coûts plus élevés et une caractérisation moins exhaustive comparativement aux modèles murins (Leon et coll. 2010; Cohen et coll. 2013). Les prochaines sections de ce chapitre présenteront les principaux modèles de souris transgéniques de la MA.

1.1.8.1.1 Modèles de souris simples transgéniques APP

La souris simple transgénique APP est l'un des premiers modèles développés pour étudier la MA (Hsiao et coll. 1996; Van Dam et De Deyn 2011). Il existe au moins 8 isoformes de la protéine APP humaine (hAPP) dont les trois principales sont les formes de 695, 751 et 770 acides aminés (Dawkins et Small 2014). Des études génomiques ont permis d'identifier plusieurs polymorphismes du gène APP chez des patients atteints de la forme héréditaire de la MA (Nilsberth et coll. 2001; Goate et coll. 1991; Murrell et coll. 1991). L'existence de ces mutations a mené au développement de différentes lignées de souris transgéniques hAPP (Balducci and Forloni 2011). La double mutation de type *Swedish* (KM670/671NL) est couramment introduite dans les modèles de souris de la MA, car elle augmente fortement la production globale d'Aβ (Citron et coll. 1994; Balducci et Forloni 2011). Il existe d'autres mutations comme celles de *London* (V717I) (Goate et coll. 1991), *Indiana* (V717F) (Murrell et coll. 1991) et *Arctic* (E693G) (Nilsberth et coll. 2001), mais la mutation de type *Swedish* demeure la plus courante chez les modèles animaux. Malgré certaines différences au niveau du phénotype neuropathologique entre les lignées, les souris surexpriment toutes la protéine

APP humaine, ce qui entraîne une augmentation de la production du peptide A β . Ces différences marquées au niveau du phénotype, tant au niveau cognitif que neuropathologique, s'expliquent par la diversité des techniques employées pour générer les lignées de souris (Sasaguri et coll. 2017). De façon plus précise, le choix du type de mutation (Swedish, London, Arctic, Indiana ou mixte) et du promoteur transcriptionnel (Thy1, *hamster prion protein* (PrP) ou *platelet-derived growth factor- β* (PDGF β)) influence le degré de sévérité de la pathologie amyloïde (Sasaguri et coll. 2017). En général, les plaques amyloïdes se développent de façon progressive au cours du vieillissement. Bien que rarement avant l'âge de 8 à 10 mois, les plaques apparaissent parfois plus tôt ou plus tard selon le modèle (Balducci et Forloni 2011; Liu, Paulson et coll. 2015). L'âge moyen des premiers signes de déficits cognitifs varie également selon le modèle et l'étude, mais précède généralement la formation des plaques amyloïdes (Van Dam et coll. 2003 ; Knobloch et coll. 2007). Certains auteurs ont rapporté l'apparition de déficits de mémoire spatiale et de la mémoire de travail chez des jeunes souris transgéniques hAPP dès l'âge 6 mois (Van Dam et coll. 2003). Les modèles transgéniques de première génération présentent plusieurs limites. Par exemple, ceux-ci ne présentent pas de neurodégénérescences neurofibrillaires comme chez l'humain bien que certaines études montrent une augmentation de la phosphorylation de la protéine tau (murin) comparativement aux souris contrôles (Sasaguri et coll. 2017). De plus, les modèles APP ne montrent pas de perte neuronale franche en comparaison avec les souris contrôles, ce qui peut suggérer que la pathologie tau contribuerait de façon importante au développement de la maladie.

1.1.8.1.2 Modèles de souris doubles transgéniques APP/PS1

Le modèle APP/PS1 est un modèle hybride qui possède deux transgènes humains sur les gènes APP (*Swedish*) et PS1 (L166P), lesquels sont sous le contrôle du promoteur neuronal Thy1 ou Thy1.2. Les mutations du gène PS1, situé sur le chromosome 14, sont responsables de la majorité des cas de la forme héréditaire de la MA (Sasaguri et coll. 2017). La sous-unité PS1 fait partie d'un complexe

protéique nommé γ -sécrétase dont le rôle est de réguler le clivage enzymatique d'APP au niveau C-terminal pour produire des peptides de longueur variable, soit entre 39 et 42 acides aminés (O'Brien et Wong 2011). Les souris APP_{Swe}/PS1L166P expriment des niveaux d'APP humains trois fois plus élevés que l'APP murin endogène, menant à une augmentation progressive et âge-dépendant de la production des peptides A β 40 et A β 42 (Radde et coll. 2006). Les plaques neuritiques apparaissent dès l'âge de 6 semaines dans le néocortex (Radde et coll. 2006). Vers 3 ou 4 mois, les plaques sont observées dans d'autres régions comme l'hippocampe (Radde et coll. 2006). Celles-ci s'étendent dans les régions du striatum, du thalamus et du tronc cérébral vers l'âge de 4 ou 5 mois (Radde et coll. 2006). La phosphorylation de la protéine tau (murin) augmente au cours du vieillissement, sans toutefois causer la formation de neurofibrilles. Des déficits de l'apprentissage et de la mémoire spatiale ont été observés chez des souris âgées d'environ 7 mois (Serneels et coll. 2009). Le modèle APP_{Swe}/PS1_{L166P} ne présente peu ou pas de perte de neurones. Cependant, le cas échéant, la perte de neurones se limite aux régions du gyrus dentelé ou au niveau de la couche cellulaire granulaire de l'hippocampe, deux régions possédant une forte densité de neurones, vers l'âge de 17 mois (Rupp et coll. 2011). Il existe plusieurs variantes de la souris APP/PS1. La plupart porte la mutation de type *Swedish* sur le gène APP, tandis que la mutation sur le gène PS1 peut varier, ce qui peut influencer le phénotype comportemental ainsi que l'âge d'apparition et l'étendue des plaques neuritiques (O'Leary et Brown 2009). Tout comme les souris APP, les souris APP/PS1 ne développent pas de neurodégénérescence neurofibrillaire (Sasaguri et coll. 2017) .

1.1.8.1.3 Modèle de souris triple transgénique 3xTg-AD

La souris 3xTg-AD a été développée et caractérisée par l'équipe de recherche du Dr. Laferla (Oddo, Caccamo, Shepherd et coll. 2003). Il s'agit du seul modèle transgénique qui développe à la fois des plaques amyloïdes et des dégénérescences neurofibrillaires similaires à celles observées chez l'humain (Oddo, Caccamo, Kitazawa et coll. 2003 ; Oddo, Caccamo, Shepherd et coll.

2003). La souris possède deux mutations associées à la forme familiale de la MA, soit APP (*Swedish*) et PS1 (M146V) (Haass et coll. 1995 ; Rogaeva et coll. 2001), et une mutation au niveau du gène MAPT (tau) (P301L), qui est également observée dans d'autres maladies comme la démence fronto-temporale et le parkinsonisme (Tacik et coll. 2017). Les transgènes sont intégrés dans un locus sous le contrôle du promoteur Thy1.2 par co-injections des transgènes APP et MAPT (tau) dans des cellules embryonnaires de souris homozygotes mutantes pour le gène PS1 M146V (Oddo, Caccamo, Shepherd, et coll. 2003). Une augmentation de la production du peptide A β est observée; la production d'A β 40 est généralement plus importante que celle d'A β 42, comme c'est généralement le cas chez les humains (Julien et coll. 2010). Les premiers dépôts amyloïdes extracellulaires apparaissent vers l'âge de 6 mois dans le cortex frontal, puis celles-ci se développent progressivement dans les autres régions du cerveau, plus spécifiquement au niveau des amygdales, de l'hippocampe et du cortex temporal, au cours du vieillissement (Oddo, Caccamo, Kitazawa et coll. 2003; Billings et coll. 2005). L'apparition des dégénérescences neurofibrillaires survient plus tardivement, soit autour de l'âge de 12 à 15 ou 20 mois, et progressent de façon âge-dépendant (Oddo, Caccamo, Kitazawa et coll. 2003 ; Oddo, Caccamo, Shepherd et coll. 2003; Billings et coll. 2005). Parallèlement, ces observations ont été confirmées par d'autres équipes de recherche ayant procédé à des études de caractérisation de la souris 3xTg-AD (Mastrangelo et Bowers 2008; Vandal et coll. 2014). Le modèle présente également une perte en protéines synaptiques (Julien et coll. 2008) et des changements dans le cycle circadien qui précèdent généralement l'apparition des plaques neuritiques et des dégénérescences neurofibrillaires (Oddo, Caccamo, Shepherd et coll. 2003 ; Sterniczuk, Dyck et coll. 2010). Les premières études de caractérisation ont montré des signes précoces de déficits de la mémoire spatiale et contextuelle entre l'âge de 4 mois (Billings et coll. 2005) et 6 mois (Stover et coll. 2015) qui progresseraient au cours du vieillissement (Billings et coll. 2005).

Le phénomène de vieillissement normal entraîne un certain nombre de changements du métabolisme en général. Par exemple, en âge avancé, le métabolisme énergétique général diminuerait, ce qui entraînerait le ralentissement de plusieurs fonctions comme le métabolisme périphérique et central du glucose ; ces mêmes altérations seraient amplifiées dans la MA (Vandal et coll. 2015). En effet, des analyses par tomographie par émission de positrons ont montré une baisse allant jusqu'à 20 à 25% du métabolisme cérébral du glucose chez les patients souffrant de la MA comparativement à un sujet cognitivement normal d'âge similaire (Small et coll. 1995; Cunnane et coll. 2011; Mosconi et coll. 2009). De surcroît, des altérations similaires ont été mises en évidence des patients prédiabétiques et diabétiques de type 2 (Baker et coll. 2011). L'ensemble de ces observations viennent conforter l'hypothèse selon laquelle le diabète de type 2 et autres troubles du métabolisme du glucose pourraient jouer un rôle dans la genèse de la MA.

Un autre changement frappant est que la souris 3xTg-AD montre une baisse de température corporelle plus prononcée par rapport aux souris contrôles non transgéniques du même âge (Vandal et coll. 2016). Ce phénomène serait fortement lié à l'âge avancé ; il y aurait une forte corrélation entre les déficits de thermorégulation et la progression de la pathologie tau non seulement chez la souris 3xTg-AD, mais également chez les souris non transgéniques (Vandal et coll. 2016; Tournissac et coll. 2017). Ces déficits de thermorégulation seraient amplifiés chez la souris 3xTg-AD, comparativement à la souris contrôle (non transgénique) (Vandal et coll. 2016). Ces observations ont donné naissance à l'hypothèse que les déficits de thermorégulation survenant à un âge avancé pourraient contribuer à initier, voire même aggraver, la progression de la neuropathologie de la MA transgéniques (Vandal et coll. 2016; Tournissac et coll. 2017; Planel et coll. 2009). En accord avec l'hypothèse proposée, des études de cohortes et des revues systématiques ont montré que les personnes âgées avaient une température corporelle moyenne plus basse que ces des personnes plus jeunes (Gomolin et coll. 2005; Lu, Leasure et Dai 2010). Cependant, l'hypothèse du déficit de

thermorégulation dans la pathogénèse de la MA devra être étudiée de manière approfondie chez l'humain afin de confirmer les observations chez l'animal.

Enfin, ce modèle, tout comme les autres décrits précédemment, ne développe pas de perte neuronale significative (Oddo, Caccamo, Shepherd et coll. 2003; Van Dam et De Deyn 2011; LaFerla et Green 2012; Sabbagh, Kinney et Cummings 2013), possiblement en raison de son espérance de vie courte, ce qui ne permet pas à la pathologie de se développer pleinement. Il s'agit d'une limite importante du modèle.

1.1.8.1.4 Autres modèles de souris transgéniques

Un nombre considérable de modèles animaux transgéniques ont été développés et caractérisés au cours de la dernière décennie. Ces modèles peuvent présenter une modification, une surexpression ou une déplétion partielle ou complète d'un ou plusieurs gènes. Ceux-ci sont couramment utilisés dans les études visant à caractériser des mécanismes physiologiques associés à une protéine particulière (Gomez de Barreda et coll. 2010; Liu, Hu, et coll. 2015; Janssen et coll. 2016; Farris et coll. 2003).

Par exemple, des souris transgéniques porteuses de l'allèle epsilon-4 de la protéine ApoE ont été développées afin d'étudier les conséquences de cet isoforme sur les processus physiopathologiques impliqués dans la MA (Youmans et coll. 2012 ; Traversy et coll. 2016).

Il existe également des modèles de souris exprimant une mutation spécifique au niveau du gène MAPT (tau), de sorte que les souris expriment uniquement les isoformes de la protéine tau humaine (htau) (Andorfer et coll. 2003). Ces modèles sont utilisés pour étudier les processus physiopathologiques impliqués dans l'hyperphosphorylation de la protéine tau et la formation des dégénérescences neurofibrillaires. À l'inverse, il existe aussi un modèle de souris n'exprimant pas la protéine tau dans les neurones, plus communément nommés tau "*knock out*"

en raison d'une délétion complète du gène MAPT (modèle B6.129X1-Mapt^{tm1Hnd}/J, laboratoires Jackson, CA, É-U). Ce modèle sert également de témoin dans les études où l'étude du rôle de la protéine tau est centrale.

Plusieurs autres modèles sont disponibles et répertoriés sur le site alzforum (<https://www.alzforum.org/research-models>), mais ceux-ci ne seront pas abordés dans ce mémoire.

1.1.8.1.5 Principales limites des modèles transgéniques

Les modèles transgéniques ont contribué significativement à l'avancement des connaissances de la MA. Toutefois, ces modèles arborent des mutations sur les gènes APP et PS1 qui sont présents que chez moins de 5% de l'ensemble des cas de la MA (Piaceri, Nacmias et Sorbi 2013). De plus, les mutations sur le gène MAPT (tau) ne sont pas uniques à la MA, puisqu'elles ont été identifiées chez des patients présentant une démence ou autre type de troubles dégénératifs pour lesquels des anomalies de la protéine tau similaires ont été observées (Tacik et coll. 2017). La protéine tau humaine est codée par le gène MAPT présent sur le chromosome 17 ; la structure de cette protéine est complexe et ses propriétés physiologiques diffèrent de chez la souris (Andreadis, Brown et Kosik 1992; Guo et coll. 2016; Wang et Mandelkow 2016). Dans le cerveau humain, l'épissage alternatif de l'ARNm de tau mène à la formation de 6 isoformes possibles de la protéine (Wang et Mandelkow 2016). La présence ou l'absence d'épissage de l'exon 10 entraîne la formation d'isoformes à trois (3R) ou quatre domaines (4R) de fixation aux microtubules (Wang et Mandelkow 2016). Chez la souris, on retrouve exclusivement l'isoforme 4R, une subtilité importante par rapport à l'humain et qui pourrait expliquer en partie l'absence de dégénérescences neurofibrillaires (Andorfer et coll. 2003). Dans ce contexte, les modèles transgéniques APP et APP/PS1 (mutations humaines) ne permettent pas d'évaluer adéquatement l'effet d'un traitement potentiel sur la pathologie tau. Il serait préférable d'utiliser des modèles comme la souris 3xTg-AD et hTau qui développent des neurodégénérescences neurofibrillaires comme chez l'humain, bien que ces modèles

présentent également d'autres inconvénients. Finalement, une autre limite importante des modèles transgéniques, y compris la souris 3xTg-AD, est l'absence d'évidence claire de perte neuronale significative comme chez les sujets atteints de la MA (Oddo, Caccamo, Kitazawa et coll. 2003; Oddo, Caccamo, Shepherd et coll. 2003; Van Dam et De Deyn 2011; LaFerla et Green 2012; Sabbagh et coll. 2013). Dans le meilleur des cas, la perte de neurones se restreint à certaines régions du cortex cérébral et de l'hippocampe de certains modèles de souris APP/PS1 (Calhoun et coll. 1998; Casas et coll. 2004; Brasnjevic et coll. 2013; Takahashi et coll. 2010; Rupp et coll. 2011; Oakley et coll. 2006; Jawhar et coll. 2012; Faure et coll. 2011)

1.1.8.2 Les modèles de vieillissement « accéléré »

1.1.8.2.1 Lignée de souris SAMP (senescence-accelerated mouse prone)

Les modèles de vieillissement non transgéniques sont également très utilisés dans l'objectif d'identifier les mécanismes physiopathologiques qui seraient impliqués dans l'altération des fonctions cognitives en âge avancé. Le modèle de souris SAMP (*senescence-accelerated prone mouse*) a fait l'objet d'un certain nombre d'études de caractérisation dans divers domaines de recherche liés au vieillissement. La lignée de souris SAM a été développée à partir d'une lignée de souris AKR/J provenant du laboratoire Jackson (Takeda, Hosokawa et Higuchi 1997). Il existe 12 lignées de souris SAMP, incluant entre autres les souris SAMP1, SAMP2, SAMP3, SAMP6, SAMP7, SAMP8, SAMP9, SAMP10 et SAMP11 (Tableau 1.3) (Takeda et coll. 1994 ; Takeda, Hosokawa et Higuchi 1997). À l'origine, la souris AKR/J était utilisée dans la recherche sur le cancer, particulièrement la leucémie. Une dérive génétique spontanée de ce modèle a donné naissance aux différentes lignées de souris SAM, dont les premières études de caractérisation ont été effectuées par le Dr. Takeda et son équipe (Takeda et coll. 1994 ; Takeda, Hosokawa et Higuchi 1997). L'intérêt pour ce modèle s'explique par leur phénotype de vieillissement métabolique accéléré, se traduisant par l'apparition de certains troubles comme par exemple l'ostéoporose, l'intolérance au glucose, les cataractes, l'alopécie, l'arthrite, l'atrophie cérébrale,

l'apparition de déficits cognitifs à un âge précoce et une espérance de vie raccourcie (Takeda et coll. 1994 ; Takeda, Hosokawa et Higuchi 1997). En parallèle, une série de souris contrôles, les souris SAMR (*senescence-accelerated-resistant mouse*), décrites comme étant « résistante s » (ou dites normales) au vieillissement dans la documentation scientifique, ont été développées et caractérisées. Il existe trois types de lignées de souris SAM dont le phénotype de vieillissement a été qualifié comme étant normal : les souris SAMR1, SAMR4 et SAMR5 (Tableau 1.4) (Takeda et coll. 1994 ; Takeda, Hosokawa et Higuchi 1997). Chacune des souches possède son propre phénotype ; la souris SAMR1 est la lignée de souris contrôles la plus utilisée et la mieux caractérisée. Quelques études se sont intéressées au profil génétique de ces souris afin de mieux caractériser les différences qui existent entre les différentes lignées. Toutefois, les données génomiques disponibles ne permettent pas de cibler un gène unique à l'origine de leur phénotype de vieillissement accéléré (Carter et coll. 2005; Tanisawa et coll. 2013; Kitado, Higuchi et Takeda 1994).

Le choix du modèle dépend principalement du domaine de recherche. Dans les études portant sur la MA, les modèles de souris SAMP10 et SAMP8 ont attiré l'attention. Le modèle SAMP10 développerait progressivement une atrophie de la région frontale du cortex cérébral, tandis que les régions comme l'hippocampe ainsi que les différentes structures du tronc cérébrales demeureraient intactes (Shimada 1999 ; Shimada et coll. 2003). Au contraire, la souris SAMP8 ne développe pas d'atrophie cérébrale comme la souris SAMP10. En revanche, les études de caractérisations montrent une augmentation de l'hyperphosphorylation de la protéine tau et une augmentation de la production d'APP et du peptide A β (murin), des caractéristiques importantes associées à la MA (Morley et coll. 2012 ; Wei, Zhang et Zhou 1999 ; Canudas et coll. 2005 ; Morley et coll. 2000). Fait intéressant, les premiers signes de déficits cognitifs, comme l'apprentissage et la mémoire spatiale, apparaîtraient dès l'âge de 3 à 5 mois (Chen et coll. 2004). Cette caractéristique peut s'avérer utile pour développer de nouveaux modèles animaux de la MA.

Tableau 1.3 : Description du phénotype des souris SAMP

SAMP1	Amyloïdogénèse sénile, diminution de la réponse immunitaire, trouble d'audition, atrophie de la rétine, hypertension, dysfonctionnement des reins et l'hyperinflation des poumons, mort prématurée.
SAMP2	Amyloïdogénèse sénile et diminution de la réponse immunitaire, mort prématurée.
SAMP3	Arthrose dégénérative de l'articulation temporo-madibulaire, mort prématurée.
SAMP6	Ostéoporose sénile, mort prématurée.
SAMP7	Amyloïdogénèse sénile, thymôme, mort prématurée.
SAMP8	Amyloïdogénèse sénile, hyperphosphorylation de la protéine tau, stress oxydatif, inflammation, déficits de mémoire et d'apprentissage, troubles émotionnels et diminution de la réponse immunitaire, mort prématurée.
SAMP9	Cataractes et hyperplasie du corps vitré, mort prématurée.
SAMP10	Atrophie cérébrale, dépression, stress oxydatif, inflammation, déficits de mémoire et d'apprentissage, mort prématurée.
SAMP11	Épaississement de la tunique moyenne (média) de l'aorte thoracique, amyloïdogénèse sénile et dysfonctionnement des reins, mort prématurée.

Source : Takeda et coll. (1994) et Takeda et coll. (1997).

Tableau 1.4 : Description du phénotype des souris SAMR

SAMR1	Lymphomes non thymiques, kystes ovariens, sacornes, espérance de vie similaire aux souris C57/BL6.
SAMR4	Lymphomes non thymiques, sacornes, espérance de vie similaire aux souris C57/BL6.
SAMR5	Colite, espérance de vie similaire aux souris C57/BL6.

Source : Takeda et coll. (1994) et Takeda et coll. (1997).

Chapitre 2 : Problématique, hypothèse et objectifs.

2.1 Problématique

La MA est une maladie complexe et hétérogène qui est difficile à répliquer intégralement dans un modèle animal unique. En effet, actuellement, les modèles animaux de la MA disponibles ne reproduisent qu'en partie les caractéristiques de la maladie humaine, ce qui peut sans doute expliquer pourquoi la plupart des composés pharmacologiques étudiées en phases précliniques se traduisent en échec thérapeutiques lors des essais cliniques en phases 2 et 3, et ce, malgré des résultats prometteurs chez l'animal (Van Dam et De Deyn 2011). La souris triple-transgénique 3xTg-AD est le seul modèle animal facile à reproduire en colonie et qui présente à la fois les pathologies amyloïde et tau (Oddo, Caccamo, Kitazawa et coll. 2003; Oddo, Caccamo, Shepherd et coll. 2003; Oh et coll. 2010; Carroll et coll. 2010; Vandal et coll. 2015; St-Amour et coll. 2014). Cependant, un inconvénient de ce modèle, tout comme chez les autres modèles transgéniques de la MA, est que la souris ne développe pas de perte neuronale significative telle qu'observée chez l'humain atteint de la MA. De surcroît, la progression de la neuropathologie (amyloïde et tau) demeure également en deçà de ce qui est observé chez l'homme. D'autre part, les troubles comportementaux documentés chez la souris ne sont pas comparables aux handicaps fonctionnels observés à des stades avancés de la maladie.

La conceptualisation du projet découle de l'idée d'engendrer un modèle animal hybride qui combinerait à la fois les caractéristiques de la souris 3xTg-AD et celles de la souris SAMP8, un modèle qui, selon les données publiées dans la documentation scientifique, possède un phénotype de vieillissement cognitif prématuré. En effet, l'accentuation de l'expression des facteurs de vieillissement pour accélérer le développement de la neuropathologie Alzheimer chez la souris 3xTg-AD. L'objectif du projet était de vérifier si le fond génétique de la souris SAMP8 permettrait d'accentuer de façon significative la neuropathologie Alzheimer de la souris 3x-Tg-AD. L'objectif ultime est d'engendrer un modèle dont le

phénotype de la pathologie Alzheimer ressemblerait davantage à la maladie humaine.

Entre le moment où nous avons débuté ce projet (2007) et la rédaction de ce mémoire, deux autres groupes ont effectué ce type de croisement, avec des souris exprimant un gène APP (Lok et coll. 2013; Porquet et coll. 2015) Ces équipes de recherche ont procédé à un croisement entre un modèle transgénique de la pathologie amyloïde, la souris APP/PS1, et la SAMP8. Toutefois, jusqu'à maintenant, les études de caractérisation réalisées chez le modèle SAMP8xAPP/PS1 ont donné lieu à des résultats conflictuels en dépit de certaines différences méthodologiques (Lok et coll. 2013; Porquet et coll. 2015). Une seule étude, autre que la nôtre, a utilisé un modèle de souris transgénique pour le gène MAPT (TauP301L) (humain) croisé au modèle de souris SAMP8. Le croisement a eu pour conséquences d'augmenter les niveaux en protéine tau phosphorylée pour certains épitopes (phospho-Ser202, Ser205 et Ser235), particulièrement au niveau de l'hippocampe et des amygdales, dans le cerveau de souris âgées de 10 mois (Bodea et coll. 2017).

2.2 Hypothèse

Notre hypothèse est que le croisement entre la souris 3xTg-AD et la souris SAMP8 permettrait d'accentuer significativement la progression des pathologies tau et amyloïde en comparaison avec le modèle 3xTg-AD traditionnel.

2.3 Objectifs

Afin de valider notre hypothèse, les objectifs du projet sont les suivants : étudier l'effet du croisement entre la souris SAMP8 et 3xTg-AD sur :

- 1) le comportement (mémoire spatiale, locomotion, anxiété).
- 2) les marqueurs neuropathologiques associées à la MA :
 - La protéine tau ;
 - La pathologie amyloïde : APP et A β ;
 - Autres protéines impliquées dans la clairance d'A β ;
 - Marqueurs liés à l'inflammation et au stress oxydatif ;
 - Marqueurs de densité neuronale (NeuN).

CHAPITRE 3: Article: *Characterization of a 3xTg-AD mouse model of Alzheimer's disease with the senescence accelerated mouse prone 8 (SAMP8) background.*

Manuscript accepted for publication on January 22th 2018 in *Synapse* journal (in press).

Authors: Jessica Virgili^{1,2*}, Meryem Lebbadi^{1,2*}, Cytia Tremblay², Isabelle St-Amour², Caroline Pierrisnard^{1,2}, Audrey Faucher-Genest³, Vincent Emond², Carl Julien^{1,2}, Frédéric Calon^{1,2†}

Affiliations:

¹Faculté de pharmacie, Université Laval, Quebec (Québec), Canada;

²Axe Neurosciences, Centre de recherche du centre Hospitalier de l'Université Laval (CHUL), Québec (Québec), Canada;

³Faculté des sciences sociales, Université Laval, Québec (Québec), Canada

*These authors contributed equally to this work

†Correspondence to: Dr. Frédéric Calon, Centre Hospitalier de l'Université Laval (CHUL) Research Center, Room TR-72, 2705 Laurier Blvd, Quebec, QC, Canada, G1V 4G2; Tel: 418-654-2296 or 418-656-4141 x48697, Fax: (418) 654-2761, E-mail: frederic.calon@crchul.ulaval.ca

Key words: Alzheimer's disease, brain aging, accelerated senescence, neurodegeneration, cerebral amyloidosis, tauopathy, astrogliosis.

3.1 Résumé en français

Aucun modèle animal ne reproduit intégralement la neuropathologie de la maladie d'Alzheimer (MA). Bien que le modèle de souris triple transgénique 3xTg-AD exprime à la fois des plaques A β et les dégénérescences neurofibrillaires, corrélant avec l'apparition de déficits synaptiques et comportementaux, celui-ci ne présente pas de perte neuronale franche. Sachant que l'âge avancé est le facteur de risque le plus important de la MA, il est possible que les interactions avec les mécanismes liés au vieillissement ne suffisent pas à recréer un environnement propice au développement de la maladie dans le cerveau des souris. Afin de vérifier cette hypothèse, nous avons croisé la souris 3xTg-AD avec un modèle de souris de sénescence accéléré, la souris SAMP8 (*senescence-accelerated mouse prone 8*), un modèle présentant un phénotype de vieillissement « accéléré ». Nous avons généré et caractérisé 4 groupes de souris hétérozygotes avec le génotype SAMP8 ou son contrôle SAMR1 (*senescence-resistant mouse-1*), ainsi que le génotype 3xTg-AD ou son contrôle non transgénique (Non-Tg). L'âge de sacrifice a été fixé à 19-20 mois pour maximiser l'effet du phénotype de sénescence accéléré du modèle SAMP8 afin d'améliorer le phénotype du modèle 3xTg-AD pour qu'il puisse ressembler davantage à la maladie humaine. Malgré l'absence de différence entre les groupes du temps total de latence pour trouver la sortie du labyrinthe de Barnes, un plus grand nombre d'erreurs a été observé chez les souris P8 / 3xTg-AD de 19 mois au jour 5 du test par rapport aux autres groupes. Les analyses post-mortem ont révélé des niveaux accrus en protéine tau phosphorylés à l'épitope Thr231 dans le cortex des souris femelles P8 / 3xTg-AD (+ 277% par rapport aux souris R1/3xTg-AD), sans aucun autre changement détectable dans la pathologie tau. Les souris femelles P8/3xTg-AD présentaient une aggravation significative de la pathologie amyloïde avec des concentrations en A β 40 et A β 42 solubles plus élevées au niveau du cortex (A β 40, + 85%, A β 42, + 35% par rapport aux souris contrôles R1/3xTg-AD du même sexe), alors que les concentrations de leur formes insolubles sont demeurées inchangées. L'augmentation de l'A β 42 soluble corrélait avec une augmentation de l'activation astrogliale corticale chez les souris femelles P8/3xTg-AD, mesurée par les taux de la protéine gliale fibrillaire acide (GFAP) (+ 57% par rapport aux souris R1/3xTg-

AD du même sexe). De plus, les concentrations en apolipoprotéine E (ApoE) et l'enzyme de dégradation de l'insuline (IDE), deux protéines impliquées dans la clairance $A\beta$, étaient plus faibles dans le cortex des souris femelles P8/3xTg-AD, ce qui était cohérent avec une augmentation de l'accumulation d' $A\beta$. Enfin, pour détecter la présence de lésions neuronales et/ou des signes de neurodégénérescence, les concentrations du marqueur neuronal (NeuN) ont été mesurées dans le cortex cérébral et l'hippocampe, mais aucune différence significative n'a été détectée entre les groupes. En conclusion, l'introduction des gènes de la souris SAMP8 chez la souris 3xTg-AD a eu un effet délétère sur la mémoire spatiale et a exercé une aggravation de la neuropathologie, mais de façon spécifique aux souris femelles, sans toutefois induire de neurodégénérescence visible.

3.2 Abstract

No animal model fully recapitulates neuropathology of Alzheimer's disease (AD). Although the triple-transgenic mouse model of AD (3xTg-AD) expresses both A β plaques and tau-laden neurofibrillary tangles, as well as synaptic and behavioral deficits, it does not display frank neuronal loss. Since old age is the most important risk factor in AD, it is possible that interactions with senescence-related mechanisms are lacking to truly establish an AD-like environment in the mouse brain. To investigate this hypothesis, we bred the 3xTg-AD mouse with the senescence-accelerated mouse prone 8 (SAMP8), a model of accelerated aging. We generated and characterized 4 groups of heterozygous mice with either the SAMP8 or SAMR1 (senescence-resistant-1) phenotype, along with either the 3xTg-AD or non-transgenic (NonTg) genotype. The 19-20-month timepoint was used to maximize the effect of accrued senescence from the SAMP8 background to bring the 3xTg-AD model as close as possible to human AD. Despite no difference among groups in total latency to escape the Barnes maze, a greater number of errors were noticed before entering the target hole in 19-month-old P8/3xTg-AD mice at day 5, compared to other groups. Postmortem analyses revealed increased cortical levels of tau phosphorylated at Thr231 in female P8/3xTg-AD mice (+277% versus R1/3xTg-AD mice), but no other changes in tau pathology. Female P8/3xTg-AD mice exhibited significantly aggravated amyloid pathology with higher cortical soluble A β 40 and A β 42 concentrations (A β 40, +85%; A β 42, +35% versus R1/3xTg-AD), whereas insoluble forms remained unchanged. The increase in soluble A β 42 was correlated with higher cortical astroglial activation in female P8/3xTg-AD mice, as measured with glial fibrillary acidic protein (GFAP) levels (+57% versus R1/3xTg-AD mice). In addition, Apolipoprotein E (ApoE) and insulin-degrading enzyme (IDE), two proteins involved in A β clearance, were lower in the cortex of female P8/3xTg-AD mice, consistent with increased A β accumulation. Finally, to probe for neuronal injury and degeneration, concentrations of neuronal nuclei (NeuN) were measured in the brain cortex and the hippocampus, but no significant differences were detected between groups. In conclusion, introduction of the SAMP8 genotype in 3xTg-AD mice had a

deleterious effect on spatial memory and exerted female-specific aggravation of AD neuropathology, without inducing overt neurodegeneration.

