

UNIVERSITÉ LILLE - NORD DE FRANCE
UNIVERSITÉ DROIT ET SANTÉ DE LILLE 2

École Doctorale Biologie-Santé (ED446)

THÈSE

Pour l'obtention du grade de
DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE LILLE 2
Spécialité : neurosciences

Présentée par

Antoine Leboucher

**METABOLISME PERIPHERIQUE, TAU ET MALADIE
D'ALZHEIMER : UNE RELATION RECIPROQUE ?**

Soutenue publiquement le 11 Décembre 2012 devant le Jury composé de :

M. le Pr. Jacques Epelbaum

M. le Dr. Guillaume Ferreira

M. le Pr. Pascal Pigny

M. le Dr. David Blum

Rapporteur

Rapporteur

Président du Jury

Directeur de Thèse

*à mes parents,
à Marie-Lise*

RESUME

La maladie d'Alzheimer (MA) est un problème majeur de santé publique. L'un des symptômes le plus précoce et le plus caractéristique de la MA est la perte de mémoire. Son diagnostic formel est établi par l'examen neuropathologique post-mortem du cerveau des patients. Il est basé sur la présence conjointe de deux lésions caractéristiques : des dépôts extracellulaires composés de peptide b-amyloïde, dérivant du clivage anormal de la protéine APP, et la dégénérescence neurofibrillaire, caractérisée par une accumulation intraneuronale de protéines Tau hyper- et anormalement phosphorylées. L'évolution spatio-temporelle de la pathologie Tau dans le cerveau des patients est corrélée à l'évolution clinique de la MA.

La