3.3. Introduction

Aging is central to the pathogenesis of Alzheimer's disease (AD), the most prevalent cause of age-related dementia (Scheltens et al. 2016). The incidence of sporadic AD is extremely low before 65 years old; it then doubles every 5 to 6 years to surpass 3 cases per 100 person-years after 80 and 8 cases per 100 person-years after 85 (Alzheimer association 2015). More than 90% of patients suffering from AD in the US are 75 years and older (Alzheimer Association 2015). Even the most penetrant AD-causing gene mutations require aging factors to be translated into a full clinical expression of the disease.

To model AD, a large number of transgenic mice have been produced and characterized in the last decades (Van Dam and De Deyn 2011; LaFerla and Green 2012; Sabbagh, Kinney, and Cummings 2013). It was found that mice overexpressing mutated forms of the human amyloid- β ($A\beta$) precursor protein (hAPP) developed $A\beta$ deposits in their brain, along with quantifiable memory deficits (Oddo, Caccamo, Shepherd, et al. 2003; Sterniczuk, Antle, et al. 2010; Sterniczuk, Dyck, et al. 2010). Since the diagnosis of AD is dependent upon the histological visualization of both $A\beta$ plaques and tau-laden neurofibrillary tangles (NFT), Dr Frank LaFerla's team generated a triple-transgenic model (3xTg-AD) expressing three transgenes: mutated human $A\beta$ precursor protein (APP_{Swe}), knock-in mutation of the murine presenilin-1 ($PS1_{M146V}$), and mutated human tau $P301L$ (Oddo, Caccamo, Shepherd, et al. 2003; Sterniczuk, Antle, et al. 2010; Sterniczuk, Dyck, et al. 2010). This mouse line progressively develops both $A\beta$ and tau pathologies in AD-relevant brain regions as well as deficits in long-term synaptic plasticity and cognitive performance (Irizarry et al. 1997; Oddo, Caccamo, Shepherd, et al. 2003; Sterniczuk, Antle, et al. 2010; Sterniczuk, Dyck, et al. 2010). However, the 3xTg-AD mouse, just as other transgenic models, does not develop frank neurodegeneration as found in AD brains (Oddo, Caccamo, Shepherd, et al.

2003; Van Dam and De Deyn 2011; LaFerla and Green 2012; Sabbagh, Kinney, and Cummings 2013), which is not strictly a characteristic of late stage AD since early hippocampal neuron loss can be observed by MRI in mild cognitive impairment and preclinical AD (Kordower et al. 2001; Price et al. 2001; Schuff et al. 2009). At best, only very limited neuronal loss has been reported, but not always replicated, in APP/PS1 models, in regions like the cortical layer 5, the subiculum, hippocampal CA1/2 areas and the dentate gyrus (Calhoun et al. 1998; Casas et al. 2004; Oakley et al. 2006; Takahashi et al. 2010; Rupp et al. 2011; Jawhar et al. 2012; Faure et al. 2011; Brasnjevic et al. 2013). The discrepancy between what is observed in the AD brain compared to mouse models may explain why promising preclinical results do not translate into successful clinical trials (Cummings, Morstorf, and Zhong 2014). Given the above-described importance of aging in AD, a possible simple explanation is that, within the short lifespan of a mouse, AD-relevant aging factors simply do not have the time to be fully established, thus blunting the expected progression of the pathology and neurodegeneration.

The senescence-accelerated prone-8 mouse (SAMP8) is widely used to study brain aging and age-associated diseases. The SAMP8 mouse was first generated from the AKR/J strain (Takeda et al. 1981; Takeda et al. 1994) and spontaneously shows a premature aging phenotype, such as learning and memory deficits from as early as 4 months old (Flood and Morley 1998; Miyamoto 1997; Butterfield and Poon 2005; Cheng, Zhou, and Zhang 2014). Most interestingly, a few reports suggest that SAMP8 mice harbor histopathological alterations similar to those found in AD, including increased tau hyperphosphorylation and overexpression of APP mRNA and its protein in the cerebral cortex and/or hippocampus (Wei, Zhang, and Zhou 1999; Canudas et al. 2005; Morley et al. 2000). However, the search for A β plaques and neurofibrillary tangles in this model has led to conflicting data (Takemura et al. 1993; Nomura et al. 1996; Liao et al. 2006; Del Valle et al. 2010; Lok et al. 2013; Manich et al. 2014). Despite several characterization studies, no specific gene has been yet identified as a trigger of accelerated senescence in the SAMP8 mouse, although multigenic single nucleotide variants may be involved

(Delerue et al. 2013). Nevertheless, the model remains particularly useful to study age-related changes in gene expression patterns and protein abnormalities that might lead to cognitive decline and, possibly, dementia such as AD (Butterfield and Poon 2005; Canudas et al. 2005; Del Valle et al. 2010; Zhu et al. 2011; Morley et al. 2012).

In the present work, we thus hypothesized that accrued senescence from the SAMP8 background would provide a synergistic molecular background that amplifies the development of AD neuropathology in the 3xTg-AD transgenic model of A β and tau neuropathology. To that aim, we bred 3xTg-AD with SAMP8 mice and let them age to establish both phenotypes in the hope of generating a mouse model closer to AD, based on its behavioral and biochemical characterization.

3.4 Material and methods

3.4.1 Animals

Laval University ethics committee approved all animal experiments. The 3xTg-AD (APP^{swe}, PSIM146V, tauP301L) mice and non-transgenic (NonTg) littermates with the same genetic background (C57BL6/129SvJ) were produced at our animal facilities. Male SAMP8 and control SAMR1 mice were obtained from Harlan UK Limited (Oxon, UK). Our study was performed using the first generation of heterozygous offspring to ensure comparable backgrounds in each group. After a short acclimatization period, male SAMP8 and SAMR1 mice were bred with homozygous female 3xTg-AD or NonTg mice, yielding a target group (SAMP8/3xTg-AD) and 3 control groups (SAMR1/3xTg-AD, SAMP8/NonTg, and SAMR1/NonTg). The presence or the absence of 3xTg-AD transgenes was confirmed by PCR, as described previously (Oddo, Caccamo, Shepherd, et al. 2003). At 20 months of age, animals were sacrificed under deep anesthesia with ketamine/xylazine by intracardiac perfusion using a phosphate saline buffer (PBS 1X: 1 mM KH₂PO₄, 10 mM Na₂HPO₄, 137 mM NaCl, 2.7 mM KCl, pH 7.4) containing inhibitors of proteases and phosphatases (Sigma–Aldrich, St. Louis, MO). Blood sample collection was performed by intracardiac puncture just before

starting the perfusion. Immediately after sacrifice, brains were rapidly harvested and dissected. The tissues were kept at -80°C until processing for Western Blots or ELISA assays. The number of animals in each group is indicated in the Figures.

The 19-20 months timepoint was selected because: (i) to maximize the potentiating effect of the SAMP8 background to bring the 3xTg-AD model as close as possible to human AD, it was critical to study the neuropathology at the oldest possible age, (ii) SAMP8/3xTg-AD cross-bred mice showed an unexpected lifespan of 19-20 months in our animal facilities (Figure 3.1). The literature regarding the lifespan of SAMP8 mice brings conflicting information, but most studies suggest that homozygous animals of this strain die before reaching 9 months of age (Takeda et coll. 1981; Takeda et al.1994). Thus, when we started the study, we expected heterozygous SAMP8 mice to be sacrificed between 12 and 14 months of age at the latest (Guo et al. 2015). However, in our animal facilities, heterozygous mice did not die prematurely, despite showing signs of the SAMP8 phenotype at 12 months. Even the six homozygous SAMP8 mice we used for breeding easily lived up to 12 months in a pathogen-controlled environment when properly cared and fed.

3.4.2 Behavioral assessment

3.4.2.1 Spatial memory

The Barnes maze test was used to assess spatial memory and learning in 19-month-old mice from all 4 groups, as previously described (Barnes 1979; Drouin-Ouellet et al. 2012; St-Amour et al. 2014; Vandal et al. 2014). The Barnes maze consists in a circular surface standing about 3 feet above the floor with 20 holes in it but only one leading to a safe escape zone (the target hole). Prior to testing (probe day), training sessions were performed to allow animals to familiarize with the maze and learn to locate the escape zone. Two aversive stimuli (bright light and a loud noise) were used to stimulate mice to escape through the target hole. The test was performed over a 5-day period including training sessions on days 1 to 4 (acquisition phase: 4 trials/day, 3 minutes/trial) and a probe trial on the fifth day (1 trial of 90 seconds). “Latency” corresponds to the time taken to find, reach

and fully escape through the target hole. An error was recorded when an animal poked its head into a non-escape hole, mistaking it for the target hole. A longer latency and/or an elevated number of errors were interpreted as a deficit in spatial memory. Mice that were not participative/immobile due to a lack of motivation or freezing behavior were excluded from the analysis, explaining the reduced number of animals in this particular test.

3.4.2.2 Locomotor activity and anxiety-like behavior

The locomotor activity of each mouse was assessed using an open-field and a wheel activity system (San Diego Instruments) (St-Amour et al. 2014) at 19 months of age. The open field enclosure included a 10-inch square Plexiglas cage with white translucent walls (dimensions: 80 cm × 80 cm). Horizontal and vertical movements were tracked using a photobeam activity system (San Diego Instruments). Each mouse was placed individually in the center of the enclosure and was allowed to move freely. Total distance was recorded within a 1-h period. Spontaneous locomotor activity was also evaluated during the active cycle of the mouse (from 19:00 to 07:00 h) using activity wheels (15 cm in diameter). The total distance traveled and speed were measured during a 12-h period. The anxiety-like behavior was assessed with a ratio between the time spent in the central area versus the periphery (ratio of central ambulatory movements: peripheral ambulatory movements). Because of mice aversion to open spaces, a reduced ratio is interpreted as a greater anxiety.

3.4.3 Protein extraction

The detailed procedure for protein extraction is described elsewhere (St-Amour et al. 2014; Vandal et al. 2014). To extract the soluble cytosolic/extracellular proteins, frozen parieto-temporal cortices were weighed and homogenized by adding 8 volumes of Tris-buffered saline (TBS) containing Complete™ protease inhibitors (Roche, Indianapolis, IN), pepstatin A (10 ug/ml) and phosphatase inhibitors (1mM sodium pyrophosphate and 50mM sodium fluoride). The samples were sonicated (3×10 sec.) and centrifuged at 100,000×g for 20 min at 4°C. To extract membrane-

bound proteins, the TBS-insoluble pellets were homogenized by adding 8 volumes of lysis buffer (150 mM NaCl, 10 mM NaH₂PO₄, 1% Triton X-100, 0.5% SDS and 0.5% sodium deoxycholate) containing protease/phosphatase inhibitor. Then, homogenates were sonicated (3×10 sec.) and centrifuged at 100,000×g for 20 min at 4°C. The pellets (detergent-insoluble fractions) were homogenized in 175 µl of 90% formic acid followed by a short sonication (1×10 sec) to extract insoluble proteins. The resulting suspension was centrifuged (10,000 x g; 4°C x 20 min) and the supernatants were divided into two aliquots and dried out at room temperature for 48 to 72 h. One aliquot was resuspended in 50 µl of guanidine hydrochloride (5 M) diluted in 0.05 M Tris-HCl to be used for ELISA assays. The other aliquot was solubilized in 1X Laemmli's buffer (diluted from 5X with 1 M Tris pH 9) and processed for Western immunoblotting. The hippocampi were directly homogenized in 8 volumes of lysis buffer containing cytosolic and membrane-bound proteins. The samples were sonicated (3×10 sec.) and centrifuged at 100,000×g for 20 min at 4°C. The resulting homogenates were kept at -80°C until Western blot assays.

3.4.4 ELISA

Soluble and insoluble A β ₄₀ and A β ₄₂ levels in the parieto-temporal cortex were measured using High Sensitive human β -Amyloid ELISA kits (WAKO, Osaka, Japan), as reported earlier (St-Amour et al. 2014; Vandal et al. 2014). TBS-soluble homogenates (soluble A β) were loaded directly onto ELISA microplates, and guanidine-solubilized homogenates (insoluble A β) were diluted 1:100 in sample diluent prior to loading to obtain values within the standard curve of the assay. The ELISAs were performed according to the manufacturer's recommendations and the plates were read at 450 nm using a Synergy™ HT multi-detection microplate reader (Biotek, Winooski, VT).

3.4.5 Western Immunoblotting

For Western immunoblotting, protein concentrations were determined using bicinchoninic acid protein assays (Pierce, Rockford, IL) (St-Amour et al. 2014; Vandal et al. 2014). Equal amounts of protein (20 µg of total protein per lane for TBS- and detergent-soluble fractions, and 60 µg for detergent-insoluble fractions) were added to each sample in Laemmli's loading buffer, heated to 95°C for 5 min, and subjected to sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis. Proteins were electroblotted onto PVDF membranes (Immobilon, Millipore, MA). The membranes were blocked in 5% w/v dry milk with 0.5% w/v bovine serum albumin (BSA) solubilized in PBS-0.1% Tween-20 for 1h. Afterwards, membranes were incubated with primary antibody diluted (Table S1, supplementary data) in 5% w/v nonfat dry milk, BSA 0.5% w/v and PBS-0.1% Tween-20 overnight at 4°C. Immunoblots were incubated with horseradish root peroxidase-conjugated (HRP) AffiniPure donkey anti-rabbit, goat anti-rabbit, goat anti-rat or goat anti-mouse secondary antibodies (1:60,000 each; Jackson ImmunoResearch, West Grove, PA) in 1% BSA w/v and PBS-0.1% Tween-20 for 1 h, and were revealed by enhanced chemiluminescence (Amersham™ ECL Plus Western Blotting Detection Reagent, GE Healthcare, Baie d'Urfé, QC, Canada or Luminata Forte, Western HRP substrate, Millipore, MA, USA). Band intensities were directly quantified using Thermo Scientific myECL imager (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA). Before capturing the image, the software adjusts the exposure time to achieve an optimal detection and linear intensity of the bands and to avoid saturation of the signal. Quantifications were based on the net intensity of the bands, which represents the sum of the background-subtracted pixel values in the band rectangles.

3.4.6 Statistical analyses

Data are presented as means \pm SEM. Statistical analysis and number of mice per group are specified in each figure. Equality of the variances between the groups was determined using the Bartlett's test. When we had more than two groups to compare, we used one-way or two-way ANOVA. For one-way ANOVA with equal variance between groups, Tukey's post-hoc analysis was performed. When unequal variances were encountered, the groups were compared using the Kruskal-Wallis test followed by Dunnett's post-hoc analysis. The two-way ANOVA analyses were followed by Tukey post hoc analysis. Males and Females were grouped together when no sex-dependent effects were detected. Coefficients of determination (r^2) and significance of the degree of linear relationship between parameters were determined using a simple regression model. A contingency table chi-square (χ^2) test was performed to assess survival/death rates. The threshold for statistical significance was set at $P < 0.05$. All statistical analyses were performed with Prism 6 (GraphPad software, San Diego, CA, USA) or JMP (version 13.0; SAS Institute Inc., Cary, IL) software.

3.5. Results

3.5.1 Confirmation of SAMP8 phenotype in heterozygous P8/3xTg-AD and P8/NonTg mice.

At approximately 12 months, we observed a slightly hunched position, skin coarseness, and partial alopecia in most P8/3xTg-AD and P8/NonTg animals, but not in R1 counterparts, hinting at the inherited SAMP8 phenotype in these heterozygous strains. The mean weight in each group of mice at sacrifice was between 43 and 49 grams (g), except for female P8/NonTg mice (39 ± 7 g), which were significantly leaner, compared to other groups (Figure 3.1A). The proportion of premature deaths (ie before 20 months) was significantly higher in female P8/3xTg-AD and female P8/NonTg mice compared to female SAMR1 counterparts as determined with a contingency analysis (chi-square, $P=0.029$, Figure 3.1B), a trend not significant in males (chi-square, $P=0.074$, Figure 3.1B). This suggests that heterozygous SAMP8 background had more impact in female mice. The main causes of death included infectious diseases and tumors.

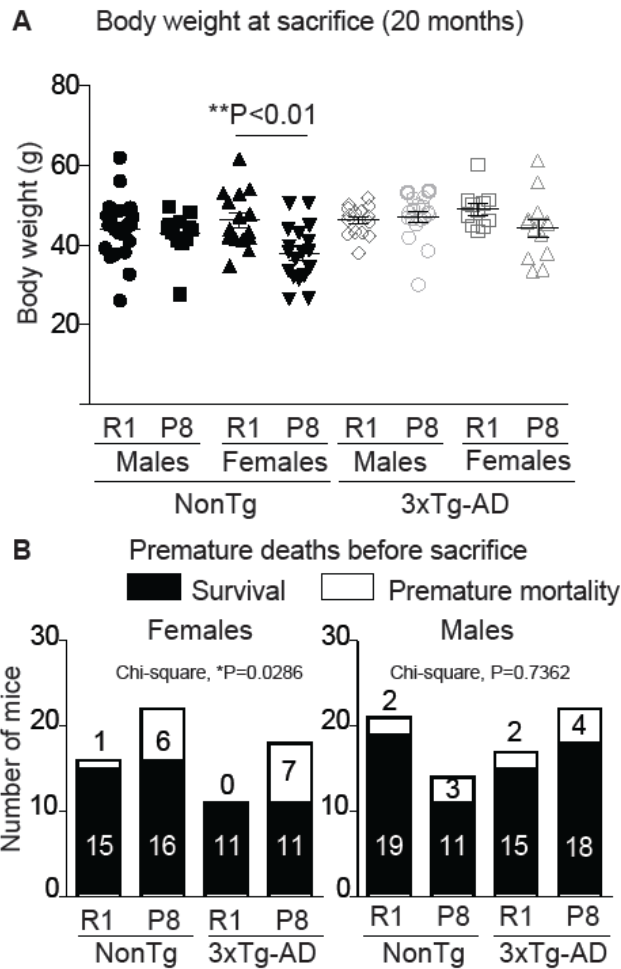


Figure 3.1: (A) Body weight at sacrifice (20 months of age). Data are presented as mean \pm SEM. Data were compared using one-way ANOVA analysis followed by a Tukey post-hoc test ($n=11-24$), $**P<0.01$. (B) Premature mortality and survival at the 20-month time point just before the sacrifice. The number of mice that died prematurely before sacrifice (white area) and those that survived (black area) are indicated in the histograms. Data were pooled into a contingency table and were compared using a chi-square test ($n=11-22$). Female P8/3xTg-AD and female P8/NonTg showed a higher proportion of mortality compared to female R1 controls ($*P=0.029$). This observation was not significant in male groups ($P=0.074$).

3.5.2 Impaired spatial memory in P8/3xTg-AD mice.

The progressive improvement (ie reduced latency) to find the escape hole over the 5-day period confirmed that mice from each group exhibited spatial learning ($P < 0.0001$, two-way ANOVA repeated measures), indicating that the Barnes test was appropriate for 19-month-old mice (Figure 3.2B). No significant difference in latency was detected between groups on probe day (Figure 3.2B). The low number of animals per group precluded from evaluating sex-related differences. No significant differences in the average number of errors were observed between P8/NonTg and R1/NonTg mice (Figure 3.2C). However, the percentage of holes searched in the target zone (Figures 3.2D and 3.2E) tended to increase in P8/NonTg mice, paralleled with a reduced number of pokes into the target hole (Figure 3.2F) compared to R1/NonTg mice. Altogether, P8/NonTg mice spent more time in the target zone, but displayed difficulties to recognize the escape, resulting in a decreased number of pokes into the target hole. Nonetheless, based on the number of head pokes in wrong holes before reaching the target hole, P8/3xTg-AD mice made significantly more errors on day 5 (+ 6-fold, $P < 0.01$; one-way ANOVA/Tukey) compared to animals from all other groups, suggesting a spatial memory deficit when SAMP8 and 3xTg-AD backgrounds are combined (Figure 3.2C). This difference was not due to exaggerated voluntary locomotor activity or anxiety, as assessed with the open field test (Figure S1, supplementary material) or running wheel system (Figure S1, supplementary material, section 3.11).

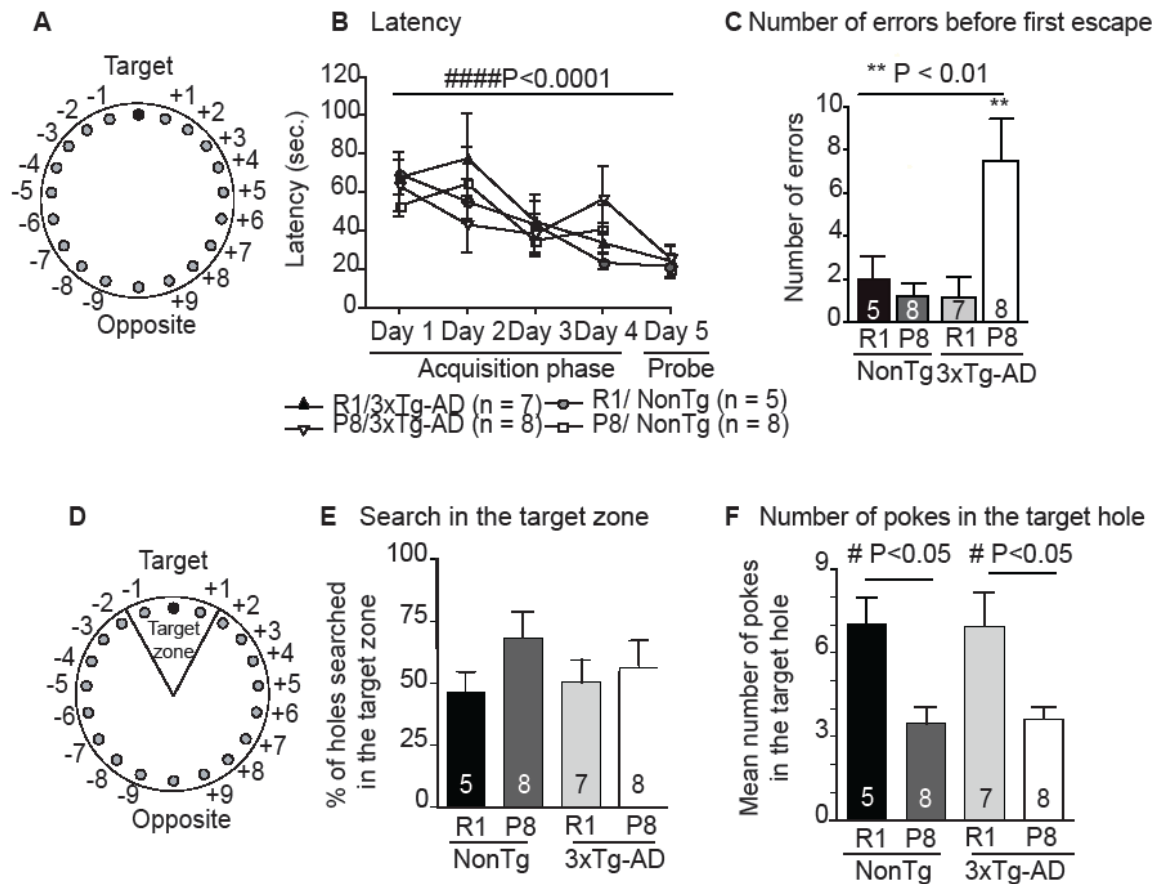


Figure 3.2: SAMP8 hemizyosity did not prolong total latency but increased the number of errors before finding the target hole at day 5 in 19-month-old P8/3xTg-AD mice exposed to the Barnes maze test. Mice completed a 4-day acquisition phase (4 trials/day, 3 minutes/trial) before the probe trial performed on the fifth day (1 trial of 90 seconds). Two slightly aversive stimuli (bright light and a loud noise) were used to stimulate mice to find the escape zone. (A) Circular open platform surface. (B) The latency or the time needed to escape into the target hole during training sessions on days 1 to 4 (acquisition phase) and probe day (day 5), showing that all groups displayed progressively shorter latencies over the 5-day trial. Data were compared using two-way repeated-measures ANOVA; ##### $P < 0.0001$, $n=5-8$. (C) Average number of errors before escape at day 5. The 3xTg-AD transgenes combined with SAMP8 strain led to deteriorated spatial memory. Data

were compared using a one-way ANOVA followed by Tukey post-hoc analysis; ** $P < 0.01$ versus all other groups. (D) Circular open platform surface and representation of the target zone. (E) The number of explorations (holes searched) in the target zone remained unchanged, (F) with a 50% decrease of the number of pokes in the target hole in both P8 groups (two-way ANOVA; $P < 0.05$). Data are presented as mean \pm SEM (n=5-8). Males and females were equilibrated within the groups, but the number of animals per group was not high enough to evaluate sex-related differences.

3.5.3 Higher levels of soluble phosphorylated tau in the parieto-temporal cortex of female P8/3xTg-AD mice.

Given that hyperphosphorylation of tau is a key diagnostic marker of AD and a major correlate of cognitive symptoms (Braak and Braak 1995; Tremblay et al. 2007; Tremblay et al. 2017; Bennett et al. 2004) we sought to examine whether the SAMP8 genetic background would potentiate the development of tau pathology in 3xTg-AD mice. Levels of soluble tau phosphorylated at Thr231 (AT180) (normalized to total tau) were higher in the parieto-temporal cortex of female P8/3xTg-AD mice compared to female R1/3xTg-AD controls (total tau-normalized AT180, +277% versus female R1/3xTg-AD mice; $P=0.0139$; Kruskal-Wallis-ANOVA/Dunnett; Figure 3.3B), a difference not observed in males or in NonTg groups. No significant differences were observed for all other tau phospho-epitopes tested: phospho-Thr181 (AT270), phospho-Ser202 (CP13) and phospho-Ser396/Ser404 (PHF-1) (Figure 3.3A). In addition, no changes in total levels of soluble and insoluble human tau (Tau-13) were observed between the groups (Figures 3.3C and 3.3D). In sum, the effect of the SAMP8 genotype on tau pathology was female-specific and limited to the pThr231 epitope in P8/3xTg-AD mice.

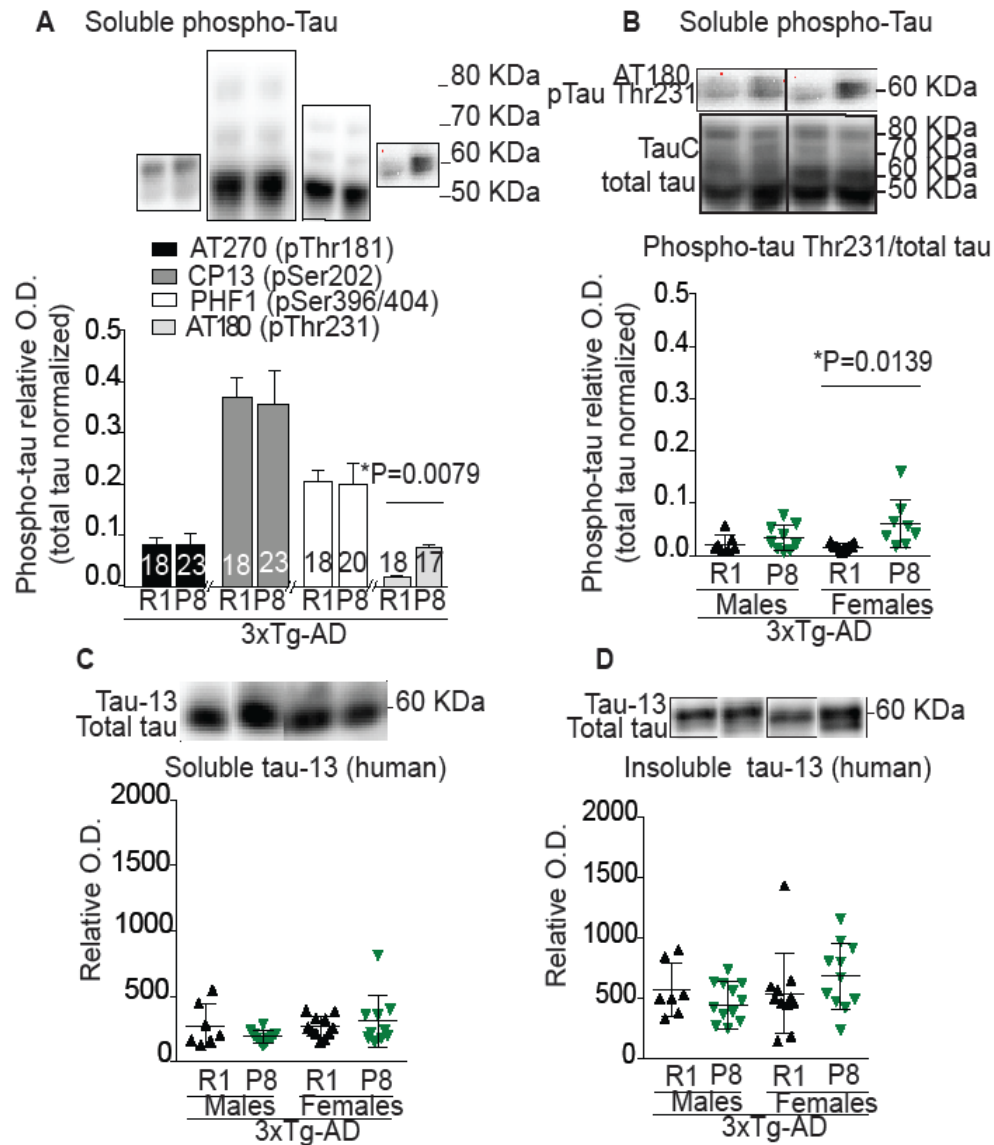


Figure 3.3: Analysis of tau pathology by Western immunoblots revealed an increase only in soluble pThr231 tau in the parieto-temporal cortex of P8/x3xTg-AD females at 19 months. The values are expressed as means of the relative net optical density (O.D.). (A) Phospho-epitopes AT270 (pThr181), CP13 (pSer202) and PHF1 (pSer396/404) were tested, with no significant differences between R1 and P8 groups, except for AT180 ($P=0.0079$). Data were compared using the Mann-Whitney test ($n=18-23$). O.D. for each phospho-tau epitope was quantified on separate membranes. Males and females were grouped together when no sex-dependent effects were detected ($n=18-23$). (B) Subgroup analyses revealed an

increase in phospho-tau Thr231 (AT180) in female P8/x3xTg-AD mice compared to female R1/x3xTg-AD mice. No differences were detected in NonTg mice (data not shown). O.D. was normalized to the total amount of tau (TauC, murine+human). Data were compared by Kruskal-Wallis ANOVA analysis followed by Dunnett post-hoc test (n=7-13), P=0.0139. (C-D) Soluble and insoluble total human tau (tau-13) in heterozygous 3xTg-AD mice (n=7-13). (A-D) Data are presented as mean \pm SEM. Representative bands were selected from non-consecutive samples run in the same gel to match with histogram bars.

3.5.4 Marked accumulation of soluble A β in the parieto-temporal cortex of female P8/3xTg-AD.

Insoluble extracellular A β deposits forming amyloid plaques in brain-specific regions are key histopathological hallmarks used to confirm the diagnosis of AD (Braak and Braak 1991; Tremblay et al. 2007; Ferreira et al. 2015). In addition, soluble A β and, particularly, A β 42 oligomers are suspected to trigger neurotoxicity and synaptic dysfunctions (Lue et al. 1999; Tu et al. 2014). Both soluble and insoluble forms of A β 40 and A β 42 were measured in the parieto-temporal cortex of the 4 groups of mice. Females with 3xTg-AD transgenes displayed higher levels in soluble A β 40 and A β 42, compared with genotype-matched male mice (P<0.0001; two-way ANOVA/Tukey; Figures 3.4A and 3.4B), in agreement with previously reported sex-specific differences in brain A β content in the 3xTg-AD model (Carroll et al. 2010; Bories et al. 2012). Overall, females exhibited a preferential accumulation of A β 40 over A β 42, leading to a lower A β 42/A β 40 ratio (Figure 3.4C). Similar sex differences were observed for insoluble A β 42 concentrations (female P8/3xTg-AD mice, +215% versus male P8/3xTg-AD mice; P<0.0001; two-way ANOVA/Tukey; female R1/3xTg-AD, +152% versus male R1/3xTg-AD mice; P<0.0001; two-way ANOVA/Tukey; Figure 3.4E). The introduction of the SAMP8 background in female 3xTg-AD mice led to higher levels of soluble A β 40 (+85%; P<0.0001) and, to a lesser degree, A β 42 (+35%; P<0.01) compared to R1/3xTg-AD controls (Two-way ANOVA/Tukey; Figures 3.4A and 3.4B). No such effect was detected in males (Figures 3.4A and 3.4B). Also, no significant differences were

detected between SAMR1 and SAMP8 crosses for A β in insoluble fractions (Figures 3.4D and 3.4E).

To determine whether increased A β 40 and A β 42 were due to increased production of human (h) APP or its processing by α - and β -secretases (BACE), we quantified full-length hAPP, soluble α -cleaved APP (sAPP α) and BACE enzyme (Figures 3.4F-3.4H). Two-way ANOVA revealed an effect of sex on levels of hAPP (increase; P=0.0032; Figure 3.4F) and sAPP α (increase; P<0.0001; Figure 3.4G), consistent with increased production and metabolism of APP in female heterozygous 3xTg-AD mice. Additionally, Tukey's post hoc analyses revealed an effect of the P8 genotype toward higher APP production and release of sAPP α fragment in female P8/3xTg-AD mice (average full APP; P<0.05; sAPP α ; P<0.01 versus female R1/3xTg-AD mice; Figures 3.4F and 3.4G). No changes in BACE protein expression were detected between the 4 groups (Figure 3.4H).

Taken together, this suggests a female-specific effect of SAMP8 background on the amyloid cascade in heterozygous 3xTg-AD mice, but only for the soluble forms of A β pathology. These observations were not correlated with changes in concentrations of synaptic markers, such as synaptosomal-associated protein 25 (SNAP-25), postsynaptic density-95 (PSD95) and synaptophysin, known to be altered in AD (Calon et al. 2004; Shankar et al. 2008; Bereczki et al. 2016; Yuki et al. 2014; Tu et al. 2014) (Table S2, Supplementary data, section 3.11).

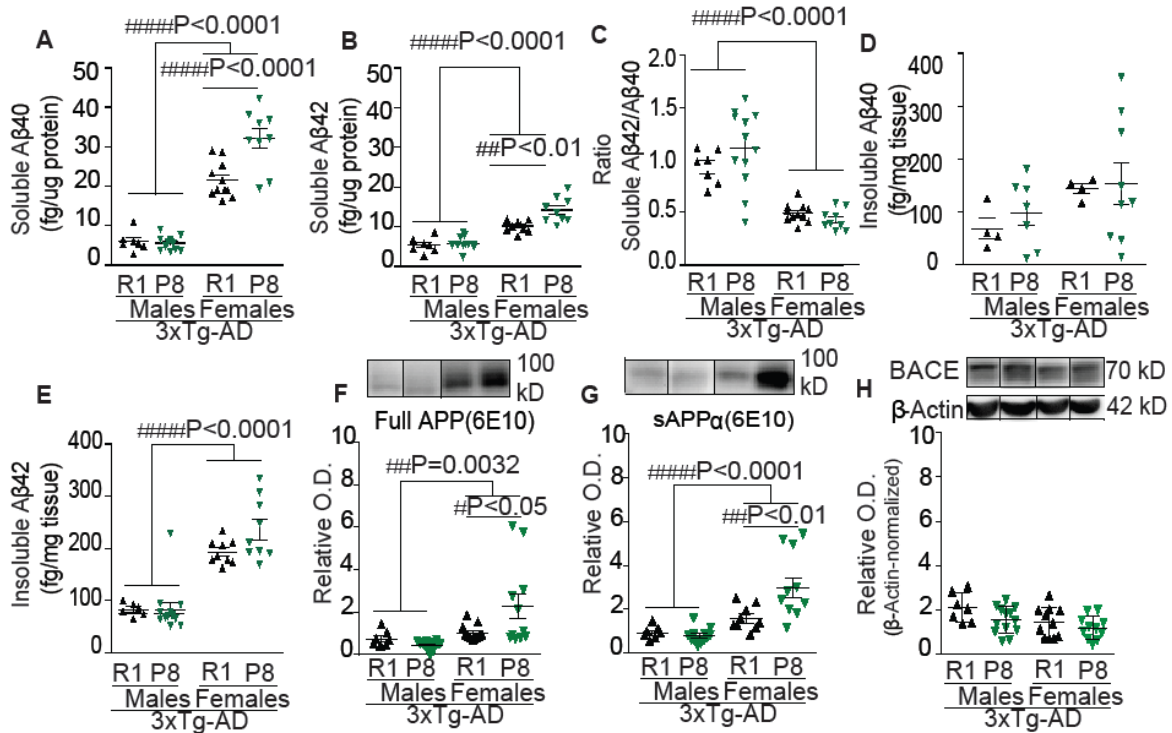


Figure 3.4: SAMP8-induced accelerated aging increased soluble Aβ peptides in the brain cortex of 3xTg-AD mice. (A-E) Soluble and insoluble Aβ peptides in the parieto-temporal cortex of 3xTg-AD mice. Aβ quantification was performed by ELISA (F-H) hAPP production and processing. Protein quantification was performed by Western immunoblotting. The values are expressed as means of the relative net optical density (O.D). (F) Full-length hAPP. (G) sAPPα. (H) BACE enzyme. Data are presented as mean ± SEM. Data are compared using two-way ANOVA followed by Tukey post hoc analysis (n = 6-10); #####P<0.0001, ##P<0.01, #P<0.05. Representative bands were selected from non-consecutive samples run in the same gel to match with histogram bars. *Abbreviations: hAPP: human amyloid precursor protein; sAPPα: soluble α-cleaved APP; BACE: beta-secretase enzyme.*

3.5.5 Altered ApoE and IDE concentrations in the parieto-temporal cortex of female P8/3xTg-AD mice.

Alterations in A β clearance play an important role in the increased accumulation of A β documented in late-onset sporadic AD. We thus measured by immunoblotting the concentrations of proteins involved in cerebral A β build-up: Apolipoprotein E (ApoE), insulin-degrading enzyme (IDE), neprilysin (NEP), receptor for advanced glycation end products (RAGE) and low density lipoprotein receptor-related protein 1 (LRP-1) (Jiang et al. 2008; Lee et al. 2012; Li et al. 2012; Wildsmith et al. 2013). The P8 genotype induced a significant reduction *in* ApoE and IDE concentrations in female P8/3xTg-AD compared to female R1/3xTg-AD controls (β -actin-normalized ApoE; -66%; P<0.05; one-way ANOVA/Tukey; β -actin-normalized IDE: -70%; P<0.05; two-way ANOVA/Tukey; Figures 3.5A and 3.5B), an effect not observed in their male counterparts or NonTg groups. No effects of genotype or sex were observed on neprilysin, LRP-1 and RAGE concentrations (Figures 3.5C-3.5E).

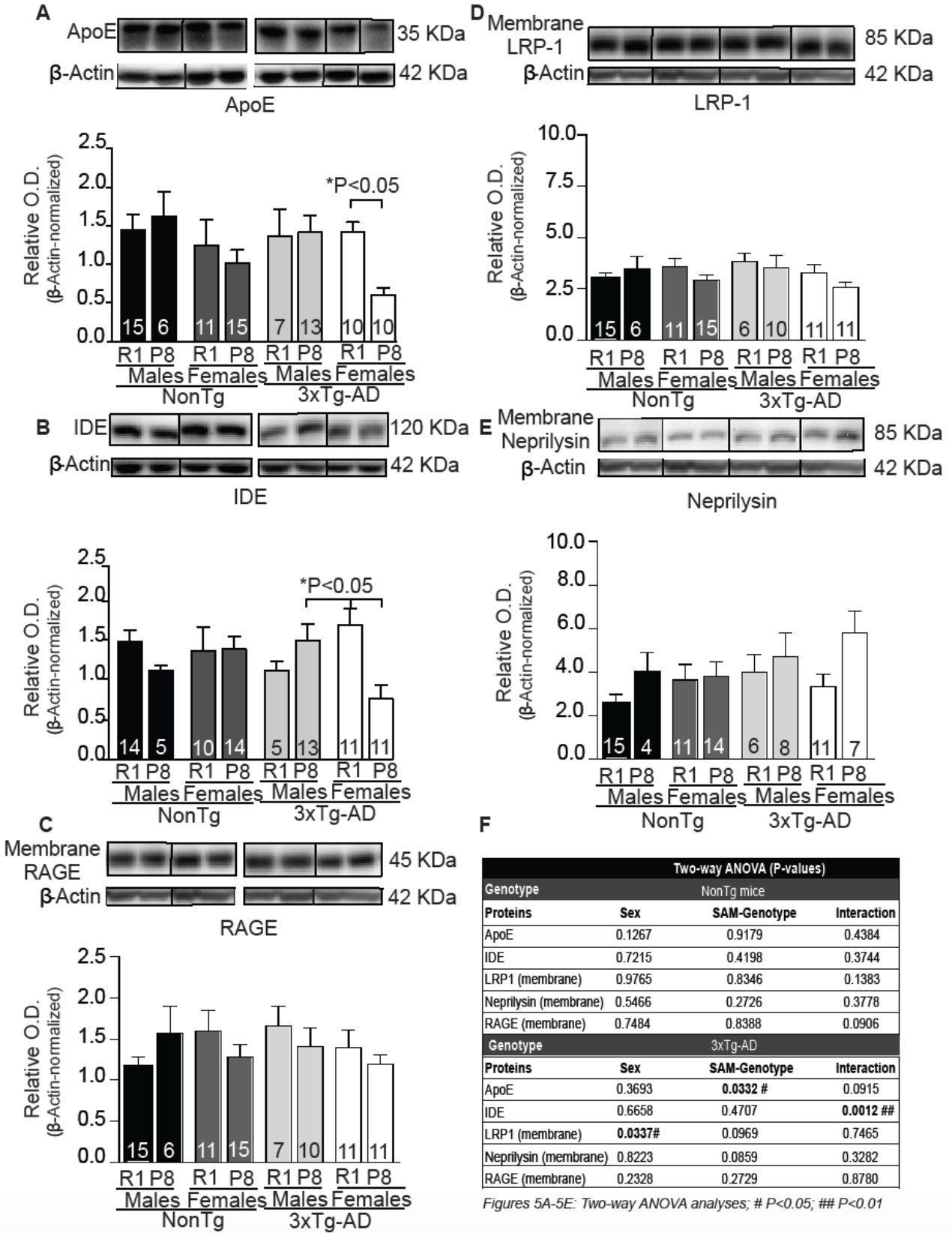


Figure 3.5: SAMP8-induced accelerated aging altered mechanisms of A β clearance in 3xTg-AD mice. Female-specific reduction in (A) ApoE and (B) IDE concentrations in P8/3xTg-AD mice. (C-E) Unchanged Neprilysin, LRP-1 and RAGE concentrations (A-E) Protein quantification was performed by Western immunoblotting. The values are expressed as mean relative net optical density (O.D). Relative O.D densities were normalized β -actin density. Data are presented as mean \pm SEM. (A-E) Data are compared using one-way ANOVA followed by Tukey post hoc analysis (n = 5-15); *P<0.05. Representative bands were selected from non-consecutive samples run in the same gel to match with histogram bars. (F) Two-way ANOVA p-values were included in a table.

3.5.6 Association of higher levels of soluble A β 42 with reactive astrogliosis in the parieto-temporal cortex of female P8/3xTg-AD mice.

Increased expression of glial fibrillary acidic protein (GFAP) within astrocytes has been described as an index of reactive astrogliosis, a complex phenomenon closely related to neuronal damage seen in neurodegenerative diseases and other brain injuries (Colangelo, Alberghina, and Papa 2014; Eng and Ghirnikar 1994; Ingelsson et al. 2004). To assess glial activation, we measured GFAP in the parieto-temporal cortex and hippocampus of all groups of mice. We found that actin-normalized GFAP level was increased by 57% in female P8/3xTg-AD mice compared to female R1/3xTg-AD controls in the cortex; P<0.05; one-way ANOVA/Tukey; Figure 3.6A). Most interestingly, these changes were positively correlated with the levels of soluble A β 42 in the parieto-temporal cortex ($r^2=0.6059$; P=0.0229; Figure 3.6B). In contrast, there was no difference in GFAP levels in male P8/3xTg-AD mice (Figure 3.6A) or NonTg groups (data not shown). Lastly, no difference in GFAP levels was found in the hippocampus between the groups (results not shown). Thus, the introduction of SAMP8 background appears to drive a cortical astrogliosis in female 3xTg-AD mice.

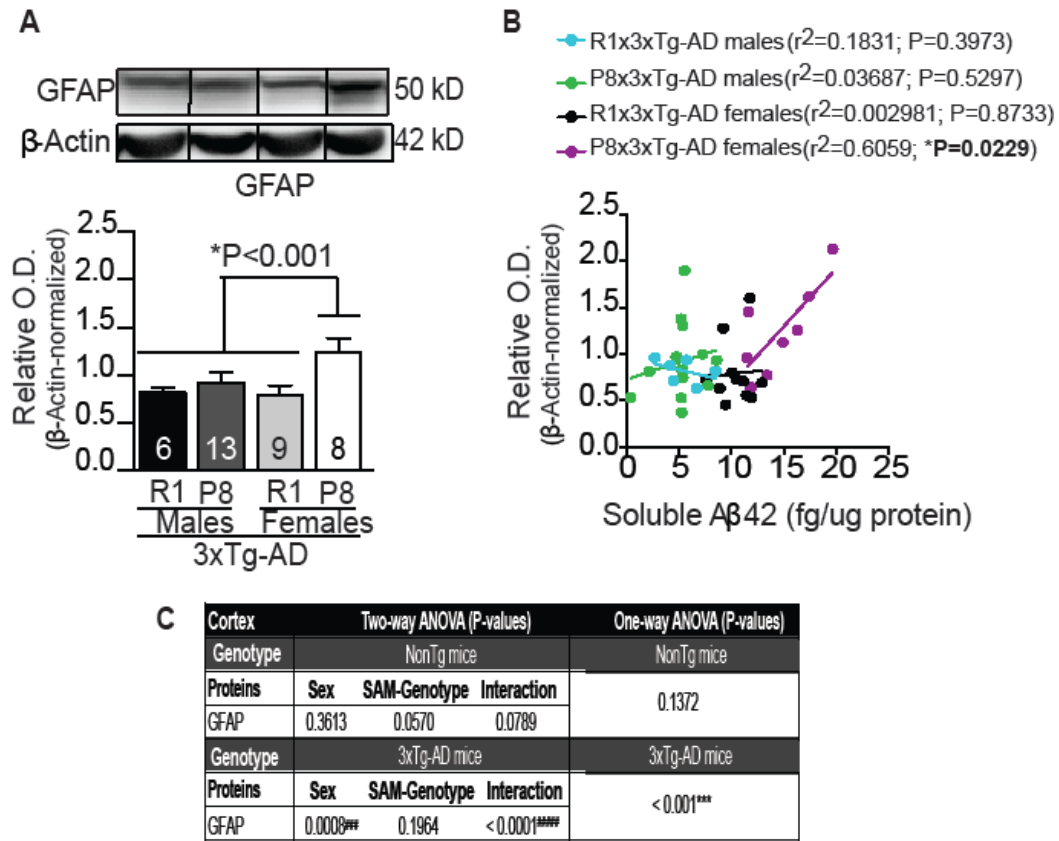


Figure 3.6: Reactive astrogliosis in female SAMP8x3xTg-AD mice. (A) Increased GFAP protein expression (normalized to detergent-soluble β -actin) in homogenates of the parieto-temporal cortex of female SAMP8x3xtg-AD mice. Protein quantification was performed by Western immunoblotting. The values are expressed as mean relative net optical density (O.D.). Data are presented as mean \pm SEM. Data were compared using one-way ANOVA followed by Tukey post-hoc analysis ($n = 6-13$). Representative bands were selected from non-consecutive samples run in the same gel to match histogram bars. (B) Correlations between cortical GFAP and soluble A β 42 concentrations. Coefficients of determination (r^2) and significance of the degree of linear relationship between parameters were determined using a simple regression model.

3.5.7 Unchanged NeuN immunoreactivity in heterozygous P8/3xTg-AD mice

NeuN has been widely used to estimate neuronal cell loss in neurodegenerative diseases (Davoli et al. 2002; Lok et al. 2013). Western-blot analyses did not reveal any significant difference in levels of NeuN between SAMR1 and SAMP8 strains in the parieto-temporal cortex and hippocampus of NonTg and 3xTg-AD groups for both sexes (Figures 3.7A and 3.7B). One way and two-way ANOVA analyses revealed no significant genotype-gender interactions ($P > 0.05$, Figures 3.7A and 3.7B).

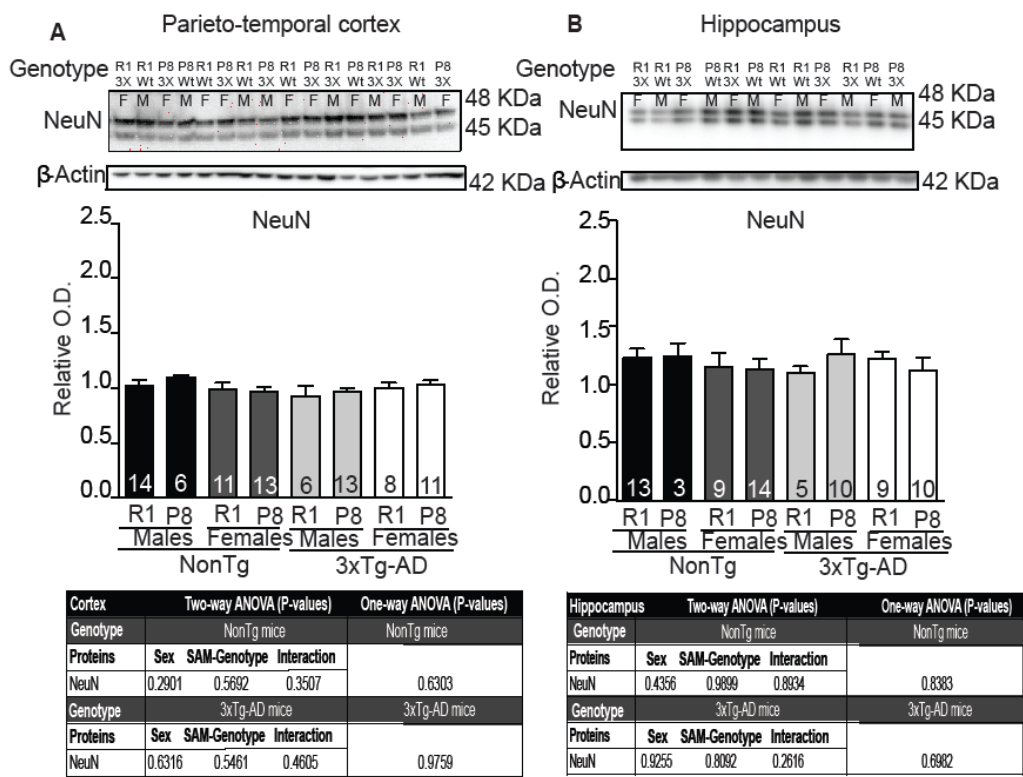


Figure 3.7: NeuN immunoreactivity in the parieto-temporal cortex (A) and hippocampus (B). (A-B) Protein quantification was performed by Western immunoblotting. The values are expressed as mean relative net optical density (O.D.). Data are presented as mean \pm SEM of four separate assays (parieto-temporal cortex) or one assay (hippocampus) ($n=3-14$). One single example of membrane per measure is represented in the figure. Data were analyzed using one-way and two-way ANOVA. P-values for each test were included in a table below its corresponding graph.

3.6. Discussion

Old age is the strongest risk factor known for developing late-onset sporadic AD (Association 2015). In the present study, we generated a novel mouse model by crossing 3xTg-AD mice with the SAMP8 mouse with the objective of potentiating A β and tau pathologies with aging factors to produce an animal model closer to AD. Our study revealed that heterozygous SAMP8 genotype led to a phenotype of premature senescence in P8/3xTg-AD mice accompanied with: (1) impaired spatial memory; (2) higher phosphorylation of AT180 (pThr231) in females; (3) increased APP production and A β levels in females, paralleled with decreasing ApoE and IDE concentrations; (4) and increased astroglial activation in females; (5) however, no indication of neuronal loss was observed.

3.6.1 The SAMP8 background had detrimental effects on spatial memory in heterozygous 3xTg-AD mice.

Age-dependent cognitive deficits in spatial learning and memory has been reported in both homozygous SAMP8 and 3xTg-AD mouse models subjected to spatial orientation tasks, including the Morris water maze and the Barnes maze tests, leading to increased escape latencies and a higher number of errors before reaching the target hole (Miyamoto 1997; Sterniczuk, Antle, et al. 2010; Clark et al. 2015; Yanai and Endo 2016; Cheng, Zhou, and Zhang 2014). In our study, using the Barnes maze, all groups of mice displayed progressively decreasing latencies during the 4 days of training, suggesting comparable spatial learning between groups at the age of 19 months. The absence of clear impairment in P8/NonTg and R1/3xTgAD mice during the probe trial compared to R1/NonTg animals is likely explained by a diluted phenotype due to heterozygosity. The lack of change in the average number of errors for P8/NonTg compared to R1/NonTg is harder to interpret. P8/NonTg mice did spend more time in the target quadrant, but seemed to display difficulties to recognize the escape, resulting in a decreased number of pokes into the target hole. Consistently, post-mortem analyses did not highlight differences in tau pathology or any other AD-relevant biomarkers (apoE, GFAP, IDE) when P8/NonTg were compared to R1/NonTg. Thus, the lack of convincing

cognitive changes in P8/NonTg mice raised in our facilities and compared with R1/NonTg should perhaps be expected.

On the other hand, the higher number of errors in finding the target hole observed with P8/3xTg-AD mice confirms spatial memory deficits in this particular group where phenotypes of accelerated senescence and 3xTg-AD are combined. This poorer performance could not be attributed to exaggerated exploratory behavior or anxiety, as measures of general locomotion were similar between groups (data not shown). In a previous study using the Morris water maze, Lok et al. (2013) reported a decrease between days 1 and 2 followed by a slight increase over days 2 to 5 in the escape latencies of homozygous 9-month-old APP/PS1 mice on a SAMP8 background, but they were not significantly different compared to latencies of APP/PS1 mice on a C57BL/6 background. The proportion of time spent in the goal quadrant was also similar between the 2 groups (Lok et al. 2013). Using the same model strategy, Porquet et al. (2015) showed that 9- and 12-month-old APP/PS1 mice on a SAMP8 background mice had similar deficiencies in object recognition compared to SAMP8 and APP/PS1 mice (Porquet et al. 2015). Results of these two studies on memory performance in homozygous mice thus showed no sign of synergistic or additive effect when a high A β load is combined with accelerated senescence, perhaps because a threshold of cognitive failure was already reached in each separate phenotype. Nonetheless, our own results in heterozygous P8/3xTg-AD mice reinforce the hypothesis that senescence-related factors interact with AD-related phenotypes to exert deleterious effects on spatial memory.

3.6.2 Female-specific tau-related neuropathological alterations in heterozygous P8/3xTg-AD mice

Clinicopathological studies show a strong association between cerebral NFTs, which are primarily composed of misfolded and abnormally hyperphosphorylated aggregated tau, and the severity of dementia in human AD subjects (Tremblay et al. 2017; Braak and Braak 1995; Tremblay et al. 2007; Bennett et al. 2004; Nelson et al. 2012). Besides aging factors, sex differences have also been suspected, both higher prevalence and incidence of AD in women have been reported in epidemiological studies (Snyder et al. 2016; Mielke, Vemuri, and Rocca 2014; Kim, Kim, Kim, et al. 2015). It is well established that female transgenic models of AD exhibit more extensive amyloid pathology compared to males, but those sex-related differences are less clear for tau pathology (Hirata-Fukae et al. 2008; Bories et al. 2012). Still, higher accumulation of NFTs in the cortical regions at the autopsy have been reported in AD women, coinciding with more severe clinical symptoms, compared to men (Barnes et al. 2005).

Despite reports of higher tau levels in the brain of the SAMP8 mouse, no evidence of NFTs as found in human tau transgenic models and humans has been documented (Wei, Zhang, and Zhou 1999; Canudas et al. 2005). Previously, in Porquet et al. (2015), APP/PS1 mice backcrossed on a SAMP8 background showed either a decrease (pTyr205 and pSer396) or similar levels (pSer199 and pSer404) of phospho-tau (murine) compared to APP/PS1 controls. Here, crossing SAMP8 and 3xTg-AD strains led to a female-specific rise in tau phosphorylation at Thr231 site (AT180) (murine and human) in the soluble fraction, a post-translational modification reported to occur early in the assembly of tau into filaments (Oh et al. 2010). The effect of gender on tau pathology has not been clearly described in SAMP8 mice (Canudas et al. 2005). In a previous report, Canudas et al. (2005) found increased levels of phospho-tau at some sites, such as Thr231, but also for Thr205, and Ser396/Ser404, in the cortex and hippocampus of 5-month old homozygous SAMP8 mice compared to SAMR1 controls (Canudas et al. 2005). Such differences between studies are likely due to the heterozygosity of our model.

In our study, 3xTg-AD transgenes were more prone to interact with the P8 phenotype to enhance tau phosphorylation, whereas the NonTg background showed no changes. Altogether, these results and ours are consistent with an effect of accelerated senescence on tau phosphorylation, but in a genotype- and sex-specific manner. On the other hand, no differences in total human tau (tau-13) expression were detected for both soluble and insoluble forms in P8/3xTg-AD mice, suggesting that the effect of the SAMP8 background is restricted to the phosphorylation status of the soluble form of tau. In previous reports, insoluble total tau, as well as insoluble phospho-tau, such as pThr231 (AT180), found in detergent-insoluble fractions from AD human parietal cortex, showed the strongest correlates of cognitive impairments proximal to death (Tremblay et al. 2017). In a recent study published by Bodea et al. (2017), human tau transgenic pR5 mouse backcrossed to SAMP8 mouse resulted in an exacerbation of tau phosphorylation particularly in the amygdala and, to a lesser degree, in the hippocampus at the age of 8 and 10 months, along with learning deficits, but no evidence of neuronal loss (Bodea et al. 2017). Knowing that Tau deposits in the amygdalae occur early in AD development, but spread in an age-dependent manner in other cerebral areas, these results (Oh et al. 2010), consistent with ours, suggest that tau pathology requires longer periods of time to be highly expressed, arguing for the use of older mice even on a SAMP8 background (Bodea et al. 2017).

Overall, these findings show that SAMP8-specific factors synergize with AD-related transgenes to accentuate, although in a limited manner, the progression of tau pathology in female mice, thereby underscoring the influence of sex.

3.6.3 Female-specific alterations of A β metabolism in heterozygous P8/3xTg-AD mice.

In most cases of familial forms of AD (less than 5% of AD cases), mutations in presenilin (PS) (Cruts, Hendriks, and Van Broeckhoven 1996; Hutton et al. 1996) or APP genes (Goate et al. 1991) lead to increased A β 42 production. On the other hand, in sporadic AD cases (95% of AD cases), where mutations of APP or PS1 genes are absent, the causes of A β accumulation are less clear. Based on recent observations that show similar physiological changes in the aging brain and AD, it has been proposed that senescence-related factors alter the mechanisms of A β clearance, which could ultimately lead to cognitive impairments and, possibly, AD (Wildsmith et al. 2013; Marques et al. 2013). Thus, we aimed to evaluate the impact of SAMP8 background on A β metabolism in the 3xTg-AD mouse model.

Cortical APP levels were increased in female P8/3xTg-AD compared to SAMR1 controls, possibly leading to the higher levels of soluble human A β 40 and A β 42 observed in the parieto-temporal cortex, whereas insoluble A β remained unchanged. We measured A β load with an ELISA specific to human A β since Congo red or Thioflavin S, both methods used for visualization of amyloid plaques in transgenic mice and human brain tissues (Wilcock, Gordon, and Morgan 2006), gave conflicting results and appeared to be mistaken with IgM contaminants in some studies performed in homozygous SAMP8 model (Takemura et al. 1993; Nomura et al. 1996; Liao et al. 2006; Del Valle et al. 2010; Lok et al. 2013; Manich et al. 2014). As mentioned earlier, APP/PS1 mice modeling amyloid deposition without tangles have previously been backcrossed on a SAMP8 background (Lok et al. 2013; Porquet et al. 2015). In line with our results, Lok et al. (2013) showed with immunohistochemical staining a significant increase of human A β in the cortex and hippocampus of 9-month-old APP/PS1 mice on a SAMP8 background compared to a C57 background (Lok et al. 2013), suggesting that accelerated senescence aggravates human amyloid pathology in APP/PS1 models. In contrast, Porquet et al. (2015) revealed no differences in A β concentrations between 12-month-old APP/PS1 on a SAMP8 background compared to a C57 background, using ELISA. Our own results are consistent with an effect of accelerated

senescence on the development of human A β pathology, but restricted to the soluble form of A β in females. While higher A β concentrations in females, compared to males, have been reported in the 3xTg-AD line (Bories et al. 2012), similar sex differences in SAMP8 mice, crossed or not with APP/PS1 mice, have not been previously documented.

Compelling evidence supports cerebral alterations of ApoE and IDE proteins with aging and AD. ApoE plays a pivotal role as a lipid carrier within the brain, but has been also shown to facilitate the proteolytic degradation of A β , a mechanism becoming less efficient in the presence of lower total ApoE concentrations (Jiang et al. 2008; Salem, Vandal, and Calon 2015). Even though lower ApoE levels have been observed in AD brain (Salem, Vandal, and Calon 2015; Lambert et al. 2005; Riddell et al. 2008), the link between ApoE expression and brain A β load remains unclear since discordant results have been reported. Indeed, some studies reported that increased ApoE levels, regardless of isoform status, would rather be associated with an increased A β deposition in some AD transgenic mice, like the 3xTg-AD and APP/PS1 models (Kim et al. 2011; Gimenez-Llort et al. 2013). In our study, we detected lower ApoE concentrations in the cortex of female P8/3xTg-AD compared to SAMR1 controls, an effect not observed in NonTg groups, suggesting a female- and AD transgenes-specific effect of accelerated senescence. In agreement with our results, Wei et al. (1999) showed reduced ApoE expression (murine) in the cortex of homozygous SAMP8 mouse model compared to SAMR1 controls (Wei, Zhang, and Zhou 1999). Taken together, our results are consistent with a female-specific effect of P8 genotype on ApoE protein expression in our model.

Moreover, we observed a similar female-specific reduction of IDE concentrations in the cortex of female P8/3xTg-AD mice. IDE is a protease that degrades insulin and A β peptides as competitive substrates (Farris et al. 2003). Previous findings suggest that reduced IDE expression or its activity in the brain significantly increases the risk of developing AD (Farris et al. 2003; Farris et al. 2004;

Gutierrez-Hermosillo et al. 2015). Likewise, available evidence shows that IDE may interact with APOE status to affect A β metabolism (Cook et al. 2003; Du et al. 2009), providing some insights into the mechanisms underlying the increase of A β in female P8/3xTg-AD mice. Altogether, our results suggest that 3xTg-AD transgenes provide a synergistic molecular background to the SAMP8 background to aggravate A β pathology, particularly in its soluble form. However, these effects were female-specific, suggesting strong interactions between AD transgenes and sex-related factors.

3.6.4 Female-specific astroglial activation in P8/3xTg-AD mice.

GFAP is a widely used marker of astrocyte activation, which is closely linked to oxidative stress (Akinrinade et al. 2015) and neuroinflammation (Heneka et al. 2015), two phenomena that occur in neurodegenerative diseases such as AD. It is well established that activated astrocytes cluster around plaques (Perez et al. 2010; Thomason et al. 2013; Hadley et al. 2015; Rodriguez-Arellano et al. 2016). However, their exact roles in AD pathogenesis remain unclear. In our study, we found that GFAP level was increased in female P8/3xTg-AD mice, correlating with higher levels of soluble A β 42 in the brain cortex, arguing for a link between human A β and astroglial activation, at least in females with a phenotype of accelerated senescence.

3.6.5 Preservation of neurons in heterozygous P8/3xTg-AD mice.

Neuronal loss is a major feature in the progression of AD, but remains an unachieved goal in AD transgenic mice. It is also difficult in practice to directly assess small changes in neuronal counts, using available neuronal markers. Indeed, lower NeuN immunoreactivity can be explained by a reduction of protein expression level or a loss of antigenicity, which can be associated to neuronal damages or other changes in phenotypes rather than a definitive evidence of cell death (Unal-Cevik et al. 2004; Collombet et al. 2006; Gusel'nikova and Korzhevskiy 2015). We sought to evaluate whether combining 3xTg-AD transgenes and

accelerated senescence would potentiate neuronal damage or cell loss, as assessed with measures of NeuN immunoreactivity in the parieto-temporal cortex and hippocampus. No differences were found between groups, suggesting that neurons are preserved in the P8/3xTg-AD mouse model. In a previous report, Nissl staining showed a decrease in the number of neurons limited to the hippocampus in APP/PS1 mice on a SAMP8 background compared to C57 background, whereas NeuN immunostaining remained unchanged between these two groups (Lok et al. 2013). In the other study using a similar crossing strategy, no evaluation of neuronal count was performed (Porquet et al. 2015). Taken together, these studies indicate that the deleterious effect of SAMP8 background on neuronal integrity in transgenic models of A β /tau neuropathology remains elusive, and of very limited scope at best.

3.6.6 Sex-specific effects of SAMP8 background in 3xTg-AD mouse model

The SAMP8 model has been widely used in aging research as a model exhibiting a phenotype of accelerated aging, including premature cognitive decline. Alterations of the gene expression and protein abnormalities relevant to AD, like tau hyperphosphorylation (Wei, Zhang, and Zhou 1999; Canudas et al. 2005) and altered A β -like metabolism (Wilcock, Gordon, and Morgan 2006; Takemura et al. 1993) have also been reported. However, few AD-relevant studies have investigated sex-specific differences in the SAMP8 model and data available are often conflicting. Originally, compared to males, female homozygous SAMP8 mice display reduced levels of estrogen (Yuan et al. 2005) and abnormal brain glucose homeostasis (Kurokawa et al. 1996), two factors known to interplay in the development of AD neuropathology (Rasgon et coll. 2005; Eberling et coll. 2000). Although our study was not statistically powered to evaluate the effect of sex during behavioral tests, results of postmortem analyses clearly showed a female-specific enhanced progression of AD pathology. Overall, hormonal factors appeared to play an important role in the interaction between 3xTg-AD transgenes and accelerated senescence.

3.6.7. Limitations

A significant number of mice with SAMP8 background died prematurely. The main causes of death included infectious diseases or cancer (tumors). These animals were not included in the post-mortem analyses because it is not possible to perform intracardiac perfusion in case of sudden unexpected deaths. The intracardiac perfusion with PBS was mandatory to remove blood from brain microvessels and allow flushing of endogenous immunoglobulins (Igs) that would contaminate subsequent immunomethods using mouse Igs. Therefore, we do not know if these animals were more impacted in terms of cognition or neuropathology. However, this may have induced a selection of the best-fit mice more prone to survive until the end of the trial, which may or may not be linked to the pathology under study.

3.7. Conclusion

Developing an animal model of AD that recapitulates neuropathology, cognitive deficits and frank neuronal loss remains a challenge. Our present results indicate that SAMP8 background amplifies memory deficit and several AD-related pathological features -particularly soluble amyloid pathology- in female 3xTg-AD mice. However, these effects were limited in scope and not associated with any clear evidence of neurodegeneration. So far the development of plaques and neurofibrillary tangles – which have been the focus of the majority of research efforts – is not sufficient to trigger full-scale AD in the mouse. Identifying these crucial aging factors that drive the disease forward would provide the AD field with novel targets to study and act upon. Overall, the present data suggest that the P8/3xTg-AD mouse is a valuable model combining aging factors and AD neuropathology, but also evidence complex interactions between genetic backgrounds, aging- and sex-related factors. However, given the absence of frank neuronal loss, 20-month-old mice combining the SAMP8 and 3xTg-AD background should still be considered as model of early AD.

3.8. Conflict of interest statement

The research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

3.9. Funding

This work was supported by grants from the Canadian Institutes of Health Research (CIHR) (FC – MOP 102532 and IAO74443), the Alzheimer Society Canada (FC), and the Canada Foundation for Innovation (10307). JV was supported by scholarship from Merck Canada, Laval University “Fonds d’Enseignement et de Recherche”, and CHU de Québec (Desjardins Fondation). CJ was supported by studentships from the Alzheimer Society Canada, the Fonds de la Recherche en Santé du Québec (FRSQ) and Laval University “Fonds d’Enseignement et de Recherche”. The work of FC was supported by a New Investigator Award from the Clinical Research Initiative and the CIHR Institute of Aging (CAN76833).

3.10. Authors contribution

JV wrote the manuscript and performed WB, tissue processing (hippocampus) and statistical analyses. ML performed behavioural tests (Barnes maze test) and tissue processing (cortex). CT performed ELISA (Abeta) assays. ISA helped to ELISA experiments and revised the manuscript. CP and CJ contributed to planning the study behavioural tests (openfield) and tissue processing. AFG helped for WB analyses. VE revised the manuscript. FC secured funding, planned the study, performed data and statistical analysis and wrote the manuscript.

3.11 Supplementay material

Table S1: List of primary antibodies used for Western blots.

Antibody	Clone	Specificity	Host	Source
β-amyloid peptide (6E10)	6,00E+10	Amino acid residue 1-16 of beta amyloid.	Mouse	Biolegend (San Diego, CA, USA)
Actin	Monoclonal	Beta-actine N-terminal peptide-KLH conjuguates	Mouse	Abcam (Cambridge, MA, USA)
ApoE	Monoclonal	Apolipoprotein E	Rabbit	Novus Biologicals (Littleton, CO, USA)
Drebrin	Mx823	C-terminal peptide (aa 632-649)	Mouse	Progen Biotechnik GmbH (Heidelberg, Germany)
GFAP	Polyclonal	Detects gial fibrillary acid protein	Mouse	Pierce Endogen Inc. (Rockford, IL, USA)
IDE	Monoclonal	Insulin-degrading enzyme	Rabbit	Abcam (Cambridge, MA, USA)
LRP-1	Monoclonal	Low density lipoprotein receptor-1	Rabbit	Abcam (Cambridge, MA, USA)
Neprilysin (CD10)	Monoclonal	N-terminal peptide	Rabbit	Abcam (Cambridge, MA, USA)
NeuN	Monoclonal	NeuN	Rabbit	Abcam (Cambridge, MA, USA)
PSD95	Monoclonal	PSD95	Mouse	Neuromab (Davis, CA, USA)
RAGE	Monoclonal	Receptor for advanced glycation endproducts	Rat	R&D systems (Minneapolis, MN, USA)
Synaptophysin	Monoclonal	Synaptophysin	Mouse	EMD Millipore (Billerica, MA, USA)
SNAP25	Monoclonal	Whole synaptic SNAP-25 protein.	Mouse	Covance, inc (Princeton, NJ, USA)
Tau C	Polyclonal	c-terminal Tau (total)	Rabbit	Dako (Burlington, ON, Canada)
Tau 13	Monoclonal	Tau, Maps to amino acid at residues 20-35 on the longest isoform of human tau.	Mouse	Covance, inc (Princeton, NJ, USA)
Tau (phospho)	CP13	Tau, phosphorylated at residue Ser-202	Mouse	Generous gift from Peter Davies
Tau (phospho)	PHF1	Tau, phosphorylated at residues Ser-396 and Ser-404	Mouse	Generous gift from Peter Davies
Tau (phospho)	AT180	Tau, phosphorylated at residue Thr-231	Mouse	Pierce Endogen Inc. (Rockford, IL, USA)
Tau (phospho)	AT 270	Tau, phosphorylated at residue Thr-181	Mouse	Pierce Endogen Inc. (Rockford, IL, USA)

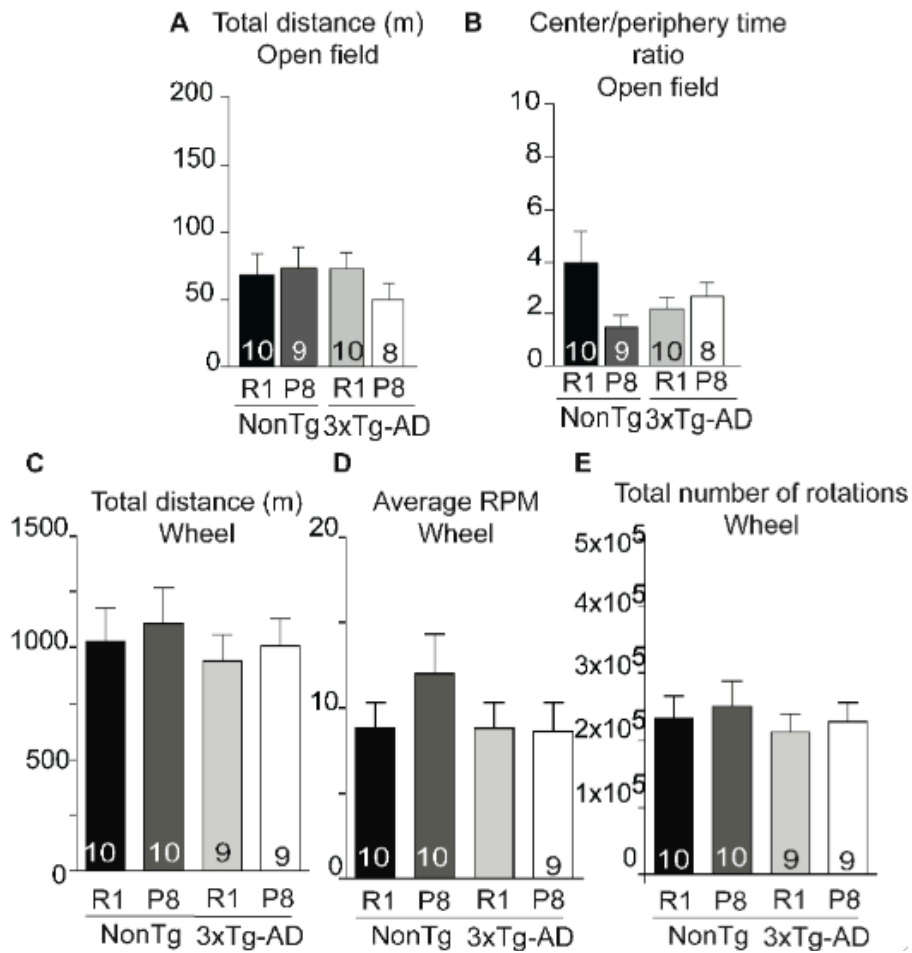


Figure S1: (A-E) General locomotor activity assessment: openfield (A and B) and running wheel tests (C-E). (A) Openfield test: total distance traveled at 19 months of age. No differences between the groups were detected. (B) Openfield test: Ratio of the time spent in the center and peripheral zones was used to assess anxiety-like behavior. Despite interindividual variations were more important in NonTg groups, we detected no significant differences between the four groups. (C-E): Running wheel test: total distance (meters (m)), average RPM and total number of rotation were evaluated. No differences between the groups were detected. Altogether, this set of data confirms that poorer performance in cognitive tests is not due to global locomotor impairments or anxiety. (A-E) Data are presented as

mean \pm SEM. The number of animal per group was not high enough to evaluate sex-related differences. All results were analyzed using a one-way and two-way ANOVA test. No significant differences were detected.

Table S2: Cortical synaptic proteins in 20-month-old mice. Proteins quantification was performed by Western immunoblotting. The values are expressed as mean relative net optical density (O.D.) normalized by β -actin O.D. Data were compared using one-way and two-way ANOVA (n=6-13). No statistical difference was found between P8 and R1 genotypes in 3xTg-AD and NonTg mice.

Genotype	R1/NonTg	P8/NonTg	R1/NonTg	P8/NonTg	Two-way ANOVA	One-way ANOVA
Sex	Males	Males	Females	Females	Sex/ Genotype/ Interaction	
Cortical synaptic protein - relative optical densities (ROD)						
Proteins	Mean \pm SEM. (N)	Mean \pm SEM. (N)	Mean \pm SEM. (N)	Mean \pm SEM. (N)	P-values	P-values
Synaptophysin	1.54 \pm 0.15 (15)	1.62 \pm 0.23 (6)	1.26 \pm 0.23 (10)	1.57 \pm 0.16 (15)	0.4152/ 0.3290/ 0.5729	0.5960
PSD95	1.07 \pm 0.09 (15)	1.10 \pm 0.09 (6)	1.20 \pm 0.08 (9)	0.96 \pm 0.09 (14)	0.9743/ 0.2946/ 0.1838	0.3446
SNAP25	1.54 \pm 0.12 (15)	1.64 \pm 0.18 (6)	1.50 \pm 0.24 (11)	1.35 \pm 0.10 (14)	0.3430/ 0.9037/ 0.4676	0.6896
Genotype	R1/3xTg-AD	P8/3xTg-AD	R1/3xTg-AD	P8/3xTg-AD	Two-way ANOVA	One-way ANOVA
Sex	Males	Males	Females	Females	Sex/ Genotype/ Interaction	
Cortical synaptic protein - relative optical densities (ROD)						
Proteins	Mean \pm SEM. (N)	Mean \pm SEM. (N)	Mean \pm SEM. (N)	Mean \pm SEM. (N)	P-values	P-values
Synaptophysin	1.91 \pm 0.16 (6)	1.69 \pm 0.23 (11)	1.60 \pm 0.26 (11)	1.13 \pm 0.12 (11)	0.0612/ 0.1317/ 0.5710	0.1099
PSD95	1.44 \pm 0.10 (6)	1.22 \pm 0.12 (10)	1.12 \pm 0.11 (11)	1.04 \pm 0.08 (11)	0.0303# / 0.1657/ 0.5231	0.1176
SNAP25	1.65 \pm 0.15 (6)	1.52 \pm 0.13 (11)	1.68 \pm 0.25 (11)	1.28 \pm 0.07 (11)	0.5249/ 0.1430/ 0.4526	0.3225

Chapitre 4 : Discussion et conclusion

4.1 Problématique : rappel

Malgré les avancées scientifiques au cours des dernières décennies, les patients atteints de la MA n'ont toujours pas accès à des traitements pouvant guérir leur maladie. Au cours des dernières années, un nombre important d'échecs thérapeutiques ont été annoncés au cours de la phase 3 des essais cliniques, et ce, malgré les effets prometteurs observés dans les études précliniques (chez l'animal) (Van Dam et De Deyn 2011) . Cette problématique nous amène à remettre en question les modèles animaux utilisés dans ces études précliniques.

À ce jour, aucun modèle animal de la MA ne reproduit la maladie dans sa totalité. La souris triple transgénique 3xTg-AD est le seul modèle qui développe à la fois des plaques amyloïdes et des dégénérescences neurofibrillaires ; celle-ci ne présente toutefois pas de perte massive de neurones comme chez l'humain (Oddo, Caccamo, Kitazawa et coll. 2003 ; Oddo, Caccamo, Shepherd et coll. 2003 ; Oh et coll. 2010 ; Carroll et coll. 2010 ; Vandal et coll. 2015 ; St-Amour et coll. 2014). Il s'agirait davantage d'un modèle du stade précoce de la MA. En dépit des avancées scientifiques au cours des dernières années afin d'identifier des marqueurs de diagnostics précoces de la MA (Blennow et coll. 2015; James, Doraiswamy et Borges-Neto 2015; Sorensen et coll. 2016; Sorensen et coll. 2017), le diagnostic clinique est souvent réalisé à des stades plus avancés de la maladie. Le patient et ses proches tardent souvent avant de consulter un médecin spécialiste. Les symptômes de la MA peuvent être difficile à différencier des symptômes cognitifs normaux liés à l'âge avancé au début de la maladie (Dubois et coll. 2016). L'utilisation de modèles animaux qui reproduisent les différents stades de la maladie (précoce, modéré et sévère) est donc essentielle afin de mieux évaluer l'efficacité des traitements lors des études précliniques.

4.2 Hypothèse et objectifs du projet : rappel

L'objectif du projet était de croiser des souris 3xTg-AD avec des souris SAM, dans l'espoir que l'accentuation du facteur sénescence permettrait d'observer un phénotype plus avancé de la MA avec notamment des pertes cellulaires importantes. Le projet a été conçu pour évaluer l'interaction entre les processus de vieillissement et les mécanismes neuropathologiques de la MA en utilisant un modèle résultat du croisement entre la souris SAMP8 et la souris 3xTg-AD. Selon notre hypothèse, les souris issues du croisement 3xTg-AD/SAMP8 développeraient une pathologie Alzheimer plus avancée que les souris obtenues avec le croisement de la 3xTg AD et SAMR1, le témoin SAM qui présente un phénotype de vieillissement normal.

Pour évaluer notre hypothèse, nous avons comparé:

- 1) les concentrations d'A β 40 et A β 42 dans la fraction soluble et insoluble du cortex des différents groupes de souris;
- 2) la concentration totale et phosphorylée de tau dans la fraction soluble et insoluble du cortex des différents groupes de souris;
- 3) les protéines synaptiques du cortex entre les différents groupes de souris;
- 4) les marqueurs des lésions oxydatives dans l'hippocampe et le cortex dans les différents groupes;
- 5) les différents aspects comportementaux (mémoire spatiale, locomotion, anxiété).

4.3 Résumé des principaux résultats obtenus

L'âge avancé est le facteur de risque le plus important connu favorisant le développement de la MA sporadique. Dans la présente étude, nous avons généré un modèle de souris en procédant à un croisement de la souris 3xTg-AD avec la souris SAMP8 dans le but de potentialiser le développement des pathologies A β et Tau. Notre étude a révélé que le génotype 3xTg-AD/SAMP8 a conduit à : (1) une mémoire spatiale altérée ; (2) la phosphorylation plus élevée d'AT180 (pThr231) chez les femelles ; (3) une augmentation de la production d'APP et des niveaux d'A β chez les femelles, en parallèle avec une diminution des concentrations d'ApoE et d'IDE ; (4) et une augmentation de l'activation astrogliale chez les femelles; (5) cependant, aucune évidence de perte neuronale massive n'a été observée chez les souris à l'âge de 20 mois.

Parallèlement, nous avons caractérisé le phénotype de vieillissement accéléré de la souris SAMP8 homozygote (non croisée) en comparaison avec la souris contrôle SAMR1. L'âge moyen de décès chez nos souris SAMP8 homozygotes se situe environ autour de $11,6 \pm 2,7$ mois (médiane : 12,7 mois), tandis que les souris témoins SAMR1 ont tous été sacrifiées à l'âge de 21,9 mois (pour des raisons de logistique) (données non publiées). Dans la documentation scientifique, l'âge moyen du décès de la souris SAMP8 est d'environ 9 à 10 mois ; les causes de décès documentées sont surtout associées à la présence de cancers (tumeurs) ou aux infections microbiennes (Takeda, Hosokawa et Higuchi 1997; Takeda et coll. 1981). Les conditions d'hébergement pourraient possiblement être un facteur important qui influence l'espérance de vie des animaux, particulièrement lorsque ceux-ci sont vulnérables à la présence de germes opportunistes comme dans le cas des lignées de souris SAMP8 dont le système immunitaire montre certaines défaillances (Takeda, Hosokawa et Higuchi 1997; Takeda et coll. 1981).

Par la suite, au cours du protocole, nous avons également observé que les souris SAMP8 (croisées et non croisées) montraient certains signes physiques de vieillissement prématuré. Par exemple, dès l'âge de 6 à 8 mois, ces souris présentaient des signes d'alopécie (perte de poils) et de sarcopénie (perte de

masse musculaire) (données non publiées). La sarcopénie est un syndrome gériatrique se caractérisant par une perte progressive de la masse musculaire. Ultiment, ce phénomène mène à une diminution de la force musculaire et des performances physiques. Selon nos observations, la masse corporelle moyenne était significativement inférieure chez les souris femelles NonTg/SAMP8 en comparaison avec les souris NonTg/SAMR1 du même sexe ($p < 0,01$; Figure 3.1A ; chapitre 3). La même tendance a été observée chez les souris femelles 3xTg-AD/SAMP8. Toutefois, la différence de leur masse corporelle moyenne avec les souris femelles 3xTg-AD/SAMR1 n'était pas statistiquement significative (Figure 3.1A ; chapitre 3).

4.4 Comparaison des principaux résultats de l'étude avec les données scientifiques publiées

4.4.1 Effet du génotype SAMP8 sur l'apprentissage et la mémoire spatiale

Durant le test du labyrinthe de Barnes, tous les groupes de souris ont montré des temps de latence progressivement décroissants au cours des 4 jours d'entraînement, ce qui semble indiquer que l'apprentissage spatial demeure comparable entre les groupes à l'âge de 19 mois. L'absence d'évidence claire de déficits d'apprentissage chez les groupes de souris NonTg/SAMP8 et 3xTg-AD/SAMR1 pourrait s'expliquer par un phénotype dilué en raison du fond génétique hétérozygote. Par ailleurs, l'absence de changement dans le nombre moyen d'erreurs commises pour le groupe NonTg/SAMP8 comparativement aux souris témoins NonTg/SAMR1 est plus difficile à interpréter. Néanmoins, puisque les analyses *post-mortem* n'ont pas mis en évidence de différences au niveau des marqueurs neuropathologiques liés à tau ou dans d'autres biomarqueurs comme les protéines apoE, GFAP et IDE, l'hypothèse d'une interaction entre les transgènes 3xTg-AD et le génotype SAMP8 peut s'avérer plausible.

Dans l'étude de Lok et coll. (2013), les résultats du test de la piscine de Morris, un test similaire au Barnes, montrent une diminution du temps de latence entre les jours 1 et 2, suivie d'une légère augmentation entre les jours 2 à 5 chez les souris

APP/PS1 croisées au modèle SAMP8. Toutefois, les temps de latence n'étaient pas significativement différents par rapport aux souris témoins APP/PS1x C57BL/6. De plus, le pourcentage du temps passé dans le quadrant cible était similaire entre les deux groupes (Lok et coll. 2013).

En utilisant une stratégie de croisement similaire à celle de l'étude de Lok et coll. (2013), Porquet et coll. (2015) ont montré que des souris APP/PS1 de 9 et 12 mois croisées au modèle SAMP8 présentaient des déficiences similaires en matière de reconnaissance d'objet par rapport aux souris SAMP8 et APP/PS1 (Porquet et coll. 2015). Les résultats de ces deux études sur les performances de la mémoire chez les souris homozygotes ne montrent aucun effet synergique ou additif entre le génotype SAMP8 et les transgènes APP/PS1. En contre partie, nos propres résultats chez les souris hétérozygotes 3xTg-AD/SAMP8 renforcent l'hypothèse que les facteurs liés à la sénescence interagissent avec les phénotypes liés à la MA pour exercer des effets délétères sur la mémoire spatiale. Il n'a pas été possible d'évaluer l'effet du sexe (mâles versus femelles) sur la performance cognitive ; il s'agit d'une limitation importante de l'étude.

4.4.2 Effet du génotype SAMP8 sur la progression de la pathologie tau chez la souris 3xTg-AD hétérozyote

Bien que certaines études aient montré une augmentation de la phosphorylation de la protéine tau dans le cerveau de la souris SAMP8 homozygote, aucune évidence de la présence ou de l'absence de dégénérescences neurofibrillaires n'a été démontrée jusqu'à présent (Wei, Zhang et Zhou 1999; Canudas et coll. 2005). Au cours des dernières années, trois études utilisant des modèles croisés entre la souris SAMP8 et la souris APP/PS1 ou la souris pR5, un modèle simple transgénique de la protéine tau humaine, ont été publiées (Porquet et coll. 2015; Lok et coll. 2013; Bodea et coll. 2017). Dans l'étude de Porquet et coll. (2015), le rétrocroisement de la souris APP/PS1 avec le modèle SAMP8 s'est traduit par une diminution (pTyr205 et pSer396) ou le maintien (pSer199 et pSer404) de la phosphorylation de certains épitopes de la protéine tau en comparaison avec les

souris témoins APP/PS1 homozygotes. Le croisement des lignées SAMP8 et 3xTg-AD a conduit à une augmentation spécifique de la phosphorylation de la protéine tau chez les femelles au site Thr231 (AT180) (murin et humain) dans la fraction soluble, une modification post-traductionnelle se produisant tôt dans le processus d'assemblage de filaments de la protéine tau (Oh et coll. 2010). L'effet du sexe sur la progression de la pathologie tau n'a jamais été caractérisé chez les souris SAMP8 jusqu'à présent (Canudas et coll. 2005). Dans une étude antérieure, Canudas et coll. (2005) ont observé une augmentation de la phosphorylation de la protéine tau à certains sites, comme Thr231, mais également Thr205, Ser396 et Ser404, au niveau du cortex et l'hippocampe de la souris SAMP8 homozygotes âgée de 5 mois par rapport aux témoins SAMR1 (Canudas et coll. 2005). Les différences observées d'une étude à l'autre s'expliquent sans doute par le fond génétique hétérozygote de notre modèle. Dans notre étude, seules les souris femelles porteuses des transgènes 3xTg-AD montraient une augmentation de la phosphorylation de la protéine tau, alors que les NonTg/SAMP8 ne présentait aucun changement par rapport aux témoins SAMR1. Nos résultats démontrent une interaction complexe entre le sexe et le génotype dans la progression de la pathologie tau.

4.4.3 Effet du génotype SAMP8 sur la progression de la pathologie amyloïdes chez la souris 3xTg-AD hétérozyote

Le croisement entre la souris 3xTg-AD et la souris SAMP8 a entraîné une augmentation de la protéine APP (forme humaine) dans le cortex des souris femelles 3xTg-AD/SAMP8, comparativement aux souris contrôles SAMR1 du même sexe. Parallèlement, la hausse d'APP a conduit à une élévation des concentrations corticales en A β 40 et A β 42 soluble (formes humaines) chez les souris femelles 3xTg-AD/SAMP8 comparativement aux souris témoins femelles SAMR1, tandis que les niveaux des formes insolubles sont demeurés inchangés. La majorité des études chez les souris SAM utilise la technique de coloration rouge congo ou la thioflavine S pour visualiser la présence de plaques amyloïdes (Wilcock, Gordon et Morgan 2006). Toutefois, ces techniques sont souvent imprécises et la présence de contaminants d'IgM peut être confondue avec la présence de plaques

amyloïdes qui se présentent plutôt sous forme de granules chez le modèle SAMP8 homozygote (Lok et coll. 2013; Manich et coll. 2014; Liao et coll. 2006; Del Valle et coll. 2010; Nomura et coll. 1996; Takemura et coll. 1993). Deux autres études publiées entre 2013 et 2015 ont évalué l'effet du croisement entre le modèle de souris SAMP8 et un modèle transgénique de la MA, la souris APP/PS1 (Porquet et coll. 2015; Lok et coll. 2013). Dans l'étude Lok et coll. (2013), l'utilisation de techniques de colorations immunohistochimiques ont permis de mettre en évidence une augmentation de l'accumulation d'A β dans le parenchyme cérébral, plus précisément dans le cortex et l'hippocampe, des souris APP/PS1xSAMP8 âgées de 9 mois en comparaison aux souris contrôles APP/PS1 (Lok et coll. 2013). En contre partie, aucun dosage par ELISA – une technique qui permet d'effectuer des mesures précises - n'a été réalisé afin de quantifier ces différences (Lok et coll. 2013). En revanche, dans l'étude Porquet et coll. (2015), les dosages par ELISA n'ont montré aucune différence significative dans les concentrations d'A β (formes murin et humaine) entre les souris APP/PS1x SAMP8 âgées 12 mois et les souris contrôles C57 (non transgéniques). Les variations méthodologiques pourraient sans doute expliquer en partie les grandes différences entre les trois études.

4.4.4 Effet du génotype SAMP8 sur apoE et IDE

Le mécanisme précis par lequel le peptide A β s'accumule dans le cerveau des individus atteints de la forme sporadique de la MA est mal établi. Contrairement à la forme héréditaire de la MA, les patients ne portent habituellement pas de mutations sur les gènes APP et PS1 lesquels sont associés à une hausse de la production de la protéine APP et de son peptide A β (Bekris et coll. 2010); (Zekanowski et coll. 2003; Lanoiselee et coll. 2017). Des études *in vivo* et *in vitro* ont permis de formuler l'hypothèse selon laquelle un dysfonctionnement des mécanismes d'élimination d'A β provoquerait une accumulation excessive du peptide dans le parenchyme cérébral (Jiang et coll. 2008; Lee et coll. 2012; Li et coll. 2012; Wildsmith et coll. 2013). Les études publiées démontrent une très

grande hétérogénéité des causes potentielles menant à excès de dépôts d'amyloïdes.

Depuis quelques années, l'apolipoprotéine ApoE a suscité un grand intérêt chez les chercheurs dont les travaux portent sur la MA. Cet engouement s'explique par le fait que 48,7 à 61,3% des individus atteints de la MA seraient porteurs d'au moins un allèle du génotype APOE4 (Ward et coll. 2012) contre 13,7% des individus de la population générale (Bird 2008)

ApoE joue un rôle pivot dans le transport des lipides tant au niveau des organes périphériques comme le foie, mais également dans le cerveau (Jiang et coll. 2008 ; Salem et coll. 2015). Une étude *in vitro* réalisée par Jiang et coll. (2008), apoE interviendrait dans le processus de dégradation protéolytique intracellulaire d'A β . Cette même étude a également montré que ce mécanisme devenait moins efficace lorsque les concentrations totales en apoE étaient plus faibles, et ce, de façon indépendante au génotype apoE (apoE2, apoE3 ou apoE4) (Jiang et coll. 2008).

Dans notre étude, nous avons observé une réduction des concentrations totales en apoE dans le cortex des souris femelles 3xTg-AD/SAMP8, comparativement aux souris témoins 3xTg-AD/SAMR1 du même sexe. Bien que notre étude ne permette pas d'établir un lien direct de cause à effet, nos résultats coïncident avec la hausse des concentrations des peptides A β 40 et A β 42 solubles (humains). En parallèle, aucun changement n'a été observé chez les groupes NonTg lesquels n'expriment pas les protéines humaines APP ou A β . Par la suite, on s'est intéressé à IDE qui est une protéase qui dégraderait l'insuline et le peptide A β par compétition de substrats dans le milieu extracellulaire (Farris et coll. 2003). Des études antérieures ont montré qu'une diminution de l'expression d'IDE ou de son activité dans le cerveau augmentait significativement le risque de développer des troubles cognitifs et potentiellement la MA au cours de la vie (Farris et coll. 2003 ; Gutierrez-Hermosillo et coll. 2015). Selon les résultats de nos analyses par immunobuvardage, la baisse d'apoE concordait également avec une diminution de

l'expression protéique en IDE chez les souris femelles 3xTg-AD/SAMP8. Selon certaines études, le génotype APOE pourrait affecter l'activité d'IDE de sorte que le métabolisme de d'A β serait altéré (Cook et coll. 2003 ; Du et coll. 2009), un mécanisme plausible qui expliquerait en partie nos observations.

4.4.5 Effet du génotype SAMP8 sur l'activité des astrocytes

La protéine GFAP est un filament intermédiaire présent dans certaines cellules gliales du système nerveux central, principalement les astrocytes. GFAP est un marqueur largement utilisé dans les études de neurosciences pour mesurer l'activation des astrocytes, un phénomène qui est souvent associé au stress oxydatif (Akinrinade et coll. 2015) et à la neuroinflammation (Heneka et coll. 2015) dans les maladies neurodégénératives comme la MA et la maladie de Parkinson (Kamphuis et coll. 2014; Thomason et coll. 2013; Colangelo et coll. 2014 ; Maragakis et Rothstein 2006). Des analyses par immunofluorescence et par immunobuvardage ont mis en évidence une hyperactivation des astrocytes se manifestant par une augmentation de l'immunoréactivité de GFAP autour des plaques amyloïdes (Kamphuis et coll. 2014; Thomason et coll. 2013; Colangelo et coll. 2014; Perez et coll., 2010, Thomason et coll. 2013, Hadley et coll. 2015, Rodriguez-Arellano et coll. 2016). Cependant, le rôle exact des astrocytes et de GFAP dans la pathogenèse de la MA reste mal connu (Rodriguez-Arellano et coll. 2016; Mosher et Wyss-Coray 2014). Dans notre étude, les analyses par immunobuvardage ont montré une hausse de GFAP spécifique aux souris femelles 3xTg-AD/SAMP8, comparativement aux souris témoins 3xTg-AD/SAMR1 du même sexe. Fait intéressant, les niveaux de GFAP corrôlaient positivement avec les concentrations du peptide A β 42 soluble, mais pas A β 42 insoluble (plaques) dans le cortex pariéto-temporal des souris femelles 3xTg-AD/SAMP8. D'après nos résultats, l'expression de GFAP semble davantage corrôler avec les concentrations en A β 42 soluble plutôt que la formation des plaques amyloïdes telle que mesurée par les concentrations du peptide A β 42 insoluble. Dans l'ensemble, nos résultats semblent appuyer davantage l'hypothèse qui focalise sur la toxicité

des formes oligomériques solubles du peptide A β 42 plutôt que celle associée à présence de plaques séniles constituées d'agrégats d'A β 42 insolubles.

4.4.6 Effet du génotype SAMP8 sur l'intégrité des neurones

Le cerveau d'un individu atteint de la MA peut perdre jusqu'à près de 8 à 10 % de sa masse tous les dix ans, contre 2 % chez un sujet sain du même âge en raison de la perte importante de neurones et de synapses dans les régions du cortex cérébral et subcorticales (Dubois et coll. 2014). Cependant, jusqu'à présent, aucun modèle animal, incluant la souris 3xTg-AD, ne reproduit ce phénomène de manière fidèle. Dans notre étude, nous avons évalué si la combinaison des transgènes de la souris 3xTg-AD et au fond génétique de la souris SAMP8 permettrait de générer un nouveau modèle qui présenterait des dommages cellulaires significatifs. Tel que mentionné précédemment dans le chapitre 3, les analyses par immunobuvardage de type Western n'ont révélé aucune différence d'immunoréactivité de la protéine NeuN dans les régions du cortex pariéto-temporal et l'hippocampe des souris 3xTg-AD/SAMP8 mâles et femelles. Par ailleurs, aucune différence n'a été observée dans l'expression protéique des principales protéines synaptiques (données présentées dans la section *supplementary material* du chapitre 3, section 3.11, tableau S2) et pro-apoptiques comme la protéine Bax (*Bcl-2-associated X*) (données non présentées dans le mémoire). Dans l'ensemble, les données n'ont montré aucune évidence claire de perte cellulaire. Dans l'étude Lok et coll. (2013), l'introduction par rétrocroisement des transgènes APP/PS1 chez le modèle SAMP8 a entraîné une baisse modeste du nombre de corps de Nissl dans les neurones situés dans la région de l'hippocampe comparativement aux souris témoins non transgéniques C57, tandis qu'aucune différence avec les souris SAMP8 ou APP/PS1 homozygotes n'a été détectée. En contre partie, les marquages par immunofluorescence n'ont révélé aucune différence d'immunoréactivité de la protéine NeuN entre ces deux mêmes groupes (Lok et coll. 2013). En somme, la sélection de la souche SAMP8 ne semble pas être un choix optimal pour développer un modèle animal qui présenterait une perte neuronale progressive et significative sur une période de 20

mois. Certes, aucun décompte stéréotaxique, la méthode généralement privilégiée pour quantifier la perte de neurones, n'a été effectué pour valider les résultats obtenus par immunobuvardage. Toutefois, pour des raisons techniques et, surtout, en raison de l'absence de différences entre les groupes selon les analyses par immunobuvardage – une technique qui permet d'évaluer l'expression relative d'une protéine –, le décompte par stéréotaxie n'a pas été effectué. D'une part, s'il y avait eu une perte massive de neurones dans le cortex pariéto-temporal, les niveaux de NeuN devraient être abaissés. De plus, effectuer le dénombrement des corps cellulaires dans une zone aussi vaste que le cortex pariéto-temporal est un véritable défi technique et représente un investissement de temps très important. La plupart du temps, les décomptes neuronaux effectués et publiés par les auteurs se concentrent sur des régions circonscrites comme l'hippocampe (Lok et coll. 2013).

4.4.7 Influence du sexe sur les effets du génotype SAMP8 sur le développement de la neuropathologie Alzheimer.

Le modèle de souris SAMP a été largement étudié dans les études portant sur le vieillissement en raison de son phénotype de vieillissement prématuré. Des anomalies de l'expression génique et des déficits enzymatiques, comme l'hyperphosphorylation de la protéine tau (Wei et coll. 1999 ; Canudas et coll. 2005) et le métabolisme altéré du peptide A β (Wilcock et coll. 2006) ont été observés chez le modèle de souris SAMP8. Cependant, peu d'études se sont intéressées aux différences liées au sexe chez le modèle SAMP8 et les données disponibles sont souvent contradictoires. Certaines études ont montré que les souris SAMP8 femelles homozygotes avaient des concentrations plasmatiques abaissées en œstrogènes (Yuan et coll. 2005) et un métabolisme du glucose cérébral anormal (Kurokawa et coll. 1996). Bien que notre étude n'ait pas été conçue pour évaluer l'effet du sexe sur les résultats des tests comportementaux, les analyses *post-mortem* ont clairement montré une progression, quoique modeste, de la neuropathologie Alzheimer chez les souris 3xTg-AD/SAMP8 femelles. Dans

l'ensemble, les facteurs hormonaux semblent jouer un rôle important dans l'interaction entre les transgènes 3xTg-AD et le fond génétique du modèle SAMP8.

4.4.8 Choix de la méthode de croisement des souris et les répercussions potentielles

Dans les études de Lok et Porquet, les transgènes APP/PS1 ont été introduits dans le fonds SAMP8 (homozygotes) par rétrocroisement sur la souche parentale étalé sur 5 générations (Lok et coll. 2013; Porquet et coll. 2015). Ainsi, ils comparaient donc la présence ou l'absence des transgènes APP/PS1 (hétérozygotes) sur le phénotype SAMP8. Ces études ne comprenaient pas de témoins SAMR1 et ne mesuraient donc pas l'effet du phénotype de sénescence accélérée du modèle SAMP8 sur le développement de la pathologie Alzheimer. Dans notre étude, nous avons plutôt accouplé des souris femelles 3xTg-AD homozygotes avec des souris mâles SAMP8 homozygotes de sorte à garantir l'uniformité du bagage génétique de la progéniture. Les expériences ont été effectuées à partir de la première génération de bébés souris. Notre choix est justifié par le fait qu'il est impossible de confirmer la présence du génotype de la souris SAMP8 par un simple génotypage. En effet, jusqu'à présent, le génome du modèle de souris SAMP8 n'est pas bien caractérisé dans la documentation scientifique. Il est impossible de déterminer si son phénotype de vieillissement "accéléré" est causé par une perte ou un gain de fonction d'un gène particulier, ce qui rend le génotypage impossible à réaliser. Nous avons également inclus des témoins non transgéniques ou SAMR1 à chaque étape, pour pouvoir évaluer l'impact de la sénescence accéléré SAMP8 tant sur les pathologies tau qu'amyloïde. Par ailleurs, l'autre avantage de notre méthode de croisement était de minimiser les effets des dérives génétiques entre les lignées SAMP8 et SAMR1. Toutefois, cela a conduit à une dilution des phénotypes tant 3xTg-AD que SAMP8. Le génotype des souris 3xTg-AD a été validé par PCR et à l'aide d'anticorps ciblant les protéines APP et Tau13 (tau total) humaines afin de confirmer que ces protéines soient exprimées. Enfin, la puissance statistique de

notre étude était supérieure à celle des études de Lok et coll. (2013) et Porquet et coll (2015) dont le nombre d'animaux par groupe était inférieur à 6 souris.

4.5 Interprétation des résultats et hypothèses

Les résultats obtenus suggèrent que le bagage génétique du modèle SAMP8 a eu peu d'impact sur la progression de la pathologie de la MA chez les souris 3xTg-AD, particulièrement en ce qui concerne la pathologie tau, un marqueur qui corrèle bien avec le degré de sévérité des symptômes cognitifs chez l'humain (Tremblay et coll. 2007 ; Tremblay et coll. 2017 ; Nelson et coll. 2012). Une hypothèse possible pourrait être que le fond hétérozygote 3xTg-AD du modèle a retardé significativement le développement de la pathologie tau, bien que nous pensions que le génotype SAMP8 compenserait. En effet, chez la souris 3xTg-AD homozygote, le développement des plaques neuritiques précède l'apparition des dégénérescences neurofibrillaire (Oddo, Caccamo, Kitazawa et coll. 2003), ce qui semble indiquer que notre modèle ressemble davantage à un modèle de MA précoce. Enfin, en considérant l'ensemble de nos résultats et des données disponibles dans la documentation scientifique, la souris SAMP8 n'est peut-être pas le meilleur choix de modèle pour élaborer des modèles animaux transgéniques hybrides (i.e issus du croisement de deux modèles transgéniques) pour étudier la MA.

4.6 Limitations de l'étude

La principale limitation du projet est le nombre insuffisant de souris **utilisées** pour réaliser le test du labyrinthe de Barnes, ce qui a fait en sorte que l'effet du sexe n'a pas pu être évalué. Le test de Barnes est un test difficile à réaliser puisque celui-ci requiert une bonne motivation des animaux. Pour encourager les animaux à participer au test (donc à situer la sortie du labyrinthe), des stimuli sonore et **visuel** d'intensité modérés sont utilisés. Le principal inconvénient de ces stimuli est que les animaux plus sensibles à l'anxiété tendent à s'immobiliser et à figer (réaction de *freezing*). D'autres tests similaires au labyrinthe de Barnes sont utilisés dans les études de comportement animal comme par exemple celui de la piscine de Morris. Ce test vise également à évaluer l'apprentissage et la mémoire spatiale. Par contre, le test se déroule dans une piscine et génère davantage d'anxiété que le test de Barnes. Un tel test est plus difficile à réaliser chez la souris 3xTg-AD, qui présente des signes acrus d'anxiété et des déficits de motivation. D'autres tests comme la reconnaissance d'objet sont parfois utilisés pour évaluer d'autres paramètres comme la mémoire de reconnaissance. En raison de l'âge avancé des animaux et pour des raisons de logistique, ce test n'a pas été réalisé dans la présente étude. En parallèle, des tests de locomotion comme celui du champ ouvert (*open field*) ou de la roue (*wheel*) ont été réalisés.

Ensuite, la souris SAMP8 est un modèle complexe dont les caractéristiques phénotypiques ne sont pas toujours reproductibles d'une étude à l'autre. La méthode de maintien des animaux en animalerie et la stérilité de l'environnement sont des facteurs qui peuvent influencer l'espérance de vie du modèle. De plus, comme l'existence du modèle SAMP8 fût une découverte fortuite issue d'une dérive génétique du modèle ARK de la compagnie Jackson, il est fort probable que des variations phénotypiques puissent être observées entre les différentes générations de souris. Parallèlement, les souris SAMR1 présentent également certaines limites à titre de souris témoins. Malgré un phénotype de vieillissement

qui semble normal, le profil d'expression des gènes chez le modèle SAMR1 n'est pas bien caractérisé. Par conséquent, il est difficile de savoir si ce modèle est un témoin adéquat sur le plan génétique. Dans notre étude, la sélection des lignées SAMR1 et SAMP8 a été déterminée selon les caractéristiques phénotypiques décrites dans la documentation scientifique.

Enfin, pour des raisons techniques, nous n'avons pas effectué de décompte de neurones par stéréotaxie, ce qui est une limite importante. Toutefois, tel qu'expliqué dans la section 4.4.6 de la discussion, l'absence de différence dans les niveaux de la protéine NeuN en immunobuvardage – une technique permettant d'effectuer une mesure semi-quantitative de l'expression protéique - laissent croire que notre modèle ne présenterait pas de perte de neurones massive et extensive dans les différentes régions du cortex pariéto-temporal, incluant le cortex entorhinal. Au mieux, le décompte de NeuN aurait permis d'identifier et objectiver une baisse modeste de l'immunoréactivité de NeuN dans des régions précises.

4.7 Perspectives et conclusion

Une meilleure compréhension des gènes impliqués dans le phénotype de vieillissement accéléré et du déclin cognitif chez les souris SAM permettrait de mieux cibler les gènes susceptibles d'être utile dans l'élaboration de modèles animaux de la forme sporadique de la MA. Bien que nous n'ayons pas obtenu les résultats escomptés, nos résultats mettent en évidence le fait que les facteurs génétiques liés au vieillissement seul ne sont pas suffisants pour induire une pathologie sévère dans notre modèle. Enfin, il serait intéressant et pertinent de décortiquer en détail le génome des différentes lignées des souris SAM dans l'objectif d'identifier les gènes les plus susceptibles d'être à l'origine de leur phénotype. Développer un nouveau modèle animal est un processus fastidieux, et ce, particulièrement lorsque la pathologie à l'étude est complexe et n'est pas entièrement comprise. Dans le meilleur des cas, il est possible de créer un modèle dont le phénotype ressemble à la pathologie humaine, sans toutefois être parfaitement identique. La stratégie de croiser deux modèles de souris est

intéressante, bien que les résultats observés reflètent rarement les attentes initiales. Le choix de la méthode de croisement peut avoir un impact considérable sur le phénotype de l'animal.

Dans le futur, il serait possiblement intéressant de tester l'effet du croisement entre la souris 3xTg-AD et un modèle qui présenterait des mutations de SORL1 *ou* autres gènes qui accentue l'accumulation de la pathologie amyloïde (*LRP-1*, *RAGE*, Neprilysine) ou tau.

Chapitre 5 : Références

1. Akinrinade, I. D., A. E. Memudu, O. M. Ogundele, and O. I. Ajetunmobi. 2015. 'Interplay of glia activation and oxidative stress formation in fluoride and aluminium exposure', *Pathophysiology*, 22: 39-48.
2. Alexander, A. G., V. Marfil, and C. Li. 2014. 'Use of *Caenorhabditis elegans* as a model to study Alzheimer's disease and other neurodegenerative diseases', *Front Genet*, 5: 279.
3. Alonso, A. C., T. Zaidi, I. Grundke-Iqbal, and K. Iqbal. 1994. 'Role of abnormally phosphorylated tau in the breakdown of microtubules in Alzheimer disease', *Proc Natl Acad Sci U S A*, 91: 5562-6.
4. Aluise, C. D., R. A. Robinson, J. Cai, W. M. Pierce, W. R. Markesbery, and D. A. Butterfield. 2011. 'Redox proteomics analysis of brains from subjects with amnesic mild cognitive impairment compared to brains from subjects with preclinical Alzheimer's disease: insights into memory loss in MCI', *J Alzheimers Dis*, 23: 257-69.
5. Alzheimer's Association. 2015. '2015 Alzheimer's disease facts and figures', *Alzheimers Dement*, 11: 332-84.
6. American Psychiatric Association. 2013. *DSM-5 Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*: 947 pages.
7. Amtul, Z., L. Wang, D. Westaway, and R. F. Rozmahel. 2010. 'Neuroprotective mechanism conferred by 17beta-estradiol on the biochemical basis of Alzheimer's disease', *Neuroscience*, 169: 781-6.
8. Andorfer, C., Y. Kress, M. Espinoza, R. de Silva, K. L. Tucker, Y. A. Barde, K. Duff, and P. Davies. 2003. 'Hyperphosphorylation and aggregation of tau in mice expressing normal human tau isoforms', *J Neurochem*, 86: 582-90.
9. Andreadis, A., W. M. Brown, and K. S. Kosik. 1992. 'Structure and novel exons of the human tau gene', *Biochemistry*, 31: 10626-33.
10. Andrieu, S., S. Guyonnet, N. Coley, C. Cantet, M. Bonnefoy, S. Bordes, L. Bories, M. N. Cufi, T. Dantoine, J. F. Dartigues, F. Desclaux, A. Gabelle, Y. Gasnier, A. Pesce, K. Sudres, J. Touchon, P. Robert, O. Rouaud, P. Legrand, P. Payoux, J. P. Caubere, M. Weiner, I. Carrie, P. J. Ousset, B. Vellas, and Mapt Study Group. 2017. 'Effect of long-term omega 3 polyunsaturated fatty acid supplementation with or without multidomain intervention on cognitive function in elderly adults with memory complaints (MAPT): a randomised, placebo-controlled trial', *Lancet Neurol*, 16: 377-89.
11. Arendt, T., V. Bigl, A. Arendt, and A. Tennstedt. 1983. 'Loss of neurons in the nucleus basalis of Meynert in Alzheimer's disease, paralysis agitans and Korsakoff's Disease', *Acta Neuropathol*, 61: 101-8.
12. Arendt, T., M. K. Bruckner, M. Morawski, C. Jager, and H. J. Gertz. 2015. 'Early neurone loss in Alzheimer's disease: cortical or subcortical?', *Acta Neuropathol Commun*, 3: 10.
13. Arsenault, D., C. Julien, C. Tremblay, and F. Calon. 2011. 'DHA improves cognition and prevents dysfunction of entorhinal cortex neurons in 3xTg-AD mice', *PLoS One*, 6: e17397.

14. Arvanitakis, Z., R. S. Wilson, J. L. Bienias, D. A. Evans, and D. A. Bennett. 2004. 'Diabetes mellitus and risk of Alzheimer disease and decline in cognitive function', *Arch Neurol*, 61: 661-6.
15. American diabetes association. 2017. 'Cardiovascular Disease and Risk Management', *Diabetes Care*, 40(Supplement 1): S75-S87.
16. Ataka, S., T. Tomiyama, H. Takuma, T. Yamashita, H. Shimada, T. Tsutada, K. Kawabata, H. Mori, and T. Miki. 2004. 'A novel presenilin-1 mutation (Leu85Pro) in early-onset Alzheimer disease with spastic paraparesis', *Arch Neurol*, 61: 1773-6.
17. Baker, L. D., D. J. Cross, S. Minoshima, D. Belongia, G. S. Watson, and S. Craft. 2011. 'Insulin resistance and Alzheimer-like reductions in regional cerebral glucose metabolism for cognitively normal adults with prediabetes or early type 2 diabetes', *Arch Neurol*, 68: 51-7.
18. Bakkour, A., J. C. Morris, D. A. Wolk, and B. C. Dickerson. 2013. 'The effects of aging and Alzheimer's disease on cerebral cortical anatomy: specificity and differential relationships with cognition', *Neuroimage*, 76: 332-44.
19. Balducci, C., and G. Forloni. 2011. 'APP transgenic mice: their use and limitations', *Neuromolecular Med*, 13: 117-37.
20. Barnes, C. A. 1979. 'Memory deficits associated with senescence: a neurophysiological and behavioral study in the rat', *J Comp Physiol Psychol*, 93: 74-104.
21. Barnes, L. L., R. S. Wilson, J. L. Bienias, J. A. Schneider, D. A. Evans, and D. A. Bennett. 2005. 'Sex differences in the clinical manifestations of Alzheimer disease pathology', *Arch Gen Psychiatry*, 62: 685-91.
22. Basak, J. M., P. B. Verghese, H. Yoon, J. Kim, and D. M. Holtzman. 2012. 'Low-density lipoprotein receptor represents an apolipoprotein E-independent pathway of Abeta uptake and degradation by astrocytes', *J Biol Chem*, 287: 13959-71.
23. Bekris, L. M., C. E. Yu, T. D. Bird, and D. W. Tsuang. 2010. 'Genetics of Alzheimer disease', *J Geriatr Psychiatry Neurol*, 23: 213-27.
24. Belarbi, K., K. Schindowski, S. Burnouf, R. Caillierez, M. E. Grosjean, D. Demeyer, M. Hamdane, N. Sergeant, D. Blum, and L. Buee. 2009. 'Early Tau pathology involving the septo-hippocampal pathway in a Tau transgenic model: relevance to Alzheimer's disease', *Curr Alzheimer Res*, 6: 152-7.
25. Bennett, D. A., J. A. Schneider, R. S. Wilson, J. L. Bienias, and S. E. Arnold. 2004. 'Neurofibrillary tangles mediate the association of amyloid load with clinical Alzheimer disease and level of cognitive function', *Arch Neurol*, 61: 378-84.
26. Berchtold, N. C., P. D. Coleman, D. H. Cribbs, J. Rogers, D. L. Gillen, and C. W. Cotman. 2013. 'Synaptic genes are extensively downregulated across multiple brain regions in normal human aging and Alzheimer's disease', *Neurobiol Aging*, 34: 1653-61.
27. Bereczki, E., P. T. Francis, D. Howlett, J. B. Pereira, K. Hoglund, A. Bogstedt, A. Cedazo-Minguez, J. H. Baek, T. Hortobagyi, J. Attems, C. Ballard, and D. Aarsland. 2016. 'Synaptic proteins predict cognitive decline in Alzheimer's disease and Lewy body dementia', *Alzheimers Dement*, 12: 1149-58.

28. Biessels, G. J., and L. P. Reagan. 2015. 'Hippocampal insulin resistance and cognitive dysfunction', *Nat Rev Neurosci*, 16: 660-71.
29. Billings, L. M., S. Oddo, K. N. Green, J. L. McGaugh, and F. M. LaFerla. 2005. 'Intraneuronal Abeta causes the onset of early Alzheimer's disease-related cognitive deficits in transgenic mice', *Neuron*, 45: 675-88.
30. Bird, T. D. 2008. 'Genetic aspects of Alzheimer disease', *Genet Med*, 10: 231-9.
31. Blennow, K., B. Dubois, A. M. Fagan, P. Lewczuk, M. J. de Leon, and H. Hampel. 2015. 'Clinical utility of cerebrospinal fluid biomarkers in the diagnosis of early Alzheimer's disease', *Alzheimers Dement*, 11: 58-69.
32. Bodea, L. G., H. T. Evans, A. Van der Jeugd, L. M. Ittner, F. Delerue, J. Kril, G. Halliday, J. Hodges, M. C. Kiernan, and J. Gotz. 2017. 'Accelerated aging exacerbates a pre-existing pathology in a tau transgenic mouse model', *Aging Cell*, 16: 377-86.
33. Bories, C., M. J. Guillon, C. Julien, C. Tremblay, M. Vandal, M. Msaid, Y. De Koninck, and F. Calon. 2012. 'Sex-dependent alterations in social behaviour and cortical synaptic activity coincide at different ages in a model of Alzheimer's disease', *PLoS One*, 7: e46111.
34. Bosson, A., A. Paumier, S. Boisseau, M. Jacquier-Sarlin, A. Buisson, and M. Albrieux. 2017. 'TRPA1 channels promote astrocytic Ca²⁺ hyperactivity and synaptic dysfunction mediated by oligomeric forms of amyloid-beta peptide', *Mol Neurodegener*, 12: 53.
35. Boyd-Kimball, D., R. Sultana, H. Mohmmad-Abdul, and D. A. Butterfield. 2004. 'Rodent Abeta(1-42) exhibits oxidative stress properties similar to those of human Abeta(1-42): Implications for proposed mechanisms of toxicity', *J Alzheimers Dis*, 6: 515-25.
36. Braak, H., and E. Braak. 1991. 'Neuropathological staging of Alzheimer-related changes', *Acta Neuropathol*, 82: 239-59.
37. Braak, H., and E. Braak. 1995. 'Staging of Alzheimer's disease-related neurofibrillary changes', *Neurobiol Aging*, 16: 271-8; discussion 78-84.
38. Brasnjevic, I., R. Lardenoije, C. Schmitz, N. Van Der Kolk, D. L. Dickstein, H. Takahashi, P. R. Hof, H. W. Steinbusch, and B. P. Rutten. 2013. 'Region-Specific Neuron and Synapse Loss in the Hippocampus of App/Ps1 Knock-in Mice', *Transl Neurosci*, 4: 8-19.
39. Brimijoin, S., and P. Hammond. 1988. 'Butyrylcholinesterase in human brain and acetylcholinesterase in human plasma: trace enzymes measured by two-site immunoassay', *J Neurochem*, 51: 1227-31.
40. Butterfield, D. A., F. Di Domenico, and E. Barone. 2014. 'Elevated risk of type 2 diabetes for development of Alzheimer disease: a key role for oxidative stress in brain', *Biochim Biophys Acta*, 1842: 1693-706.
41. Butterfield, D. A., and H. F. Poon. 2005. 'The senescence-accelerated prone mouse (SAMP8): a model of age-related cognitive decline with relevance to alterations of the gene expression and protein abnormalities in Alzheimer's disease', *Exp Gerontol*, 40: 774-83.
42. Butterfield, D. A., A. M. Swomley, and R. Sultana. 2013. 'Amyloid beta-peptide (1-42)-induced oxidative stress in Alzheimer disease: importance in disease pathogenesis and progression', *Antioxid Redox Signal*, 19: 823-35.

43. Cacace, R., K. Slegers, and C. Van Broeckhoven. 2016. 'Molecular genetics of early-onset Alzheimer's disease revisited', *Alzheimers Dement*, 12: 733-48.
44. Calhoun, M. E., K. H. Wiederhold, D. Abramowski, A. L. Phinney, A. Probst, C. Sturchler-Pierrat, M. Staufenbiel, B. Sommer, and M. Jucker. 1998. 'Neuron loss in APP transgenic mice', *Nature*, 395: 755-6.
45. Calon, F., G. P. Lim, F. Yang, T. Morihara, B. Teter, O. Ubeda, P. Rostaing, A. Triller, N. Salem, Jr., K. H. Ashe, S. A. Frautschy, and G. M. Cole. 2004. 'Docosahexaenoic acid protects from dendritic pathology in an Alzheimer's disease mouse model', *Neuron*, 43: 633-45.
46. Campbell, K., and S. A. Booth. 2015. 'MicroRNA in neurodegenerative drug discovery: the way forward?', *Expert Opin Drug Discov*, 10: 9-16.
47. Société Alzheimer du Canada, 'Prévalence et coûts financiers des maladies cognitives au Canada', page consultée le 7 février 2017. Site internet: <http://www.alzheimer.ca/fr/About-dementia/What-is-dementia/Dementia-numbers>.
48. Canudas, A. M., J. Gutierrez-Cuesta, M. I. Rodriguez, D. Acuna-Castroviejo, F. X. Sureda, A. Camins, and M. Pallas. 2005. 'Hyperphosphorylation of microtubule-associated protein tau in senescence-accelerated mouse (SAM)', *Mech Ageing Dev*, 126: 1300-4.
49. Carroll, J. C., E. R. Rosario, S. Kreimer, A. Villamagna, E. Gentschein, F. Z. Stanczyk, and C. J. Pike. 2010. 'Sex differences in beta-amyloid accumulation in 3xTg-AD mice: role of neonatal sex steroid hormone exposure', *Brain Res*, 1366: 233-45.
50. Carter, T. A., J. A. Greenhall, S. Yoshida, S. Fuchs, R. Helton, A. Swaroop, D. J. Lockhart, and C. Barlow. 2005. 'Mechanisms of aging in senescence-accelerated mice', *Genome Biol*, 6: R48.
51. Carvalho, C., S. Cardoso, S. C. Correia, R. X. Santos, M. S. Santos, I. Baldeiras, C. R. Oliveira, and P. I. Moreira. 2012. 'Metabolic alterations induced by sucrose intake and Alzheimer's disease promote similar brain mitochondrial abnormalities', *Diabetes*, 61: 1234-42.
52. Casas, C., N. Sergeant, J. M. Itier, V. Blanchard, O. Wirths, N. van der Kolk, V. Vingtdeux, E. van de Steeg, G. Ret, T. Canton, H. Drobecq, A. Clark, B. Bonici, A. Delacourte, J. Benavides, C. Schmitz, G. Tremp, T. A. Bayer, P. Benoit, and L. Pradier. 2004. 'Massive CA1/2 neuronal loss with intraneuronal and N-terminal truncated Abeta42 accumulation in a novel Alzheimer transgenic model', *Am J Pathol*, 165: 1289-300.
53. Catrina Sims-Robinson, Bhumsoo Kim, Andrew Rosko, Eva L. Feldman. 2010. 'How does diabetes accelerate Alzheimer disease pathology?', *Nature review Neurology*, 6: 551-59.
54. Chen, G. H., Y. J. Wang, X. M. Wang, and J. N. Zhou. 2004. 'Accelerated senescence prone mouse-8 shows early onset of deficits in spatial learning and memory in the radial six-arm water maze', *Physiol Behav*, 82: 883-90.
55. Chen, R., Y. Yin, Z. Zhao, L. Huang, S. Huang, J. Zhuang, H. Wu, H. Peng, and P. Li. 2012. 'Elevation of serum TNF-alpha levels in mild and moderate Alzheimer patients with daytime sleepiness', *J Neuroimmunol*, 244: 97-102.

56. Cheng, X. R., W. X. Zhou, and Y. X. Zhang. 2014. 'The behavioral, pathological and therapeutic features of the senescence-accelerated mouse prone 8 strain as an Alzheimer's disease animal model', *Ageing Res Rev*, 13: 13-37.
57. Chu, L. W., S. Tam, R. L. Wong, P. Y. Yik, Y. Song, B. M. Cheung, J. E. Morley, and K. S. Lam. 2010. 'Bioavailable testosterone predicts a lower risk of Alzheimer's disease in older men', *J Alzheimers Dis*, 21: 1335-45.
58. Citron, M., C. Vigo-Pelfrey, D. B. Teplow, C. Miller, D. Schenk, J. Johnston, B. Winblad, N. Venizelos, L. Lannfelt, and D. J. Selkoe. 1994. 'Excessive production of amyloid beta-protein by peripheral cells of symptomatic and presymptomatic patients carrying the Swedish familial Alzheimer disease mutation', *Proc Natl Acad Sci U S A*, 91: 11993-7.
59. Clark, J. K., M. Furgerson, J. D. Crystal, M. Fechheimer, R. Furukawa, and J. J. Wagner. 2015. 'Alterations in synaptic plasticity coincide with deficits in spatial working memory in presymptomatic 3xTg-AD mice', *Neurobiol Learn Mem*, 125: 152-62.
60. Cohen, R. M., K. Rezai-Zadeh, T. M. Weitz, A. Rentsendorj, D. Gate, I. Spivak, Y. Bholat, V. Vasilevko, C. G. Glabe, J. J. Breunig, P. Rakic, H. Davtyan, M. G. Agadjanyan, V. Kepe, J. R. Barrio, S. Bannykh, C. A. Szekely, R. N. Pechnick, and T. Town. 2013. 'A transgenic Alzheimer rat with plaques, tau pathology, behavioral impairment, oligomeric abeta, and frank neuronal loss', *J Neurosci*, 33: 6245-56.
61. Colangelo, A. M., L. Alberghina, and M. Papa. 2014. 'Astroglialosis as a therapeutic target for neurodegenerative diseases', *Neurosci Lett*, 565: 59-64.
62. Collombet, J. M., C. Masqueliez, E. Four, M. F. Burckhart, D. Bernabe, D. Baubichon, and G. Lallement. 2006. 'Early reduction of NeuN antigenicity induced by soman poisoning in mice can be used to predict delayed neuronal degeneration in the hippocampus', *Neurosci Lett*, 398: 337-42.
63. Colovic, M. B., D. Z. Krstic, T. D. Lazarevic-Pasti, A. M. Bondzic, and V. M. Vasic. 2013. 'Acetylcholinesterase inhibitors: pharmacology and toxicology', *Curr Neuropharmacol*, 11: 315-35.
64. Cook, D. G., J. B. Leverenz, P. J. McMillan, J. J. Kulstad, S. Ericksen, R. A. Roth, G. D. Schellenberg, L. W. Jin, K. S. Kovacina, and S. Craft. 2003. 'Reduced hippocampal insulin-degrading enzyme in late-onset Alzheimer's disease is associated with the apolipoprotein E-epsilon4 allele', *Am J Pathol*, 162: 313-9.
65. Counts, S. E., M. Nadeem, S. P. Lad, J. Wu, and E. J. Mufson. 2006. 'Differential expression of synaptic proteins in the frontal and temporal cortex of elderly subjects with mild cognitive impairment', *J Neuropathol Exp Neurol*, 65: 592-601.
66. Crooke, S. T. 2017. 'Molecular Mechanisms of Antisense Oligonucleotides', *Nucleic Acid Ther*, 27: 70-77.
67. Cruts, M., L. Hendriks, and C. Van Broeckhoven. 1996. 'The presenilin genes: a new gene family involved in Alzheimer disease pathology', *Hum Mol Genet*, 5 Spec No: 1449-55.

68. Cummings, J. L., T. Morstorf, and K. Zhong. 2014. 'Alzheimer's disease drug-development pipeline: few candidates, frequent failures', *Alzheimers Res Ther*, 6: 37.
69. Cunnane, S., S. Nugent, M. Roy, A. Courchesne-Loyer, E. Croteau, S. Tremblay, A. Castellano, F. Pifferi, C. Bocti, N. Paquet, H. Begdouri, M. Bentourkia, E. Turcotte, M. Allard, P. Barberger-Gateau, T. Fulop, and S. I. Rapoport. 2011. 'Brain fuel metabolism, aging, and Alzheimer's disease', *Nutrition*, 27: 3-20.
70. D'Andrea, M. R., and R. G. Nagele. 2010. 'Morphologically distinct types of amyloid plaques point the way to a better understanding of Alzheimer's disease pathogenesis', *Biotech Histochem*, 85: 133-47.
71. Dahm, R. 2006. 'Alzheimer's discovery', *Curr Biol*, 16: R906-10.
72. Danysz, W., and C. G. Parsons. 2012. 'Alzheimer's disease, beta-amyloid, glutamate, NMDA receptors and memantine--searching for the connections', *Br J Pharmacol*, 167: 324-52.
73. Davoli, M. A., J. Fourtounis, J. Tam, S. Xanthoudakis, D. Nicholson, G. S. Robertson, G. Y. Ng, and D. Xu. 2002. 'Immunohistochemical and biochemical assessment of caspase-3 activation and DNA fragmentation following transient focal ischemia in the rat', *Neuroscience*, 115: 125-36.
74. Dawkins, E., and D. H. Small. 2014. 'Insights into the physiological function of the beta-amyloid precursor protein: beyond Alzheimer's disease', *J Neurochem*, 129: 756-69.
75. Del Valle, J., J. Duran-Vilaregut, G. Manich, G. Casadesus, M. A. Smith, A. Camins, M. Pallas, C. Pelegri, and J. Vilaplana. 2010. 'Early amyloid accumulation in the hippocampus of SAMP8 mice', *J Alzheimers Dis*, 19: 1303-15.
76. Delay, C., F. Calon, P. Mathews, and S. S. Hebert. 2011. 'Alzheimer-specific variants in the 3'UTR of Amyloid precursor protein affect microRNA function', *Mol Neurodegener*, 6: 70.
77. Delerue, F., G. Sjollem, B. Whittle, S. Kruger, D. Andrews, and J. Gotz. 2013. 'Single nucleotide variants (SNVs) define senescence-accelerated SAMP8 mice, a model of a geriatric condition', *J Alzheimers Dis*, 36: 349-63.
78. Demars, M. P., A. Bartholomew, Z. Strakova, and O. Lazarov. 2011. 'Soluble amyloid precursor protein: a novel proliferation factor of adult progenitor cells of ectodermal and mesodermal origin', *Stem Cell Res Ther*, 2: 36.
79. DeVos, S. L., R. L. Miller, K. M. Schoch, B. B. Holmes, C. S. Kebodeaux, A. J. Wegener, G. Chen, T. Shen, H. Tran, B. Nichols, T. A. Zanardi, H. B. Kordasiewicz, E. E. Swayze, C. F. Bennett, M. I. Diamond, and T. M. Miller. 2017. 'Tau reduction prevents neuronal loss and reverses pathological tau deposition and seeding in mice with tauopathy', *Sci Transl Med*, 9.
80. DiCiero Miranda, M., V. M. de Bruin, M. R. Vale, and G. S. Viana. 2000. 'Lipid peroxidation and nitrite plus nitrate levels in brain tissue from patients with Alzheimer's disease', *Gerontology*, 46: 179-84.
81. Dodson, S. E., M. Gearing, C. F. Lippa, T. J. Montine, A. I. Levey, and J. J. Lah. 2006. 'LR11/SorLA expression is reduced in sporadic Alzheimer disease but not in familial Alzheimer disease', *J Neuropathol Exp Neurol*, 65: 866-72.

82. Drouin-Ouellet, J., M. LeBel, M. Filali, and F. Cicchetti. 2012. 'MyD88 deficiency results in both cognitive and motor impairments in mice', *Brain Behav Immun*, 26: 880-5.
83. Du, J., J. Chang, S. Guo, Q. Zhang, and Z. Wang. 2009. 'ApoE 4 reduces the expression of Abeta degrading enzyme IDE by activating the NMDA receptor in hippocampal neurons', *Neurosci Lett*, 464: 140-5.
84. Dubois, B., A. Padovani, P. Scheltens, A. Rossi, and G. Dell'Agnello. 2016. 'Timely Diagnosis for Alzheimer's Disease: A Literature Review on Benefits and Challenges', *J Alzheimers Dis*, 49: 617-31.
85. Eberling, J. L., B. R. Reed, J. E. Coleman, and W. J. Jagust. 2000. 'Effect of estrogen on cerebral glucose metabolism in postmenopausal women', *Neurology*, 55: 875-7.
86. Eng, L. F., and R. S. Ghirnikar. 1994. 'GFAP and astrogliosis', *Brain Pathol*, 4: 229-37.
87. Erten-Lyons, D., H. H. Dodge, R. Woltjer, L. C. Silbert, D. B. Howieson, P. Kramer, and J. A. Kaye. 2013. 'Neuropathologic basis of age-associated brain atrophy', *JAMA Neurol*, 70: 616-22.
88. Evans, D. A., L. E. Hebert, L. A. Beckett, P. A. Scherr, M. S. Albert, M. J. Chown, D. M. Pilgrim, and J. O. Taylor. 1997. 'Education and other measures of socioeconomic status and risk of incident Alzheimer disease in a defined population of older persons', *Arch Neurol*, 54: 1399-405.
89. Evers, M. M., L. J. Toonen, and W. M. van Roon-Mom. 2015. 'Antisense oligonucleotides in therapy for neurodegenerative disorders', *Adv Drug Deliv Rev*, 87: 90-103.
90. Fabbri, E., Y. An, M. Gonzalez-Freire, M. Zoli, M. Maggio, S. A. Studenski, J. M. Egan, C. W. Chia, and L. Ferrucci. 2016. 'Bioavailable Testosterone Linearly Declines Over A Wide Age Spectrum in Men and Women From The Baltimore Longitudinal Study of Aging', *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 71: 1202-9.
91. Fainman, J., M. D. Eid, F. R. Ervin, and R. M. Palmour. 2007. 'A primate model for Alzheimer's disease: investigation of the apolipoprotein E profile of the vervet monkey of St. Kitts', *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, 144B: 818-9.
92. Farlow, M. R., S. Salloway, P. N. Tariot, J. Yardley, M. L. Moline, Q. Wang, E. Brand-Schieber, H. Zou, T. Hsu, and A. Satlin. 2010. 'Effectiveness and tolerability of high-dose (23 mg/d) versus standard-dose (10 mg/d) donepezil in moderate to severe Alzheimer's disease: A 24-week, randomized, double-blind study', *Clin Ther*, 32: 1234-51.
93. Farrer, L. A., L. A. Cupples, J. L. Haines, B. Hyman, W. A. Kukull, R. Mayeux, R. H. Myers, M. A. Pericak-Vance, N. Risch, and C. M. van Duijn. 1997. 'Effects of age, sex, and ethnicity on the association between apolipoprotein E genotype and Alzheimer disease. A meta-analysis. APOE and Alzheimer Disease Meta Analysis Consortium', *JAMA*, 278: 1349-56.
94. Farris, W., S. Mansourian, Y. Chang, L. Lindsley, E. A. Eckman, M. P. Frosch, C. B. Eckman, R. E. Tanzi, D. J. Selkoe, and S. Guenette. 2003. 'Insulin-degrading enzyme regulates the levels of insulin, amyloid beta-protein, and the beta-amyloid precursor protein intracellular domain in vivo', *Proc Natl Acad Sci U S A*, 100: 4162-7.

95. Farris, W., S. Mansourian, M. A. Leissring, E. A. Eckman, L. Bertram, C. B. Eckman, R. E. Tanzi, and D. J. Selkoe. 2004. 'Partial loss-of-function mutations in insulin-degrading enzyme that induce diabetes also impair degradation of amyloid beta-protein', *Am J Pathol*, 164: 1425-34.
96. Faure, A., L. Verret, B. Bozon, N. El Tannir El Tayara, M. Ly, F. Kober, M. Dhenain, C. Rampon, and B. Delatour. 2011. 'Impaired neurogenesis, neuronal loss, and brain functional deficits in the APPxPS1-Ki mouse model of Alzheimer's disease', *Neurobiol Aging*, 32: 407-18.
97. Felsky, D., P. Szeszko, L. Yu, W. G. Honer, P. L. De Jager, J. A. Schneider, A. K. Malhotra, T. Lencz, T. Ikuta, J. Pipitone, M. M. Chakravarty, N. J. Lobaugh, B. H. Mulsant, B. G. Pollock, J. L. Kennedy, D. A. Bennett, and A. N. Voineskos. 2014. 'The SORL1 gene and convergent neural risk for Alzheimer's disease across the human lifespan', *Mol Psychiatry*, 19: 1125-32.
98. Ferreira, S. T., M. V. Lourenco, M. M. Oliveira, and F. G. De Felice. 2015. 'Soluble amyloid-beta oligomers as synaptotoxins leading to cognitive impairment in Alzheimer's disease', *Front Cell Neurosci*, 9: 191.
99. Fjell, A. M., L. McEvoy, D. Holland, A. M. Dale, K. B. Walhovd, and Initiative Alzheimer's Disease Neuroimaging. 2013. 'Brain changes in older adults at very low risk for Alzheimer's disease', *J Neurosci*, 33: 8237-42.
100. Fjell, A. M., K. B. Walhovd, C. Fennema-Notestine, L. K. McEvoy, D. J. Hagler, D. Holland, J. B. Brewer, and A. M. Dale. 2009. 'One-year brain atrophy evident in healthy aging', *J Neurosci*, 29: 15223-31.
101. Flood, J. F., and J. E. Morley. 1998. 'Learning and memory in the SAMP8 mouse', *Neurosci Biobehav Rev*, 22: 1-20.
102. Forstl, H., R. Zerfass, C. Geiger-Kabisch, H. Sattel, C. Besthorn, and F. Hentschel. 1995. 'Brain atrophy in normal ageing and Alzheimer's disease. Volumetric discrimination and clinical correlations', *Br J Psychiatry*, 167: 739-46.
103. Francis, P. T., A. M. Palmer, M. Snape, and G. K. Wilcock. 1999. 'The cholinergic hypothesis of Alzheimer's disease: a review of progress', *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 66: 137-47.
104. Franks, P. W. 2012. 'The complex interplay of genetic and lifestyle risk factors in type 2 diabetes: an overview', *Scientifica (Cairo)*, 2012: 482186.
105. Fu, Z., J. Wu, T. Nesil, M. D. Li, K. W. Aylor, and Z. Liu. 2017. 'Long-term high-fat diet induces hippocampal microvascular insulin resistance and cognitive dysfunction', *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 312: E89-E97.
106. Fukumoto, H., D. L. Rosene, M. B. Moss, S. Raju, B. T. Hyman, and M. C. Irizarry. 2004. 'Beta-secretase activity increases with aging in human, monkey, and mouse brain', *Am J Pathol*, 164: 719-25.
107. Gabin, J. M., K. Tambs, I. Saltvedt, E. Sund, and J. Holmen. 2017. 'Association between blood pressure and Alzheimer disease measured up to 27 years prior to diagnosis: the HUNT Study', *Alzheimers Res Ther*, 9: 37.
108. Geroldi, C., G. B. Frisoni, G. Paolisso, S. Bandinelli, M. Lamponi, A. M. Abbatecola, O. Zanetti, J. M. Guralnik, and L. Ferrucci. 2005. 'Insulin resistance in cognitive impairment: the InCHIANTI study', *Arch Neurol*, 62: 1067-72.
109. Giacobini, E., and G. Gold. 2013. 'Alzheimer disease therapy--moving from amyloid-beta to tau', *Nat Rev Neurol*, 9: 677-86.

110. Gidicsin, C. M., J. E. Maye, J. J. Locascio, L. C. Pepin, M. Philiossaint, J. A. Becker, A. P. Younger, M. Dekhtyar, A. P. Schultz, R. E. Amariglio, G. A. Marshall, D. M. Rentz, T. Hedden, R. A. Sperling, and K. A. Johnson. 2015. 'Cognitive activity relates to cognitive performance but not to Alzheimer disease biomarkers', *Neurology*, 85: 48-55.
111. Gimenez-Llort, L., G. Rivera-Hernandez, M. Marin-Argany, J. L. Sanchez-Quesada, and S. Villegas. 2013. 'Early intervention in the 3xTg-AD mice with an amyloid beta-antibody fragment ameliorates first hallmarks of Alzheimer disease', *MAbs*, 5: 665-77.
112. Goate, A., M. C. Chartier-Harlin, M. Mullan, J. Brown, F. Crawford, L. Fidani, L. Giuffra, A. Haynes, N. Irving, L. James, and et coll. 1991. 'Segregation of a missense mutation in the amyloid precursor protein gene with familial Alzheimer's disease', *Nature*, 349: 704-6.
113. Goedert, M. 2009. 'Oskar Fischer and the study of dementia', *Brain*, 132: 1102-11.
114. Goldman, J. S., B. Reed, R. Gearhart, J. H. Kramer, and B. L. Miller. 2002. 'Very early-onset familial Alzheimer's disease: a novel presenilin 1 mutation', *Int J Geriatr Psychiatry*, 17: 649-51.
115. Gomez de Barreda, E., M. Perez, P. Gomez Ramos, J. de Cristobal, P. Martin-Maestro, A. Moran, H. N. Dawson, M. P. Vitek, J. J. Lucas, F. Hernandez, and J. Avila. 2010. 'Tau-knockout mice show reduced GSK3-induced hippocampal degeneration and learning deficits', *Neurobiol Dis*, 37: 622-9.
116. Gomez-Isla, T., W. B. Growdon, M. J. McNamara, D. Nochlin, T. D. Bird, J. C. Arango, F. Lopera, K. S. Kosik, P. L. Lantos, N. J. Cairns, and B. T. Hyman. 1999. 'The impact of different presenilin 1 and presenilin 2 mutations on amyloid deposition, neurofibrillary changes and neuronal loss in the familial Alzheimer's disease brain: evidence for other phenotype-modifying factors', *Brain*, 122 (Pt 9): 1709-19.
117. Gomez-Rio, M., M. M. Caballero, J. M. Gorriz Saez, and A. Minguiez-Castellanos. 2016. 'Diagnosis of Neurodegenerative Diseases: The Clinical Approach', *Curr Alzheimer Res*, 13: 469-74.
118. Gomolin, I. H., M. M. Aung, G. Wolf-Klein, and C. Auerbach. 2005. 'Older is colder: temperature range and variation in older people', *J Am Geriatr Soc*, 53: 2170-2.
119. Gradinaru, D., C. Borsa, C. Ionescu, and D. Margina. 2013. 'Advanced oxidative and glycoxidative protein damage markers in the elderly with type 2 diabetes', *J Proteomics*, 92: 313-22.
120. Gralle, M., M. G. Botelho, and F. S. Wouters. 2009. 'Neuroprotective secreted amyloid precursor protein acts by disrupting amyloid precursor protein dimers', *J Biol Chem*, 284: 15016-25.
121. Grudzien, A., P. Shaw, S. Weintraub, E. Bigio, D. C. Mash, and M. M. Mesulam. 2007. 'Locus coeruleus neurofibrillary degeneration in aging, mild cognitive impairment and early Alzheimer's disease', *Neurobiol Aging*, 28: 327-35.

122. Gudala, K., D. Bansal, F. Schifano, and A. Bhansali. 2013. 'Diabetes mellitus and risk of dementia: A meta-analysis of prospective observational studies', *J Diabetes Investig*, 4: 640-50.
123. Guillozet, A. L., S. Weintraub, D. C. Mash, and M. M. Mesulam. 2003. 'Neurofibrillary tangles, amyloid, and memory in aging and mild cognitive impairment', *Arch Neurol*, 60: 729-36.
124. Guo, J. L., S. Narasimhan, L. Changolkar, Z. He, A. Stieber, B. Zhang, R. J. Gathagan, M. Iba, J. D. McBride, J. Q. Trojanowski, and V. M. Lee. 2016. 'Unique pathological tau conformers from Alzheimer's brains transmit tau pathology in nontransgenic mice', *J Exp Med*, 213: 2635-54.
125. Gusel'nikova, V. V., and D. E. Korzhevskiy. 2015. 'NeuN As a Neuronal Nuclear Antigen and Neuron Differentiation Marker', *Acta Naturae*, 7: 42-7.
126. Gutierrez-Hermosillo, H., E. Diaz De Leon-Gonzalez, R. Palacios-Corona, J. A. Cedillo-Rodriguez, A. Camacho-Luis, M. A. Reyes-Romero, J. H. Medina-Chavez, and P. A. Blandon. 2015. 'C allele of the rs2209972 single nucleotide polymorphism of the insulin degrading enzyme gene and Alzheimer's disease in type 2 diabetes, a case control study', *Med Clin (Barc)*, 144: 151-5.
127. Guzik, T. J., and R. M. Touyz. 2017. 'Oxidative Stress, Inflammation, and Vascular Aging in Hypertension', *Hypertension*.
128. Haass, C., C. A. Lemere, A. Capell, M. Citron, P. Seubert, D. Schenk, L. Lannfelt, and D. J. Selkoe. 1995. 'The Swedish mutation causes early-onset Alzheimer's disease by beta-secretase cleavage within the secretory pathway', *Nat Med*, 1: 1291-6.
129. Hadley, K. C., R. Rakhit, H. Guo, Y. Sun, J. E. Jonkman, J. McLaurin, L. N. Hazrati, A. Emili, and A. Chakrabarty. 2015. 'Determining composition of micron-scale protein deposits in neurodegenerative disease by spatially targeted optical microproteomics', *Elife*, 4.
130. Hampel, H., and K. Blennow. 2004. 'CSF tau and beta-amyloid as biomarkers for mild cognitive impairment', *Dialogues Clin Neurosci*, 6: 379-90.
131. Hampel, H., K. Buerger, R. Zinkowski, S. J. Teipel, A. Goernitz, N. Andreasen, M. Sjoegren, J. DeBernardis, D. Kerkman, K. Ishiguro, H. Ohno, E. Vanmechelen, H. Vanderstichele, C. McCulloch, H. J. Moller, P. Davies, and K. Blennow. 2004. 'Measurement of phosphorylated tau epitopes in the differential diagnosis of Alzheimer disease: a comparative cerebrospinal fluid study', *Arch Gen Psychiatry*, 61: 95-102.
132. Hanger, D. P., H. L. Byers, S. Wray, K. Y. Leung, M. J. Saxton, A. Seereeram, C. H. Reynolds, M. A. Ward, and B. H. Anderton. 2007. 'Novel phosphorylation sites in tau from Alzheimer brain support a role for casein kinase 1 in disease pathogenesis', *J Biol Chem*, 282: 23645-54.
133. Hardy, J. A., and G. A. Higgins. 1992. 'Alzheimer's disease: the amyloid cascade hypothesis', *Science*, 256: 184-5.
134. Head, E., K. Moffat, P. Das, F. Sarsoza, W. W. Poon, G. Landsberg, C. W. Cotman, and M. P. Murphy. 2005. 'Beta-amyloid deposition and tau phosphorylation in clinically characterized aged cats', *Neurobiol Aging*, 26: 749-63.

135. Hebert, L. E., J. Weuve, P. A. Scherr, and D. A. Evans. 2013. 'Alzheimer disease in the United States (2010-2050) estimated using the 2010 census', *Neurology*, 80: 1778-83.
136. Heneka, M. T., M. J. Carson, J. El Khoury, G. E. Landreth, F. Brosseron, D. L. Feinstein, A. H. Jacobs, T. Wyss-Coray, J. Vitorica, R. M. Ransohoff, K. Herrup, S. A. Frautschy, B. Finsen, G. C. Brown, A. Verkhratsky, K. Yamanaka, J. Koistinaho, E. Latz, A. Halle, G. C. Petzold, T. Town, D. Morgan, M. L. Shinohara, V. H. Perry, C. Holmes, N. G. Bazan, D. J. Brooks, S. Hunot, B. Joseph, N. Deigendesch, O. Garaschuk, E. Boddeke, C. A. Dinarello, J. C. Breitner, G. M. Cole, D. T. Golenbock, and M. P. Kummer. 2015. 'Neuroinflammation in Alzheimer's disease', *Lancet Neurol*, 14: 388-405.
137. Henry, C. J., Y. Huang, A. M. Wynne, and J. P. Godbout. 2009. 'Peripheral lipopolysaccharide (LPS) challenge promotes microglial hyperactivity in aged mice that is associated with exaggerated induction of both pro-inflammatory IL-1beta and anti-inflammatory IL-10 cytokines', *Brain Behav Immun*, 23: 309-17.
138. Hernandez, F., E. Garcia-Garcia, and J. Avila. 2013. 'Microtubule depolymerization and tau phosphorylation', *J Alzheimers Dis*, 37: 507-13.
139. Hernandez-Rapp, J., S. Rainone, C. Goupil, V. Dorval, P. Y. Smith, M. Saint-Pierre, M. Vallee, E. Planel, A. Droit, F. Calon, F. Cicchetti, and S. S. Hebert. 2016. 'microRNA-132/212 deficiency enhances Abeta production and senile plaque deposition in Alzheimer's disease triple transgenic mice', *Sci Rep*, 6: 30953.
140. Heuer, E., R. F. Rosen, A. Cintron, and L. C. Walker. 2012. 'Nonhuman primate models of Alzheimer-like cerebral proteopathy', *Curr Pharm Des*, 18: 1159-69.
141. Heyn, P., B. C. Abreu, and K. J. Ottenbacher. 2004. 'The effects of exercise training on elderly persons with cognitive impairment and dementia: a meta-analysis', *Arch Phys Med Rehabil*, 85: 1694-704.
142. Hildreth, K. L., R. E. Van Pelt, and R. S. Schwartz. 2012. 'Obesity, insulin resistance, and Alzheimer's disease', *Obesity (Silver Spring)*, 20: 1549-57.
143. Hippus, H., and G. Neundorfer. 2003. 'The discovery of Alzheimer's disease', *Dialogues Clin Neurosci*, 5: 101-8.
144. Hirata-Fukae, C., H. F. Li, H. S. Hoe, A. J. Gray, S. S. Minami, K. Hamada, T. Niikura, F. Hua, H. Tsukagoshi-Nagai, Y. Horikoshi-Sakuraba, M. Mughal, G. W. Rebeck, F. M. LaFerla, M. P. Mattson, N. Iwata, T. C. Saido, W. L. Klein, K. E. Duff, P. S. Aisen, and Y. Matsuoka. 2008. 'Females exhibit more extensive amyloid, but not tau, pathology in an Alzheimer transgenic model', *Brain Res*, 1216: 92-103.
145. Holtzman, D. M., J. Herz, and G. Bu. 2012. 'Apolipoprotein E and apolipoprotein E receptors: normal biology and roles in Alzheimer disease', *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2: a006312.
146. Honig, L. S., M. X. Tang, S. Albert, R. Costa, J. Luchsinger, J. Manly, Y. Stern, and R. Mayeux. 2003. 'Stroke and the risk of Alzheimer disease', *Arch Neurol*, 60: 1707-12.
147. Hsiao, K., P. Chapman, S. Nilsen, C. Eckman, Y. Harigaya, S. Younkin, F. Yang, and G. Cole. 1996. 'Correlative memory deficits, Abeta elevation, and amyloid plaques in transgenic mice', *Science*, 274: 99-102.

148. Huttenrauch, M., S. Baches, J. Gerth, T. A. Bayer, S. Weggen, and O. Wirths. 2015. 'Neprilysin deficiency alters the neuropathological and behavioral phenotype in the 5XFAD mouse model of Alzheimer's disease', *J Alzheimers Dis*, 44: 1291-302.
149. Hutton, M., F. Busfield, M. Wragg, R. Crook, J. Perez-Tur, R. F. Clark, G. Prihar, C. Talbot, H. Phillips, K. Wright, M. Baker, C. Lendon, K. Duff, A. Martinez, H. Houlden, A. Nichols, E. Karran, G. Roberts, P. Roques, M. Rossor, J. C. Venter, M. D. Adams, R. T. Cline, C. A. Phillips, A. Goate, and et coll. 1996. 'Complete analysis of the presenilin 1 gene in early onset Alzheimer's disease', *Neuroreport*, 7: 801-5.
150. Hyman, B. T., and J. Q. Trojanowski. 1997. 'Consensus recommendations for the postmortem diagnosis of Alzheimer disease from the National Institute on Aging and the Reagan Institute Working Group on diagnostic criteria for the neuropathological assessment of Alzheimer disease', *J Neuropathol Exp Neurol*, 56: 1095-7.
151. Ikonomic, M. D., E. J. Mufson, J. Wu, D. A. Bennett, and S. T. DeKosky. 2005. 'Reduction of choline acetyltransferase activity in primary visual cortex in mild to moderate Alzheimer's disease', *Arch Neurol*, 62: 425-30.
152. Imfeld, P., Y. B. Brauchli Pernus, S. S. Jick, and C. R. Meier. 2013. 'Epidemiology, co-morbidities, and medication use of patients with Alzheimer's disease or vascular dementia in the UK', *J Alzheimers Dis*, 35: 565-73.
153. Imtiaz, B., M. Tuppurainen, T. Rikkonen, M. Kivipelto, H. Soininen, H. Kroger, and A. M. Tolppanen. 2017. 'Postmenopausal hormone therapy and Alzheimer disease: A prospective cohort study', *Neurology*, 88: 1062-68.
154. Ingelsson, M., H. Fukumoto, K. L. Newell, J. H. Growdon, E. T. Hedley-Whyte, M. P. Frosch, M. S. Albert, B. T. Hyman, and M. C. Irizarry. 2004. 'Early Abeta accumulation and progressive synaptic loss, gliosis, and tangle formation in AD brain', *Neurology*, 62: 925-31.
155. Irizarry, M. C., M. McNamara, K. Fedorchak, K. Hsiao, and B. T. Hyman. 1997. 'APP^{Sw} transgenic mice develop age-related A beta deposits and neuropil abnormalities, but no neuronal loss in CA1', *J Neuropathol Exp Neurol*, 56: 965-73.
156. Ittner, L. M., Y. D. Ke, F. Delerue, M. Bi, A. Gladbach, J. van Eersel, H. Wolfing, B. C. Chieng, M. J. Christie, I. A. Napier, A. Eckert, M. Staufenbiel, E. Hardeman, and J. Gotz. 2010. 'Dendritic function of tau mediates amyloid-beta toxicity in Alzheimer's disease mouse models', *Cell*, 142: 387-97.
157. Jack, C. R., Jr., R. C. Petersen, Y. C. Xu, S. C. Waring, P. C. O'Brien, E. G. Tangalos, G. E. Smith, R. J. Ivnik, and E. Kokmen. 1997. 'Medial temporal atrophy on MRI in normal aging and very mild Alzheimer's disease', *Neurology*, 49: 786-94.
158. James, O. G., P. M. Doraiswamy, and S. Borges-Neto. 2015. 'PET Imaging of Tau Pathology in Alzheimer's Disease and Tauopathies', *Front Neurol*, 6: 38.
159. Janssen, C. I., D. Jansen, M. P. Mutsaers, P. J. Dederen, B. Geenen, M. T. Mulder, and A. J. Kiliaan. 2016. 'The Effect of a High-Fat Diet on Brain Plasticity, Inflammation and Cognition in Female ApoE4-Knockin and ApoE-Knockout Mice', *PLoS One*, 11: e0155307.

160. Jawhar, S., A. Trawicka, C. Jenneckens, T. A. Bayer, and O. Wirths. 2012. 'Motor deficits, neuron loss, and reduced anxiety coinciding with axonal degeneration and intraneuronal Abeta aggregation in the 5XFAD mouse model of Alzheimer's disease', *Neurobiol Aging*, 33: 196 e29-40.
161. Jiang, Q., C. Y. Lee, S. Mandrekar, B. Wilkinson, P. Cramer, N. Zelcer, K. Mann, B. Lamb, T. M. Willson, J. L. Collins, J. C. Richardson, J. D. Smith, T. A. Comery, D. Riddell, D. M. Holtzman, P. Tontonoz, and G. E. Landreth. 2008. 'ApoE promotes the proteolytic degradation of Abeta', *Neuron*, 58: 681-93.
162. Jin, C., X. Liu, F. Zhang, Y. Wu, J. Yuan, J. Zhu, F. Zhang, G. Wang, and Z. Cheng. 2013. 'An updated meta-analysis of the association between SORL1 variants and the risk for sporadic Alzheimer's disease', *J Alzheimers Dis*, 37: 429-37.
163. Julien, C., C. Tremblay, F. Bendjelloul, A. Phivilay, M. A. Coulombe, V. Emond, and F. Calon. 2008. 'Decreased drebrin mRNA expression in Alzheimer disease: correlation with tau pathology', *J Neurosci Res*, 86: 2292-302.
164. Julien, C., C. Tremblay, A. Phivilay, L. Berthiaume, V. Emond, P. Julien, and F. Calon. 2010. 'High-fat diet aggravates amyloid-beta and tau pathologies in the 3xTg-AD mouse model', *Neurobiol Aging*, 31: 1516-31.
165. Kadavath, H., R. V. Hofele, J. Biernat, S. Kumar, K. Tepper, H. Urlaub, E. Mandelkow, and M. Zweckstetter. 2015. 'Tau stabilizes microtubules by binding at the interface between tubulin heterodimers', *Proc Natl Acad Sci U S A*, 112: 7501-6.
166. Kamphuis, W., J. Middeldorp, L. Kooijman, J. A. Sluijs, E. J. Kooi, M. Moeton, M. Freriks, M. R. Mizee, and E. M. Hol. 2014. 'Glial fibrillary acidic protein isoform expression in plaque related astrogliosis in Alzheimer's disease', *Neurobiol Aging*, 35: 492-510.
167. Karp, A., I. Kareholt, C. Qiu, T. Bellander, B. Winblad, and L. Fratiglioni. 2004. 'Relation of education and occupation-based socioeconomic status to incident Alzheimer's disease', *Am J Epidemiol*, 159: 175-83.
168. Kim, G. H., J. E. Kim, S. J. Rhie, and S. Yoon. 2015. 'The Role of Oxidative Stress in Neurodegenerative Diseases', *Exp Neurobiol*, 24: 325-40.
169. Kim, J., H. Jiang, S. Park, A. E. Eltorai, F. R. Stewart, H. Yoon, J. M. Basak, M. B. Finn, and D. M. Holtzman. 2011. 'Haploinsufficiency of human APOE reduces amyloid deposition in a mouse model of amyloid-beta amyloidosis', *J Neurosci*, 31: 18007-12.
170. Kim, S., M. J. Kim, S. Kim, H. S. Kang, S. W. Lim, W. Myung, Y. Lee, C. H. Hong, S. H. Choi, D. L. Na, S. W. Seo, B. D. Ku, S. Y. Kim, S. Y. Kim, J. H. Jeong, S. A. Park, B. J. Carroll, and D. K. Kim. 2015. 'Gender differences in risk factors for transition from mild cognitive impairment to Alzheimer's disease: A CREDOs study', *Compr Psychiatry*, 62: 114-22.
171. Kinali, M., V. Arechavala-Gomez, L. Feng, S. Cirak, D. Hunt, C. Adkin, M. Guglieri, E. Ashton, S. Abbs, P. Nihoyannopoulos, M. E. Garralda, M. Rutherford, C. McCulley, L. Popplewell, I. R. Graham, G. Dickson, M. J. Wood, D. J. Wells, S. D. Wilton, R. Kole, V. Straub, K. Bushby, C. Sewry, J. E. Morgan, and F. Muntoni. 2009. 'Local restoration of dystrophin expression with the morpholino oligomer AVI-4658 in Duchenne muscular dystrophy: a single-

- blind, placebo-controlled, dose-escalation, proof-of-concept study', *Lancet Neurol*, 8: 918-28.
172. Kitado, H., K. Higuchi, and T. Takeda. 1994. 'Molecular genetic characterization of the senescence-accelerated mouse (SAM) strains', *J Gerontol*, 49: B247-54.
 173. Kivipelto, M., E. L. Helkala, M. P. Laakso, T. Hanninen, M. Hallikainen, K. Alhainen, H. Soininen, J. Tuomilehto, and A. Nissinen. 2001. 'Midlife vascular risk factors and Alzheimer's disease in later life: longitudinal, population based study', *BMJ*, 322: 1447-51.
 174. Knobloch, M., U. Konietzko, D. C. Krebs, and R. M. Nitsch. 2007. 'Intracellular Abeta and cognitive deficits precede beta-amyloid deposition in transgenic arcAbeta mice', *Neurobiol Aging*, 28: 1297-306.
 175. Knopman, D. S., J. E. Parisi, A. Salviati, M. Floriach-Robert, B. F. Boeve, R. J. Ivnik, G. E. Smith, D. W. Dickson, K. A. Johnson, L. E. Petersen, W. C. McDonald, H. Braak, and R. C. Petersen. 2003. 'Neuropathology of cognitively normal elderly', *J Neuropathol Exp Neurol*, 62: 1087-95.
 176. Koizumi, K., G. Wang, and L. Park. 2016. 'Endothelial Dysfunction and Amyloid-beta-Induced Neurovascular Alterations', *Cell Mol Neurobiol*, 36: 155-65.
 177. Kordower, J. H., Y. Chu, G. T. Stebbins, S. T. DeKosky, E. J. Cochran, D. Bennett, and E. J. Mufson. 2001. 'Loss and atrophy of layer II entorhinal cortex neurons in elderly people with mild cognitive impairment', *Ann Neurol*, 49: 202-13.
 178. Kukull, W. A., R. Higdon, J. D. Bowen, W. C. McCormick, L. Teri, G. D. Schellenberg, G. van Belle, L. Jolley, and E. B. Larson. 2002. 'Dementia and Alzheimer disease incidence: a prospective cohort study', *Arch Neurol*, 59: 1737-46.
 179. Kurokawa, T., E. Sato, A. Inoue, and S. Ishibashi. 1996. 'Evidence that glucose metabolism is decreased in the cerebrum of aged female senescence-accelerated mouse; possible involvement of a low hexokinase activity', *Neurosci Lett*, 214: 45-8.
 180. LaFerla, F. M., and K. N. Green. 2012. 'Animal models of Alzheimer disease', *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2.
 181. Lagarde, J., M. Sarazin, V. Chauvire, B. Stankoff, A. Kas, L. Lacomblez, M. A. Peyronneau, and M. Bottlaender. 2017. 'Cholinergic Changes in Aging and Alzheimer Disease: An [18F]-F-A-85380 Exploratory PET Study', *Alzheimer Dis Assoc Disord*, 31: 8-12.
 182. Lagunes, T., M. Herrera-Rivero, M. E. Hernandez-Aguilar, and G. E. Aranda-Abreu. 2014. 'Abeta(1-42) induces abnormal alternative splicing of tau exons 2/3 in NGF-induced PC12 cells', *An Acad Bras Cienc*, 0: 0.
 183. Lambert, J. C., D. Mann, F. Richard, J. Tian, J. Shi, U. Thaker, S. Merrot, J. Harris, B. Frigard, T. Iwatsubo, C. Lendon, and P. Amouyel. 2005. 'Is there a relation between APOE expression and brain amyloid load in Alzheimer's disease?', *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 76: 928-33.
 184. Lang, C. A., S. Naryshkin, D. L. Schneider, B. J. Mills, and R. D. Lindeman. 1992. 'Low blood glutathione levels in healthy aging adults', *J Lab Clin Med*, 120: 720-5.

185. Lanoiselee, H. M., G. Nicolas, D. Wallon, A. Rovelet-Lecrux, M. Lacour, S. Rousseau, A. C. Richard, F. Pasquier, A. Rollin-Sillaire, O. Martinaud, M. Quillard-Muraine, V. de la Sayette, C. Boutoleau-Bretonniere, F. Etcharry-Bouyx, V. Chauvire, M. Sarazin, I. le Ber, S. Epelbaum, T. Jonveaux, O. Rouaud, M. Ceccaldi, O. Felician, O. Godefroy, M. Formaglio, B. Croisile, S. Auriacombe, L. Chamard, J. L. Vincent, M. Sauvee, C. Marelli-Tosi, A. Gabelle, C. Ozsancak, J. Pariente, C. Paquet, D. Hannequin, D. Campion, and C. N. R. M. A. J. project collaborators of the. 2017. 'APP, PSEN1, and PSEN2 mutations in early-onset Alzheimer disease: A genetic screening study of familial and sporadic cases', *PLoS Med*, 14: e1002270.
186. Laske, C. 2014. 'Phase 3 trials of solanezumab and bapineuzumab for Alzheimer's disease', *N Engl J Med*, 370: 1459.
187. Lavie, C. J., A. De Schutter, P. Parto, E. Jahangir, P. Kokkinos, F. B. Ortega, R. Arena, and R. V. Milani. 2016. 'Obesity and Prevalence of Cardiovascular Diseases and Prognosis-The Obesity Paradox Updated', *Prog Cardiovasc Dis*, 58: 537-47.
188. Lazarov, O., M. Lee, D. A. Peterson, and S. S. Sisodia. 2002. 'Evidence that synaptically released beta-amyloid accumulates as extracellular deposits in the hippocampus of transgenic mice', *J Neurosci*, 22: 9785-93.
189. LeBlanc, A. C. 2005. 'The role of apoptotic pathways in Alzheimer's disease neurodegeneration and cell death', *Curr Alzheimer Res*, 2: 389-402.
190. Leduc, V., D. Domenger, L. De Beaumont, D. Lalonde, S. Belanger-Jasmin, and J. Poirier. 2011. 'Function and comorbidities of apolipoprotein e in Alzheimer's disease', *Int J Alzheimers Dis*, 2011: 974361.
191. Lee, C. Y., W. Tse, J. D. Smith, and G. E. Landreth. 2012. 'Apolipoprotein E promotes beta-amyloid trafficking and degradation by modulating microglial cholesterol levels', *J Biol Chem*, 287: 2032-44.
192. Leon, W. C., F. Canneva, V. Partridge, S. Allard, M. T. Ferretti, A. DeWilde, F. Vercauteren, R. Atifeh, A. Ducatenzeiler, W. Klein, M. Szyf, L. Alhonen, and A. C. Cuervo. 2010. 'A novel transgenic rat model with a full Alzheimer's-like amyloid pathology displays pre-plaque intracellular amyloid-beta-associated cognitive impairment', *J Alzheimers Dis*, 20: 113-26.
193. Li, J., T. Kanekiyo, M. Shinohara, Y. Zhang, M. J. LaDu, H. Xu, and G. Bu. 2012. 'Differential regulation of amyloid-beta endocytic trafficking and lysosomal degradation by apolipoprotein E isoforms', *J Biol Chem*, 287: 44593-601.
194. Li, R., K. Lindholm, L. B. Yang, X. Yue, M. Citron, R. Yan, T. Beach, L. Sue, M. Sabbagh, H. Cai, P. Wong, D. Price, and Y. Shen. 2004. 'Amyloid beta peptide load is correlated with increased beta-secretase activity in sporadic Alzheimer's disease patients', *Proc Natl Acad Sci U S A*, 101: 3632-7.
195. Liao, J. W., C. K. Hsu, M. F. Wang, W. M. Hsu, and Y. C. Chan. 2006. 'Beneficial effect of *Toona sinensis* Roemer on improving cognitive performance and brain degeneration in senescence-accelerated mice', *Br J Nutr*, 96: 400-7.
196. Lindsay, J., D. Laurin, R. Verreault, R. Hebert, B. Helliwell, G. B. Hill, and I. McDowell. 2002. 'Risk factors for Alzheimer's disease: a prospective analysis from the Canadian Study of Health and Aging', *Am J Epidemiol*, 156: 445-53.

197. Liu, C. C., J. Hu, C. W. Tsai, M. Yue, H. L. Melrose, T. Kanekiyo, and G. Bu. 2015. 'Neuronal LRP1 regulates glucose metabolism and insulin signaling in the brain', *J Neurosci*, 35: 5851-9.
198. Liu, D., H. Tang, X. Y. Li, M. F. Deng, N. Wei, X. Wang, Y. F. Zhou, D. Q. Wang, P. Fu, J. Z. Wang, S. S. Hebert, J. G. Chen, Y. Lu, and L. Q. Zhu. 2017. 'Targeting the HDAC2/HNF-4A/miR-101b/AMPK Pathway Rescues Tauopathy and Dendritic Abnormalities in Alzheimer's Disease', *Mol Ther*, 25: 752-64.
199. Liu, P., J. B. Paulson, C. L. Forster, S. L. Shapiro, K. H. Ashe, and K. R. Zahs. 2015. 'Characterization of a Novel Mouse Model of Alzheimer's Disease--Amyloid Pathology and Unique beta-Amyloid Oligomer Profile', *PLoS One*, 10: e0126317.
200. Liu, S., L. Tinker, Y. Song, N. Rifai, D. E. Bonds, N. R. Cook, G. Heiss, B. V. Howard, G. S. Hotamisligil, F. B. Hu, L. H. Kuller, and J. E. Manson. 2007. 'A prospective study of inflammatory cytokines and diabetes mellitus in a multiethnic cohort of postmenopausal women', *Arch Intern Med*, 167: 1676-85.
201. Lok, K., H. Zhao, H. Shen, Z. Wang, X. Gao, W. Zhao, and M. Yin. 2013. 'Characterization of the APP/PS1 mouse model of Alzheimer's disease in senescence accelerated background', *Neurosci Lett*, 557 Pt B: 84-9.
202. Lorio, G., J. Avila, and J. Diaz-Nido. 2001. 'Modifications of tau protein during neuronal cell death', *J Alzheimers Dis*, 3: 563-75.
203. Louis A. Profenno, Anton P. Porsteinsson, Stephen V. Faraone. 2009. 'Meta-Analysis of Alzheimer's Disease Risk with
204. Obesity, Diabetes, and Related Disorders', *BIOL PSYCHIATRY*, 67: 505-12.
205. Louwersheimer, E., P. E. Cohn-Hokke, Y. A. Pijnenburg, M. M. Weiss, E. A. Sistermans, A. J. Rozemuller, M. Hulsman, J. C. van Swieten, C. M. van Duijn, F. Barkhof, T. Koene, P. Scheltens, W. M. Van der Flier, and H. Holstege. 2017. 'Rare Genetic Variant in SORL1 May Increase Penetrance of Alzheimer's Disease in a Family with Several Generations of APOE-varepsilon4 Homozygosity', *J Alzheimers Dis*, 56: 63-74.
206. Lu, S. H., A. R. Leasure, and Y. T. Dai. 2010. 'A systematic review of body temperature variations in older people', *J Clin Nurs*, 19: 4-16.
207. Lucci, B. 1998. 'The contribution of Gaetano Perusini to the definition of Alzheimer's disease', *Ital J Neurol Sci*, 19: 49-52.
208. Lue, L. F., Y. M. Kuo, A. E. Roher, L. Brachova, Y. Shen, L. Sue, T. Beach, J. H. Kurth, R. E. Rydel, and J. Rogers. 1999. 'Soluble amyloid beta peptide concentration as a predictor of synaptic change in Alzheimer's disease', *Am J Pathol*, 155: 853-62.
209. Mandal, P. K., S. Saharan, M. Tripathi, and G. Murari. 2015. 'Brain glutathione levels--a novel biomarker for mild cognitive impairment and Alzheimer's disease', *BIOL PSYCHIATRY*, 78: 702-10.
210. Manich, G., J. del Valle, I. Cabezon, A. Camins, M. Pallas, C. Pelegri, and J. Vilaplana. 2014. 'Presence of a neo-epitope and absence of amyloid beta and tau protein in degenerative hippocampal granules of aged mice', *Age (Dordr)*, 36: 151-65.

211. Manly, J. J., C. A. Merchant, D. M. Jacobs, S. A. Small, K. Bell, M. Ferin, and R. Mayeux. 2000. 'Endogenous estrogen levels and Alzheimer's disease among postmenopausal women', *Neurology*, 54: 833-7.
212. Maragakis, N. J., and J. D. Rothstein. 2006. 'Mechanisms of Disease: astrocytes in neurodegenerative disease', *Nat Clin Pract Neurol*, 2: 679-89.
213. Marques, F., J. C. Sousa, N. Sousa, and J. A. Palha. 2013. 'Blood-brain-barriers in aging and in Alzheimer's disease', *Mol Neurodegener*, 8: 38.
214. Masliah, E., D. S. Imoto, T. Saitoh, L. A. Hansen, and R. D. Terry. 1990. 'Increased immunoreactivity of brain spectrin in Alzheimer disease: a marker for synapse loss?', *Brain Res*, 531: 36-44.
215. Masliah, E., M. Mallory, L. Hansen, R. DeTeresa, and R. D. Terry. 1993. 'Quantitative synaptic alterations in the human neocortex during normal aging', *Neurology*, 43: 192-7.
216. Mastrangelo, M. A., and W. J. Bowers. 2008. 'Detailed immunohistochemical characterization of temporal and spatial progression of Alzheimer's disease-related pathologies in male triple-transgenic mice', *BMC Neurosci*, 9: 81.
217. Matsunaga, S., T. Kishi, and N. Iwata. 2014. 'Combination therapy with cholinesterase inhibitors and memantine for Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis', *Int J Neuropsychopharmacol*, 18.
218. Mattson, M. P., B. Cheng, D. Davis, K. Bryant, I. Lieberburg, and R. E. Rydel. 1992. 'beta-Amyloid peptides destabilize calcium homeostasis and render human cortical neurons vulnerable to excitotoxicity', *J Neurosci*, 12: 376-89.
219. McKhann, G. M., D. S. Knopman, H. Chertkow, B. T. Hyman, C. R. Jack, Jr., C. H. Kawas, W. E. Klunk, W. J. Koroshetz, J. J. Manly, R. Mayeux, R. C. Mohs, J. C. Morris, M. N. Rossor, P. Scheltens, M. C. Carrillo, B. Thies, S. Weintraub, and C. H. Phelps. 2011. 'The diagnosis of dementia due to Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease', *Alzheimers Dement*, 7: 263-9.
220. Meda, L., P. Baron, E. Prat, E. Scarpini, G. Scarlato, M. A. Cassatella, and F. Rossi. 1999. 'Proinflammatory profile of cytokine production by human monocytes and murine microglia stimulated with beta-amyloid[25-35]', *J Neuroimmunol*, 93: 45-52.
221. Mhillaj, E., V. Cuomo, and C. Mancuso. 2017. 'The contribution of transgenic and nontransgenic animal models in Alzheimer's disease drug research and development', *Behav Pharmacol*, 28: 95-111.
222. Mielke, M. M., P. Vemuri, and W. A. Rocca. 2014. 'Clinical epidemiology of Alzheimer's disease: assessing sex and gender differences', *Clin Epidemiol*, 6: 37-48.
223. Miyamoto, M. 1997. 'Characteristics of age-related behavioral changes in senescence-accelerated mouse SAMP8 and SAMP10', *Exp Gerontol*, 32: 139-48.
224. Moffat, S. D., A. B. Zonderman, E. J. Metter, C. Kawas, M. R. Blackman, S. M. Harman, and S. M. Resnick. 2004. 'Free testosterone and risk for Alzheimer disease in older men', *Neurology*, 62: 188-93.

225. Montine, T. J., and J. D. Morrow. 2005. 'Fatty acid oxidation in the pathogenesis of Alzheimer's disease', *Am J Pathol*, 166: 1283-9.
226. Moore, A., C. Patterson, L. Lee, I. Vedel, H. Bergman, Diagnosis Canadian Consensus Conference on the, and Dementia Treatment of. 2014. 'Fourth Canadian Consensus Conference on the Diagnosis and Treatment of Dementia: recommendations for family physicians', *Can Fam Physician*, 60: 433-8.
227. Morley, J. E., H. J. Armbrecht, S. A. Farr, and V. B. Kumar. 2012. 'The senescence accelerated mouse (SAMP8) as a model for oxidative stress and Alzheimer's disease', *Biochim Biophys Acta*, 1822: 650-6.
228. Morley, J. E., V. B. Kumar, A. E. Bernardo, S. A. Farr, K. Uezu, N. Tumosa, and J. F. Flood. 2000. 'Beta-amyloid precursor polypeptide in SAMP8 mice affects learning and memory', *Peptides*, 21: 1761-7.
229. Morris, G. P., I. A. Clark, and B. Vissel. 2014. 'Inconsistencies and controversies surrounding the amyloid hypothesis of Alzheimer's disease', *Acta Neuropathol Commun*, 2: 135.
230. Morris, J. K., E. D. Vidoni, R. A. Honea, J. M. Burns, and Initiative Alzheimer's Disease Neuroimaging. 2014. 'Impaired glycemia increases disease progression in mild cognitive impairment', *Neurobiol Aging*, 35: 585-9.
231. Morris, M. C., D. A. Evans, J. L. Bienias, C. C. Tangney, D. A. Bennett, R. S. Wilson, N. Aggarwal, and J. Schneider. 2003. 'Consumption of fish and n-3 fatty acids and risk of incident Alzheimer disease', *Arch Neurol*, 60: 940-6.
232. Mosconi, L., R. Mistur, R. Switalski, W. H. Tsui, L. Glodzik, Y. Li, E. Pirraglia, S. De Santi, B. Reisberg, T. Wisniewski, and M. J. de Leon. 2009. 'FDG-PET changes in brain glucose metabolism from normal cognition to pathologically verified Alzheimer's disease', *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 36: 811-22.
233. Mosher, K. I., and T. Wyss-Coray. 2014. 'Microglial dysfunction in brain aging and Alzheimer's disease', *Biochem Pharmacol*, 88: 594-604.
234. Mostany, R., J. E. Anstey, K. L. Crump, B. Maco, G. Knott, and C. Portera-Cailliau. 2013. 'Altered synaptic dynamics during normal brain aging', *J Neurosci*, 33: 4094-104.
235. Murrell, J., M. Farlow, B. Ghetti, and M. D. Benson. 1991. 'A mutation in the amyloid precursor protein associated with hereditary Alzheimer's disease', *Science*, 254: 97-9.
236. Nasreddine, Z. S., N. A. Phillips, V. Bedirian, S. Charbonneau, V. Whitehead, I. Collin, J. L. Cummings, and H. Chertkow. 2005. 'The Montreal Cognitive Assessment, MoCA: a brief screening tool for mild cognitive impairment', *J Am Geriatr Soc*, 53: 695-9.
237. Nelson, P. T., I. Alafuzoff, E. H. Bigio, C. Bouras, H. Braak, N. J. Cairns, R. J. Castellani, B. J. Crain, P. Davies, K. Del Tredici, C. Duyckaerts, M. P. Frosch, V. Haroutunian, P. R. Hof, C. M. Hulette, B. T. Hyman, T. Iwatsubo, K. A. Jellinger, G. A. Jicha, E. Kovari, W. A. Kukull, J. B. Leverenz, S. Love, I. R. Mackenzie, D. M. Mann, E. Masliah, A. C. McKee, T. J. Montine, J. C. Morris, J. A. Schneider, J. A. Sonnen, D. R. Thal, J. Q. Trojanowski, J. C. Troncoso, T. Wisniewski, R. L. Woltjer, and T. G. Beach. 2012. 'Correlation of Alzheimer

- disease neuropathologic changes with cognitive status: a review of the literature', *J Neuropathol Exp Neurol*, 71: 362-81.
238. Newman, M., E. Ebrahimie, and M. Lardelli. 2014. 'Using the zebrafish model for Alzheimer's disease research', *Front Genet*, 5: 189.
239. Ng, M., T. Fleming, M. Robinson, B. Thomson, N. Graetz, C. Margono, E. C. Mullany, S. Biryukov, C. Abbafati, S. F. Abera, J. P. Abraham, N. M. Abu-Rmeileh, T. Achoki, F. S. AlBuhairan, Z. A. Alemu, R. Alfonso, M. K. Ali, R. Ali, N. A. Guzman, W. Ammar, P. Anwari, A. Banerjee, S. Barquera, S. Basu, D. A. Bennett, Z. Bhutta, J. Blore, N. Cabral, I. C. Nonato, J. C. Chang, R. Chowdhury, K. J. Courville, M. H. Criqui, D. K. Cundiff, K. C. Dabhadkar, L. Dandona, A. Davis, A. Dayama, S. D. Dharmaratne, E. L. Ding, A. M. Durrani, A. Esteghamati, F. Farzadfar, D. F. Fay, V. L. Feigin, A. Flaxman, M. H. Forouzanfar, A. Goto, M. A. Green, R. Gupta, N. Hafezi-Nejad, G. J. Hankey, H. C. Harewood, R. Havmoeller, S. Hay, L. Hernandez, A. Husseini, B. T. Idrisov, N. Ikeda, F. Islami, E. Jahangir, S. K. Jassal, S. H. Jee, M. Jeffreys, J. B. Jonas, E. K. Kabagambe, S. E. Khalifa, A. P. Kengne, Y. S. Khader, Y. H. Khang, D. Kim, R. W. Kimokoti, J. M. Kinge, Y. Kokubo, S. Kosen, G. Kwan, T. Lai, M. Leinsalu, Y. Li, X. Liang, S. Liu, G. Logroscino, P. A. Lotufo, Y. Lu, J. Ma, N. K. Mainoo, G. A. Mensah, T. R. Merriman, A. H. Mokdad, J. Moschandreas, M. Naghavi, A. Naheed, D. Nand, K. M. Narayan, E. L. Nelson, M. L. Neuhouser, M. I. Nisar, T. Ohkubo, S. O. Oti, A. Pedroza, D. Prabhakaran, N. Roy, U. Sampson, H. Seo, S. G. Sepanlou, K. Shibuya, R. Shiri, I. Shiue, G. M. Singh, J. A. Singh, V. Skirbekk, N. J. Stapelberg, L. Sturua, B. L. Sykes, M. Tobias, B. X. Tran, L. Trasande, H. Toyoshima, S. van de Vijver, T. J. Vasankari, J. L. Veerman, G. Velasquez-Melendez, V. V. Vlassov, S. E. Vollset, T. Vos, C. Wang, X. Wang, E. Weiderpass, A. Werdecker, J. L. Wright, Y. C. Yang, H. Yatsuya, J. Yoon, S. J. Yoon, Y. Zhao, M. Zhou, S. Zhu, A. D. Lopez, C. J. Murray, and E. Gakidou. 2014. 'Global, regional, and national prevalence of overweight and obesity in children and adults during 1980-2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013', *Lancet*, 384: 766-81.
240. Ngandu, T., J. Lehtisalo, A. Solomon, E. Levalahti, S. Ahtiluoto, R. Antikainen, L. Backman, T. Hanninen, A. Jula, T. Laatikainen, J. Lindstrom, F. Mangialasche, T. Paajanen, S. Pajala, M. Peltonen, R. Rauramaa, A. Stigsdotter-Neely, T. Strandberg, J. Tuomilehto, H. Soininen, and M. Kivipelto. 2015. 'A 2 year multidomain intervention of diet, exercise, cognitive training, and vascular risk monitoring versus control to prevent cognitive decline in at-risk elderly people (FINGER): a randomised controlled trial', *Lancet*, 385: 2255-63.
241. Nicolas, G., C. Charbonnier, D. Wallon, O. Quenez, C. Bellenguez, B. Grenier-Boley, S. Rousseau, A. C. Richard, A. Rovelet-Lecrux, K. Le Guennec, D. Bacq, J. G. Garnier, R. Olasso, A. Boland, V. Meyer, J. F. Deleuze, P. Amouyel, H. M. Munter, G. Bourque, M. Lathrop, T. Frebourg, R. Redon, L. Letenneur, J. F. Dartigues, E. Genin, J. C. Lambert, D. Hannequin, D. Champion, and Cnr-Maj collaborators. 2016. 'SORL1 rare variants: a major risk factor for familial early-onset Alzheimer's disease', *Mol Psychiatry*, 21: 831-6.

242. Nicolas, M., and B. A. Hassan. 2014. 'Amyloid precursor protein and neural development', *Development*, 141: 2543-8.
243. Nielsen, M. S., C. Gustafsen, P. Madsen, J. R. Nyengaard, G. Hermey, O. Bakke, M. Mari, P. Schu, R. Pohlmann, A. Dennes, and C. M. Petersen. 2007. 'Sorting by the cytoplasmic domain of the amyloid precursor protein binding receptor SorLA', *Mol Cell Biol*, 27: 6842-51.
244. Nilsberth, C., A. Westlind-Danielsson, C. B. Eckman, M. M. Condron, K. Axelman, C. Forsell, C. Stenh, J. Luthman, D. B. Teplow, S. G. Younkin, J. Naslund, and L. Lannfelt. 2001. 'The 'Arctic' APP mutation (E693G) causes Alzheimer's disease by enhanced Abeta protofibril formation', *Nat Neurosci*, 4: 887-93.
245. Nisbet, R. M., J. C. Polanco, L. M. Ittner, and J. Gotz. 2015. 'Tau aggregation and its interplay with amyloid-beta', *Acta Neuropathol*, 129: 207-20.
246. Nomura, Y., Y. Yamanaka, Y. Kitamura, T. Arima, T. Ohnuki, Y. Oomura, K. Sasaki, K. Nagashima, and Y. Ihara. 1996. 'Senescence-accelerated mouse. Neurochemical studies on aging', *Ann N Y Acad Sci*, 786: 410-8.
247. O'Brien, R. J., and P. C. Wong. 2011. 'Amyloid precursor protein processing and Alzheimer's disease', *Annu Rev Neurosci*, 34: 185-204.
248. O'Leary, T. P., and R. E. Brown. 2009. 'Visuo-spatial learning and memory deficits on the Barnes maze in the 16-month-old APPswe/PS1dE9 mouse model of Alzheimer's disease', *Behav Brain Res*, 201: 120-7.
249. Oakley, H., S. L. Cole, S. Logan, E. Maus, P. Shao, J. Craft, A. Guillozet-Bongaarts, M. Ohno, J. Disterhoft, L. Van Eldik, R. Berry, and R. Vassar. 2006. 'Intraneuronal beta-amyloid aggregates, neurodegeneration, and neuron loss in transgenic mice with five familial Alzheimer's disease mutations: potential factors in amyloid plaque formation', *J Neurosci*, 26: 10129-40.
250. Oddo, S., A. Caccamo, M. Kitazawa, B. P. Tseng, and F. M. LaFerla. 2003. 'Amyloid deposition precedes tangle formation in a triple transgenic model of Alzheimer's disease', *Neurobiol Aging*, 24: 1063-70.
251. Oddo, S., A. Caccamo, J. D. Shepherd, M. P. Murphy, T. E. Golde, R. Kaye, R. Metherate, M. P. Mattson, Y. Akbari, and F. M. LaFerla. 2003. 'Triple-transgenic model of Alzheimer's disease with plaques and tangles: intracellular Abeta and synaptic dysfunction', *Neuron*, 39: 409-21.
252. Oh, K. J., S. E. Perez, S. Lagalwar, L. Vana, L. Binder, and E. J. Mufson. 2010. 'Staging of Alzheimer's pathology in triple transgenic mice: a light and electron microscopic analysis', *Int J Alzheimers Dis*, 2010.
253. Ott, A., M. M. Breteler, F. van Harskamp, T. Stijnen, and A. Hofman. 1998. 'Incidence and risk of dementia. The Rotterdam Study', *Am J Epidemiol*, 147: 574-80.
254. Ott, A., R. P. Stolk, A. Hofman, F. van Harskamp, D. E. Grobbee, and M. M. Breteler. 1996. 'Association of diabetes mellitus and dementia: the Rotterdam Study', *Diabetologia*, 39: 1392-7.
255. Ott, A., R. P. Stolk, F. van Harskamp, H. A. Pols, A. Hofman, and M. M. Breteler. 1999. 'Diabetes mellitus and the risk of dementia: The Rotterdam Study', *Neurology*, 53: 1937-42.
256. Pascoal, T. A., S. Mathotaarachchi, S. Mohades, A. L. Benedet, C. O. Chung, M. Shin, S. Wang, T. Beaudry, M. S. Kang, J. P. Soucy, A. Labbe, S.

- Gauthier, and P. Rosa-Neto. 2017. 'Amyloid-beta and hyperphosphorylated tau synergy drives metabolic decline in preclinical Alzheimer's disease', *Mol Psychiatry*, 22: 306-11.
257. Perez, J. L., I. Carrero, P. Gonzalo, J. Arevalo-Serrano, J. M. Sanz-Anquela, J. Ortega, M. Rodriguez, and A. Gonzalo-Ruiz. 2010. 'Soluble oligomeric forms of beta-amyloid (A β) peptide stimulate A β production via astrogliosis in the rat brain', *Exp Neurol*, 223: 410-21.
258. Piaceri, I., B. Nacmias, and S. Sorbi. 2013. 'Genetics of familial and sporadic Alzheimer's disease', *Front Biosci (Elite Ed)*, 5: 167-77.
259. Pitas, R. E., J. K. Boyles, S. H. Lee, D. Foss, and R. W. Mahley. 1987. 'Astrocytes synthesize apolipoprotein E and metabolize apolipoprotein E-containing lipoproteins', *Biochim Biophys Acta*, 917: 148-61.
260. Planel, E., A. Bretteville, L. Liu, L. Virag, A. L. Du, W. H. Yu, D. W. Dickson, R. A. Whittington, and K. E. Duff. 2009. 'Acceleration and persistence of neurofibrillary pathology in a mouse model of tauopathy following anesthesia', *FASEB J*, 23: 2595-604.
261. Pocernich, C. B., and D. A. Butterfield. 2012. 'Elevation of glutathione as a therapeutic strategy in Alzheimer disease', *Biochim Biophys Acta*, 1822: 625-30.
262. Poirier, J., J. Miron, C. Picard, P. Gormley, L. Theroux, J. Breitner, and D. Dea. 2014. 'Apolipoprotein E and lipid homeostasis in the etiology and treatment of sporadic Alzheimer's disease', *Neurobiol Aging*, 35 Suppl 2: S3-10.
263. Pollock, N. J., S. S. Mirra, L. I. Binder, L. A. Hansen, and J. G. Wood. 1986. 'Filamentous aggregates in Pick's disease, progressive supranuclear palsy, and Alzheimer's disease share antigenic determinants with microtubule-associated protein, tau', *Lancet*, 2: 1211.
264. Porquet, D., P. Andres-Benito, C. Grinan-Ferre, A. Camins, I. Ferrer, A. M. Canudas, J. Del Valle, and M. Pallas. 2015. 'Amyloid and tau pathology of familial Alzheimer's disease APP/PS1 mouse model in a senescence phenotype background (SAMP8)', *Age (Dordr)*, 37: 9747.
265. Potier, B., J. M. Billard, S. Riviere, P. M. Sinet, I. Denis, G. Champeil-Potokar, B. Grintal, A. Jouvenceau, M. Kollen, and P. Dutar. 2010. 'Reduction in glutamate uptake is associated with extrasynaptic NMDA and metabotropic glutamate receptor activation at the hippocampal CA1 synapse of aged rats', *Aging Cell*, 9: 722-35.
266. Pratico, D., K. Uryu, S. Leight, J. Q. Trojanoswki, and V. M. Lee. 2001. 'Increased lipid peroxidation precedes amyloid plaque formation in an animal model of Alzheimer amyloidosis', *J Neurosci*, 21: 4183-7.
267. Price, J. L., A. I. Ko, M. J. Wade, S. K. Tsou, D. W. McKeel, and J. C. Morris. 2001. 'Neuron number in the entorhinal cortex and CA1 in preclinical Alzheimer disease', *Arch Neurol*, 58: 1395-402.
268. Price, J. L., and J. C. Morris. 1999. 'Tangles and plaques in nondemented aging and "preclinical" Alzheimer's disease', *Ann Neurol*, 45: 358-68.
269. Profenno, L. A., A. P. Porsteinsson, and S. V. Faraone. 2010. 'Meta-analysis of Alzheimer's disease risk with obesity, diabetes, and related disorders', *BIOL PSYCHIATRY*, 67: 505-12.

270. Radde, R., T. Bolmont, S. A. Kaeser, J. Coomaraswamy, D. Lindau, L. Stoltze, M. E. Calhoun, F. Jaggi, H. Wolburg, S. Gengler, C. Haass, B. Ghetti, C. Czech, C. Holscher, P. M. Mathews, and M. Jucker. 2006. 'Abeta42-driven cerebral amyloidosis in transgenic mice reveals early and robust pathology', *EMBO Rep*, 7: 940-6.
271. Rasgon, N. L., D. Silverman, P. Siddarth, K. Miller, L. M. Ercoli, S. Elman, H. Lavretsky, S. C. Huang, M. E. Phelps, and G. W. Small. 2005. 'Estrogen use and brain metabolic change in postmenopausal women', *Neurobiol Aging*, 26: 229-35.
272. Raskind, M. A., E. R. Peskind, T. Wessel, and W. Yuan. 2000. 'Galantamine in AD: A 6-month randomized, placebo-controlled trial with a 6-month extension. The Galantamine USA-1 Study Group', *Neurology*, 54: 2261-8.
273. Reinikainen, K. J., L. Paljarvi, M. Huuskonen, H. Soininen, M. Laakso, and P. J. Riekkinen. 1988. 'A post-mortem study of noradrenergic, serotonergic and GABAergic neurons in Alzheimer's disease', *J Neurol Sci*, 84: 101-16.
274. Riddell, D. R., H. Zhou, K. Atchison, H. K. Warwick, P. J. Atkinson, J. Jefferson, L. Xu, S. Aschmies, Y. Kirksey, Y. Hu, E. Wagner, A. Parratt, J. Xu, Z. Li, M. M. Zaleska, J. S. Jacobsen, M. N. Pangalos, and P. H. Reinhart. 2008. 'Impact of apolipoprotein E (ApoE) polymorphism on brain ApoE levels', *J Neurosci*, 28: 11445-53.
275. Ries, M., and M. Sastre. 2016. 'Mechanisms of Abeta Clearance and Degradation by Glial Cells', *Front Aging Neurosci*, 8: 160.
276. Ritchie, C., N. Smailagic, A. H. Noel-Storr, O. Ukoumunne, E. C. Ladds, and S. Martin. 2017. 'CSF tau and the CSF tau/ABeta ratio for the diagnosis of Alzheimer's disease dementia and other dementias in people with mild cognitive impairment (MCI)', *Cochrane Database Syst Rev*, 3: CD010803.
277. Rivera, E. J., A. Goldin, N. Fulmer, R. Tavares, J. R. Wands, and S. M. de la Monte. 2005. 'Insulin and insulin-like growth factor expression and function deteriorate with progression of Alzheimer's disease: link to brain reductions in acetylcholine', *J Alzheimers Dis*, 8: 247-68.
278. Rodriguez-Arellano, J. J., V. Parpura, R. Zorec, and A. Verkhratsky. 2016. 'Astrocytes in physiological aging and Alzheimer's disease', *Neuroscience*, 323: 170-82.
279. Rogaeva, E. A., K. C. Fafel, Y. Q. Song, H. Medeiros, C. Sato, Y. Liang, E. Richard, E. I. Rogaev, P. Frommelt, A. D. Sadovnick, W. Meschino, K. Rockwood, M. A. Boss, R. Mayeux, and P. St George-Hyslop. 2001. 'Screening for PS1 mutations in a referral-based series of AD cases: 21 novel mutations', *Neurology*, 57: 621-5.
280. Ronnema, E., B. Zethelius, L. Lannfelt, and L. Kilander. 2011. 'Vascular risk factors and dementia: 40-year follow-up of a population-based cohort', *Dement Geriatr Cogn Disord*, 31: 460-6.
281. Rupaimoole, R., and F. J. Slack. 2017. 'MicroRNA therapeutics: towards a new era for the management of cancer and other diseases', *Nat Rev Drug Discov*, 16: 203-22.
282. Rupp, N. J., B. M. Wegenast-Braun, R. Radde, M. E. Calhoun, and M. Jucker. 2011. 'Early onset amyloid lesions lead to severe neuritic abnormalities

- and local, but not global neuron loss in APPPS1 transgenic mice', *Neurobiol Aging*, 32: 2324 e1-6.
283. Sabbagh, J. J., J. W. Kinney, and J. L. Cummings. 2013. 'Animal systems in the development of treatments for Alzheimer's disease: challenges, methods, and implications', *Neurobiol Aging*, 34: 169-83.
284. Sakurai, R., and M. Montero-Odasso. 2017. 'Apolipoprotein E4 Allele and Gait Performance in Mild Cognitive Impairment: Results From the Gait and Brain Study', *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*.
285. Salem, N., Jr., M. Vandal, and F. Calon. 2015. 'The benefit of docosahexaenoic acid for the adult brain in aging and dementia', *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, 92: 15-22.
286. Salloway, S., R. Sperling, and H. R. Brashear. 2014. 'Phase 3 trials of solanezumab and bapineuzumab for Alzheimer's disease', *N Engl J Med*, 370: 1460.
287. Sando, S. B., S. Melquist, A. Cannon, M. L. Hutton, O. Sletvold, I. Saltvedt, L. R. White, S. Lydersen, and J. O. Aasly. 2008. 'APOE epsilon 4 lowers age at onset and is a high risk factor for Alzheimer's disease; a case control study from central Norway', *BMC Neurol*, 8: 9.
288. Sasaguri, H., P. Nilsson, S. Hashimoto, K. Nagata, T. Saito, B. De Strooper, J. Hardy, R. Vassar, B. Winblad, and T. C. Saido. 2017. 'APP mouse models for Alzheimer's disease preclinical studies', *EMBO J*, 36: 2473-87.
289. Scarmeas, N., Y. Stern, M. X. Tang, R. Mayeux, and J. A. Luchsinger. 2006. 'Mediterranean diet and risk for Alzheimer's disease', *Ann Neurol*, 59: 912-21.
290. Scheff, S. W., D. A. Price, F. A. Schmitt, and E. J. Mufson. 2006. 'Hippocampal synaptic loss in early Alzheimer's disease and mild cognitive impairment', *Neurobiol Aging*, 27: 1372-84.
291. Scheltens, P., K. Blennow, M. M. Breteler, B. de Strooper, G. B. Frisoni, S. Salloway, and W. M. Van der Flier. 2016. 'Alzheimer's disease', *Lancet*, 388: 505-17.
292. Scheltens, P., D. Leys, F. Barkhof, D. Huglo, H. C. Weinstein, P. Vermersch, M. Kuiper, M. Steinling, E. C. Wolters, and J. Valk. 1992. 'Atrophy of medial temporal lobes on MRI in "probable" Alzheimer's disease and normal ageing: diagnostic value and neuropsychological correlates', *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 55: 967-72.
293. Schneider, L. S., F. Mangialasche, N. Andreasen, H. Feldman, E. Giacobini, R. Jones, V. Mantua, P. Mecocci, L. Pani, B. Winblad, and M. Kivipelto. 2014. 'Clinical trials and late-stage drug development for Alzheimer's disease: an appraisal from 1984 to 2014', *J Intern Med*, 275: 251-83.
294. Schuff, N., N. Woerner, L. Boreta, T. Kornfield, L. M. Shaw, J. Q. Trojanowski, P. M. Thompson, C. R. Jack, Jr., M. W. Weiner, and Initiative Alzheimer's Disease Neuroimaging. 2009. 'MRI of hippocampal volume loss in early Alzheimer's disease in relation to ApoE genotype and biomarkers', *Brain*, 132: 1067-77.
295. Schutt, T., L. Helboe, L. O. Pedersen, G. Waldemar, M. Berendt, and J. T. Pedersen. 2016. 'Dogs with Cognitive Dysfunction as a Spontaneous Model for Early Alzheimer's Disease: A Translational Study of Neuropathological and Inflammatory Markers', *J Alzheimers Dis*, 52: 433-49.

296. Scott, H. A., F. M. Gebhardt, A. D. Mitrovic, R. J. Vandenberg, and P. R. Dodd. 2011. 'Glutamate transporter variants reduce glutamate uptake in Alzheimer's disease', *Neurobiol Aging*, 32: 553 e1-11.
297. Sekhar, R. V., S. G. Patel, A. P. Guthikonda, M. Reid, A. Balasubramanyam, G. E. Taffet, and F. Jahoor. 2011. 'Deficient synthesis of glutathione underlies oxidative stress in aging and can be corrected by dietary cysteine and glycine supplementation', *Am J Clin Nutr*, 94: 847-53.
298. Serneels, L., J. Van Biervliet, K. Craessaerts, T. Dejaegere, K. Horre, T. Van Houtvin, H. Esselmann, S. Paul, M. K. Schafer, O. Berezovska, B. T. Hyman, B. Sprangers, R. Sciot, L. Moons, M. Jucker, Z. Yang, P. C. May, E. Karran, J. Wiltfang, R. D'Hooge, and B. De Strooper. 2009. 'gamma-Secretase heterogeneity in the Aph1 subunit: relevance for Alzheimer's disease', *Science*, 324: 639-42.
299. Shankar, G. M., S. Li, T. H. Mehta, A. Garcia-Munoz, N. E. Shepardson, I. Smith, F. M. Brett, M. A. Farrell, M. J. Rowan, C. A. Lemere, C. M. Regan, D. M. Walsh, B. L. Sabatini, and D. J. Selkoe. 2008. 'Amyloid-beta protein dimers isolated directly from Alzheimer's brains impair synaptic plasticity and memory', *Nat Med*, 14: 837-42.
300. Shimada, A. 1999. 'Age-dependent cerebral atrophy and cognitive dysfunction in SAMP10 mice', *Neurobiol Aging*, 20: 125-36.
301. Shimada, A., H. Keino, M. Satoh, M. Kishikawa, and M. Hosokawa. 2003. 'Age-related loss of synapses in the frontal cortex of SAMP10 mouse: a model of cerebral degeneration', *Synapse*, 48: 198-204.
302. Silva, B. R., L. Pernomian, and L. M. Bendhack. 2012. 'Contribution of oxidative stress to endothelial dysfunction in hypertension', *Front Physiol*, 3: 441.
303. Simic, G., M. Babic Leko, S. Wray, C. Harrington, I. Delalle, N. Jovanov-Milosevic, D. Bazadona, L. Buee, R. de Silva, G. Di Giovanni, C. Wischik, and P. R. Hof. 2016. 'Tau Protein Hyperphosphorylation and Aggregation in Alzheimer's Disease and Other Tauopathies, and Possible Neuroprotective Strategies', *Biomolecules*, 6: 6.
304. Small, G. W., J. C. Mazziotta, M. T. Collins, L. R. Baxter, M. E. Phelps, M. A. Mandelkern, A. Kaplan, A. La Rue, C. F. Adamson, L. Chang, and et coll. 1995. 'Apolipoprotein E type 4 allele and cerebral glucose metabolism in relatives at risk for familial Alzheimer disease', *JAMA*, 273: 942-7.
305. Smith, P. Y., J. Hernandez-Rapp, F. Jolivet, C. Lecours, K. Bisht, C. Goupil, V. Dorval, S. Parsi, F. Morin, E. Planel, D. A. Bennett, F. J. Fernandez-Gomez, N. Sergeant, L. Buee, M. E. Tremblay, F. Calon, and S. S. Hebert. 2015. 'miR-132/212 deficiency impairs tau metabolism and promotes pathological aggregation in vivo', *Hum Mol Genet*, 24: 6721-35.
306. Snyder, H. M., S. Asthana, L. Bain, R. Brinton, S. Craft, D. B. Dubal, M. A. Espeland, M. Gatz, M. M. Mielke, J. Raber, P. R. Rapp, K. Yaffe, and M. C. Carrillo. 2016. 'Sex biology contributions to vulnerability to Alzheimer's disease: A think tank convened by the Women's Alzheimer's Research Initiative', *Alzheimers Dement*, 12: 1186-96.
307. Sorensen, L., C. Igel, N. Liv Hansen, M. Osler, M. Lauritzen, E. Rostrup, M. Nielsen, Initiative Alzheimer's Disease Neuroimaging, Biomarkers the

- Australian Imaging, and Ageing Lifestyle Flagship Study of. 2016. 'Early detection of Alzheimer's disease using MRI hippocampal texture', *Hum Brain Mapp*, 37: 1148-61.
308. Sorensen, L., C. Igel, A. Pai, I. Balas, C. Anker, M. Lillholm, M. Nielsen, Initiative Alzheimer's Disease Neuroimaging, Biomarkers the Australian Imaging, and ageing Lifestyle flagship study of. 2017. 'Differential diagnosis of mild cognitive impairment and Alzheimer's disease using structural MRI cortical thickness, hippocampal shape, hippocampal texture, and volumetry', *Neuroimage Clin*, 13: 470-82.
309. Spoelgen, R., C. A. von Arnim, A. V. Thomas, I. D. Peltan, M. Koker, A. Deng, M. C. Irizarry, O. M. Andersen, T. E. Willnow, and B. T. Hyman. 2006. 'Interaction of the cytosolic domains of sorLA/LR11 with the amyloid precursor protein (APP) and beta-secretase beta-site APP-cleaving enzyme', *J Neurosci*, 26: 418-28.
310. St-Amour, I., I. Pare, C. Tremblay, K. Coulombe, R. Bazin, and F. Calon. 2014. 'IVIg protects the 3xTg-AD mouse model of Alzheimer's disease from memory deficit and A β pathology', *J Neuroinflammation*, 11: 54.
311. Sterniczuk, R., M. C. Antle, F. M. Laferla, and R. H. Dyck. 2010. 'Characterization of the 3xTg-AD mouse model of Alzheimer's disease: part 2. Behavioral and cognitive changes', *Brain Res*, 1348: 149-55.
312. Sterniczuk, R., R. H. Dyck, F. M. Laferla, and M. C. Antle. 2010. 'Characterization of the 3xTg-AD mouse model of Alzheimer's disease: part 1. Circadian changes', *Brain Res*, 1348: 139-48.
313. Stover, K. R., M. A. Campbell, C. M. Van Winssen, and R. E. Brown. 2015. 'Early detection of cognitive deficits in the 3xTg-AD mouse model of Alzheimer's disease', *Behav Brain Res*, 289: 29-38.
314. Summers, W. K., A. L. Koehler, G. M. Marsh, K. Tachiki, and A. Kling. 1989. 'Long-term hepatotoxicity of tacrine', *Lancet*, 1: 729.
315. Sze, C. I., J. C. Troncoso, C. Kawas, P. Mouton, D. L. Price, and L. J. Martin. 1997. 'Loss of the presynaptic vesicle protein synaptophysin in hippocampus correlates with cognitive decline in Alzheimer disease', *J Neuropathol Exp Neurol*, 56: 933-44.
316. Tacik, P., M. Sanchez-Contreras, M. DeTure, M. E. Murray, R. Rademakers, O. A. Ross, Z. K. Wszolek, J. E. Parisi, D. S. Knopman, R. C. Petersen, and D. W. Dickson. 2017. 'Clinicopathologic heterogeneity in frontotemporal dementia and parkinsonism linked to chromosome 17 (FTDP-17) due to microtubule-associated protein tau (MAPT) p.P301L mutation, including a patient with globular glial tauopathy', *Neuropathol Appl Neurobiol*, 43: 200-14.
317. Tagliavini, F., G. Giaccone, B. Frangione, and O. Bugiani. 1988. 'Pre-amyloid deposits in the cerebral cortex of patients with Alzheimer's disease and nondemented individuals', *Neurosci Lett*, 93: 191-6.
318. Tai, L. M., T. Bilousova, L. Jungbauer, S. K. Roeske, K. L. Youmans, C. Yu, W. W. Poon, L. B. Cornwell, C. A. Miller, H. V. Vinters, L. J. Van Eldik, D. W. Fardo, S. Estus, G. Bu, K. H. Gylys, and M. J. Ladu. 2013. 'Levels of soluble apolipoprotein E/amyloid-beta (A β) complex are reduced and oligomeric A β increased with APOE4 and Alzheimer disease in a transgenic mouse model and human samples', *J Biol Chem*, 288: 5914-26.

319. Tai, L. M., S. Mehra, V. Shete, S. Estus, G. W. Rebeck, G. Bu, and M. J. LaDu. 2014. 'Soluble apoE/Abeta complex: mechanism and therapeutic target for APOE4-induced AD risk', *Mol Neurodegener*, 9: 2.
320. Takahashi, H., I. Brasnjevic, B. P. Rutten, N. Van Der Kolk, D. P. Perl, C. Bouras, H. W. Steinbusch, C. Schmitz, P. R. Hof, and D. L. Dickstein. 2010. 'Hippocampal interneuron loss in an APP/PS1 double mutant mouse and in Alzheimer's disease', *Brain Struct Funct*, 214: 145-60.
321. Takeda, T., M. Hosokawa, and K. Higuchi. 1997. 'Senescence-accelerated mouse (SAM): a novel murine model of senescence', *Exp Gerontol*, 32: 105-9.
322. Takeda, T., M. Hosokawa, K. Higuchi, M. Hosono, I. Akiguchi, and H. Katoh. 1994. 'A novel murine model of aging, Senescence-Accelerated Mouse (SAM)', *Arch Gerontol Geriatr*, 19: 185-92.
323. Takeda, T., M. Hosokawa, S. Takeshita, M. Irino, K. Higuchi, T. Matsushita, Y. Tomita, K. Yasuhira, H. Hamamoto, K. Shimizu, M. Ishii, and T. Yamamuro. 1981. 'A new murine model of accelerated senescence', *Mech Ageing Dev*, 17: 183-94.
324. Takemura, M., S. Nakamura, I. Akiguchi, M. Ueno, N. Oka, S. Ishikawa, A. Shimada, J. Kimura, and T. Takeda. 1993. 'Beta/A4 proteinlike immunoreactive granular structures in the brain of senescence-accelerated mouse', *Am J Pathol*, 142: 1887-97.
325. Talbot, K., H. Y. Wang, H. Kazi, L. Y. Han, K. P. Bakshi, A. Stucky, R. L. Fuino, K. R. Kawaguchi, A. J. Samoyedny, R. S. Wilson, Z. Arvanitakis, J. A. Schneider, B. A. Wolf, D. A. Bennett, J. Q. Trojanowski, and S. E. Arnold. 2012. 'Demonstrated brain insulin resistance in Alzheimer's disease patients is associated with IGF-1 resistance, IRS-1 dysregulation, and cognitive decline', *J Clin Invest*, 122: 1316-38.
326. Tanisawa, K., E. Mikami, N. Fuku, Y. Honda, S. Honda, I. Ohsawa, M. Ito, S. Endo, K. Ihara, K. Ohno, Y. Kishimoto, A. Ishigami, N. Maruyama, M. Sawabe, H. Iseki, Y. Okazaki, S. Hasegawa-Ishii, S. Takei, A. Shimada, M. Hosokawa, M. Mori, K. Higuchi, T. Takeda, M. Higuchi, and M. Tanaka. 2013. 'Exome sequencing of senescence-accelerated mice (SAM) reveals deleterious mutations in degenerative disease-causing genes', *BMC Genomics*, 14: 248.
327. Thomason, L. A., L. J. Smithson, L. N. Hazrati, J. McLaurin, and M. D. Kawaja. 2013. 'Reactive astrocytes associated with plaques in TgCRND8 mouse brain and in human Alzheimer brain express phosphoprotein enriched in astrocytes (PEA-15)', *FEBS Lett*, 587: 2448-54.
328. Thornton, E., R. Vink, P. C. Blumbergs, and C. Van Den Heuvel. 2006. 'Soluble amyloid precursor protein alpha reduces neuronal injury and improves functional outcome following diffuse traumatic brain injury in rats', *Brain Res*, 1094: 38-46.
329. Tokuda, T., M. Calero, E. Matsubara, R. Vidal, A. Kumar, B. Permanne, B. Zlokovic, J. D. Smith, M. J. Ladu, A. Rostagno, B. Frangione, and J. Ghiso. 2000. 'Lipidation of apolipoprotein E influences its isoform-specific interaction with Alzheimer's amyloid beta peptides', *Biochem J*, 348 Pt 2: 359-65.
330. Tournissac, M., M. Vandal, A. Francois, E. Planel, and F. Calon. 2017. 'Old age potentiates cold-induced tau phosphorylation: linking thermoregulatory deficit with Alzheimer's disease', *Neurobiol Aging*, 50: 25-29.

331. Traversy, M. T., M. Vandal, C. Tremblay, M. Tournissac, A. Giguere-Rancourt, A. D. Bennett, and F. Calon. 2016. 'Altered cerebral insulin response in transgenic mice expressing the epsilon-4 allele of the human apolipoprotein E gene', *Psychoneuroendocrinology*, 77: 203-10.
332. Tremblay, C., A. Francois, C. Delay, L. Freland, M. Vandal, D. A. Bennett, and F. Calon. 2017. 'Association of Neuropathological Markers in the Parietal Cortex With Antemortem Cognitive Function in Persons With Mild Cognitive Impairment and Alzheimer Disease', *J Neuropathol Exp Neurol*.
333. Tremblay, C., M. Pilote, A. Phivilay, V. Emond, D. A. Bennett, and F. Calon. 2007. 'Biochemical characterization of Abeta and tau pathologies in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease', *J Alzheimers Dis*, 12: 377-90.
334. Tripathy, D., X. Yin, A. Sanchez, J. Luo, J. Martinez, and P. Grammas. 2010. 'Cerebrovascular expression of proteins related to inflammation, oxidative stress and neurotoxicity is altered with aging', *J Neuroinflammation*, 7: 63.
335. Tu, S., S. Okamoto, S. A. Lipton, and H. Xu. 2014. 'Oligomeric Abeta-induced synaptic dysfunction in Alzheimer's disease', *Mol Neurodegener*, 9: 48.
336. Tyas, S. L., J. Manfreda, L. A. Strain, and P. R. Montgomery. 2001. 'Risk factors for Alzheimer's disease: a population-based, longitudinal study in Manitoba, Canada', *Int J Epidemiol*, 30: 590-7.
337. Unal-Cevik, I., M. Kilinc, Y. Gursoy-Ozdemir, G. Gurer, and T. Dalkara. 2004. 'Loss of NeuN immunoreactivity after cerebral ischemia does not indicate neuronal cell loss: a cautionary note', *Brain Res*, 1015: 169-74.
338. Van Dam, D., R. D'Hooge, M. Staufenbiel, C. Van Ginneken, F. Van Meir, and P. P. De Deyn. 2003. 'Age-dependent cognitive decline in the APP23 model precedes amyloid deposition', *Eur J Neurosci*, 17: 388-96.
339. Van Dam, D., and P. P. De Deyn. 2011. 'Animal models in the drug discovery pipeline for Alzheimer's disease', *Br J Pharmacol*, 164: 1285-300.
340. Vandal, M., P. J. White, G. Chevrier, C. Tremblay, I. St-Amour, E. Planel, A. Marette, and F. Calon. 2015. 'Age-dependent impairment of glucose tolerance in the 3xTg-AD mouse model of Alzheimer's disease', *FASEB J*, 29: 4273-84.
341. Vandal, M., P. J. White, M. Tournissac, C. Tremblay, I. St-Amour, J. Drouin-Ouellet, M. Bousquet, M. T. Traversy, E. Planel, A. Marette, and F. Calon. 2016. 'Impaired thermoregulation and beneficial effects of thermoneutrality in the 3xTg-AD model of Alzheimer's disease', *Neurobiol Aging*, 43: 47-57.
342. Vandal, M., P. J. White, C. Tremblay, I. St-Amour, G. Chevrier, V. Emond, D. Lefrancois, J. Virgili, E. Planel, Y. Giguere, A. Marette, and F. Calon. 2014. 'Insulin reverses the high-fat diet-induced increase in brain Abeta and improves memory in an animal model of Alzheimer disease', *Diabetes*, 63: 4291-301.
343. Verghese, P. B., J. M. Castellano, K. Garai, Y. Wang, H. Jiang, A. Shah, G. Bu, C. Frieden, and D. M. Holtzman. 2013. 'ApoE influences amyloid-beta (Abeta) clearance despite minimal apoE/Abeta association in physiological conditions', *Proc Natl Acad Sci U S A*, 110: E1807-16.
344. von Strauss, E., M. Viitanen, D. De Ronchi, B. Winblad, and L. Fratiglioni. 1999. 'Aging and the occurrence of dementia: findings from a population-based cohort with a large sample of nonagenarians', *Arch Neurol*, 56: 587-92.
345. Wang, Y., and E. Mandelkow. 2016. 'Tau in physiology and pathology', *Nat Rev Neurosci*, 17: 5-21.

346. Ward, A., S. Crean, C. J. Mercaldi, J. M. Collins, D. Boyd, M. N. Cook, and H. M. Arrighi. 2012. 'Prevalence of apolipoprotein E4 genotype and homozygotes (APOE e4/4) among patients diagnosed with Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis', *Neuroepidemiology*, 38: 1-17.
347. Watkins, P. B., H. J. Zimmerman, M. J. Knapp, S. I. Gracon, and K. W. Lewis. 1994. 'Hepatotoxic effects of tacrine administration in patients with Alzheimer's disease', *JAMA*, 271: 992-8.
348. Wei, X., Y. Zhang, and J. Zhou. 1999. 'Alzheimer's disease-related gene expression in the brain of senescence accelerated mouse', *Neurosci Lett*, 268: 139-42.
349. Weisgraber, K. H., S. C. Rall, Jr., and R. W. Mahley. 1981. 'Human E apoprotein heterogeneity. Cysteine-arginine interchanges in the amino acid sequence of the apo-E isoforms', *J Biol Chem*, 256: 9077-83.
350. Wilcock, D. M., M. N. Gordon, and D. Morgan. 2006. 'Quantification of cerebral amyloid angiopathy and parenchymal amyloid plaques with Congo red histochemical stain', *Nat Protoc*, 1: 1591-5.
351. Wildsmith, K. R., M. Holley, J. C. Savage, R. Skerrett, and G. E. Landreth. 2013. 'Evidence for impaired amyloid beta clearance in Alzheimer's disease', *Alzheimers Res Ther*, 5: 33.
352. Wilson, R. S., C. F. Mendes De Leon, L. L. Barnes, J. A. Schneider, J. L. Bienias, D. A. Evans, and D. A. Bennett. 2002. 'Participation in cognitively stimulating activities and risk of incident Alzheimer disease', *JAMA*, 287: 742-8.
353. Winblad, B., P. Amouyel, S. Andrieu, C. Ballard, C. Brayne, H. Brodaty, A. Cedazo-Minguez, B. Dubois, D. Edvardsson, H. Feldman, L. Fratiglioni, G. B. Frisoni, S. Gauthier, J. Georges, C. Graff, K. Iqbal, F. Jessen, G. Johansson, L. Jonsson, M. Kivipelto, M. Knapp, F. Mangialasche, R. Melis, A. Nordberg, M. O. Rikkert, C. Qiu, T. P. Sakmar, P. Scheltens, L. S. Schneider, R. Sperling, L. O. Tjernberg, G. Waldemar, A. Wimo, and H. Zetterberg. 2016. 'Defeating Alzheimer's disease and other dementias: a priority for European science and society', *Lancet Neurol*, 15: 455-532.
354. Winblad, B., G. Grossberg, L. Frolich, M. Farlow, S. Zechner, J. Nagel, and R. Lane. 2007. 'IDEAL: a 6-month, double-blind, placebo-controlled study of the first skin patch for Alzheimer disease', *Neurology*, 69: S14-22.
355. Winblad, B., L. Kilander, S. Eriksson, L. Minthon, S. Batsman, A. L. Wetterholm, C. Jansson-Blixt, A. Haglund, and Group Severe Alzheimer's Disease Study. 2006. 'Donepezil in patients with severe Alzheimer's disease: double-blind, parallel-group, placebo-controlled study', *Lancet*, 367: 1057-65.
356. Wippold, F. J., 2nd, N. Cairns, K. Vo, D. M. Holtzman, and J. C. Morris. 2008. 'Neuropathology for the neuroradiologist: plaques and tangles', *AJNR Am J Neuroradiol*, 29: 18-22.
357. Yanai, S., and S. Endo. 2016. 'Early onset of behavioral alterations in senescence-accelerated mouse prone 8 (SAMP8)', *Behav Brain Res*, 308: 187-95.
358. Yang, L. B., K. Lindholm, R. Yan, M. Citron, W. Xia, X. L. Yang, T. Beach, L. Sue, P. Wong, D. Price, R. Li, and Y. Shen. 2003. 'Elevated beta-secretase expression and enzymatic activity detected in sporadic Alzheimer disease', *Nat Med*, 9: 3-4.

359. Yao, Y., C. Chinnici, H. Tang, J. Q. Trojanowski, V. M. Lee, and D. Pratico. 2004. 'Brain inflammation and oxidative stress in a transgenic mouse model of Alzheimer-like brain amyloidosis', *J Neuroinflammation*, 1: 21.
360. Yasar, S., J. Y. Ko, S. Nothelle, M. M. Mielke, and M. C. Carlson. 2011. 'Evaluation of the effect of systolic blood pressure and pulse pressure on cognitive function: the Women's Health and Aging Study II', *PLoS One*, 6: e27976.
361. Youmans, K. L., L. M. Tai, E. Nwabuisi-Heath, L. Jungbauer, T. Kanekiyo, M. Gan, J. Kim, W. A. Eimer, S. Estus, G. W. Rebeck, E. J. Weeber, G. Bu, C. Yu, and M. J. Ladu. 2012. 'APOE4-specific changes in Abeta accumulation in a new transgenic mouse model of Alzheimer disease', *J Biol Chem*, 287: 41774-86.
362. Yu, B. P. 1994. 'Cellular defenses against damage from reactive oxygen species', *Physiol Rev*, 74: 139-62.
363. Yuan, M., Z. Wen-Xia, C. Jun-Ping, and Z. Yong-Xiang. 2005. 'Age-related changes in the oestrous cycle and reproductive hormones in senescence-accelerated mouse', *Reprod Fertil Dev*, 17: 507-12.
364. Yuki, D., Y. Sugiura, N. Zaima, H. Akatsu, S. Takei, I. Yao, M. Maesako, A. Kinoshita, T. Yamamoto, R. Kon, K. Sugiyama, and M. Setou. 2014. 'DHA-PC and PSD-95 decrease after loss of synaptophysin and before neuronal loss in patients with Alzheimer's disease', *Sci Rep*, 4: 7130.
365. Zekanowski, C., M. Styczynska, B. Peplonska, T. Gabryelewicz, D. Religa, J. Ilkowski, B. Kijanowska-Haladyna, S. Kotapka-Minc, S. Mikkelsen, A. Pfeffer, A. Barczak, E. Luczywek, B. Wasiak, M. Chodakowska-Zebrowska, K. Gustaw, J. Laczkowski, T. Sobow, J. Kuznicki, and M. Barcikowska. 2003. 'Mutations in presenilin 1, presenilin 2 and amyloid precursor protein genes in patients with early-onset Alzheimer's disease in Poland', *Exp Neurol*, 184: 991-6.
366. Zhu, L., J. Yu, Q. Shi, W. Lu, B. Liu, S. Xu, L. Wang, J. Han, and X. Wang. 2011. 'Strain- and age-related alteration of proteins in the brain of SAMP8 and SAMR1 mice', *J Alzheimers Dis*, 23: 641-54.

Chapitre 6 : Annexe : autres contributions

Au cours de mes stages de recherche d'été et de ma maîtrise, tous réalisés dans le laboratoire du Dr. Frédéric Calon, j'ai eu l'opportunité de participer à plusieurs projets parallèles.

Depuis l'été 2012, je travaille à mieux comprendre comment l'insuline agit au niveau du système nerveux central sous la supervision de Milène Vandal, une ancienne étudiante au doctorat du laboratoire. Mes travaux au cours de mes stages m'ont permis d'avoir mon nom comme co-auteur (8^e auteur) dans l'article « *Insulin reverses the high-fat diet-induced increase in brain A β and improves memory in an animal model of Alzheimer disease* » publié en 2014 dans le journal *Diabetes*.

Par la suite, au début de ma maîtrise à l'été 2015, j'ai eu l'occasion de planifier mon propre projet qui visait à étudier la signalisation de l'insuline dans les cellules endothéliales des capillaires cérébraux dans un modèle triple-transgénique de la MA, la souris 3xTg-AD. Les souris ont été nourries sur diète contrôle ou enrichie en gras durant 9 mois. Au sacrifice, les souris ont reçu une dose intraveineuse d'insuline (3,8 unités par Kg) et ont été perfusées à l'aide d'une solution à base de sucrose (cryopréservation) et de saline. Par la suite, à l'aide d'une solution de dextran, j'ai procédé à l'isolation des capillaires cérébraux et j'ai procédé aux mesures par immunobuvardage de type Western de mes protéines d'intérêts. L'hypothèse du projet était de montrer que la signalisation cellulaire cérébrale diffère dans la maladie d'Alzheimer et le diabète de type 2. Ultiment, nous voulons vérifier si le transport de l'insuline est altéré dans ces conditions pathologiques.

Enfin, j'ai également participé à la rédaction d'une revue de littérature en lien avec la pharmacothérapie du tremblement essentiel. L'article « *Le tremblement essentiel : où en sommes-nous ?* », dont j'en suis la première auteure, a été

publiée dans le journal *Pharmactuel* à l'automne 2016 (disponible en ligne). Cette revue de littérature visait à résumer les différents traitements et à exposer les données probantes disponibles afin de guider les cliniciens dans leur choix de traitement. Une copie de l'article n'a pu être jointe au mémoire en raison des politiques de droits d'auteur et de reproduction. Considérant que le sujet principal du mémoire porte sur la MA, et non sur le tremblement essentiel, aucune démarche n'a été initiée afin d'obtenir une autorisation de reproduction du texte dans son intégralité.

4.1 Résumé en français de l'article « *Le tremblement essentiel : où en sommes-nous ?* »

Objectifs : Discuter des modalités de traitement du tremblement essentiel.

Source des données : Une revue de la documentation scientifique portant sur la pharmacothérapie du tremblement essentiel a été effectuée en recherchant des articles à partir de Pubmed entre 1975 et 2015 à l'aide des mots-clés suivants : adult, alprazolam, atenolol, benzodiazepines, botulinum toxin, clonazepam, deep brain stimulation, diazepam, essential tremor, gabapentin, lorazepam, metoprolol, nadolol, pediatrics, pharmacotherapy, phenobarbital, primidone, propranolol, sotalol, thalamotomy, topiramate. Les lignes directrices de l'American Academy of Neurology sur les traitements du tremblement essentiel révisées en 2011 ont également été consultées.

Analyse des données : Le faible nombre d'essais cliniques à répartition aléatoire publiés et le nombre de patients inclus dans ces études sont deux problèmes fréquemment associés à la majorité des traitements étudiés pour le tremblement essentiel. De plus, les outils utilisés dans les essais cliniques pour évaluer l'efficacité des traitements à l'étude ne sont pas toujours bien décrits, ce qui rend l'interprétation des données complexe. Aucun essai clinique à répartition aléatoire n'a été publié sur le traitement du tremblement essentiel de l'enfant et de l'adolescent.

Conclusion : Le tremblement essentiel est une maladie mal connue. Les traitements pharmacologiques ne permettent pas de guérir la maladie, mais vont plutôt atténuer les symptômes. Le propranolol et la primidone demeurent les agents pharmacologiques de première ligne pour l'adulte. Pour l'enfant et l'adolescent, la pharmacothérapie est rarement nécessaire, bien que le propranolol soit parfois utilisé en premier recours dans les cas plus sévères.

Citation complète : Virgili J, Faucher-Genest A, Aubry-Lafontaine É, Dupré N, Calon F. 2016. *Le tremblement essentiel : où en sommes-nous ?* Pharmactuel. Vol 49 (3) :164-175.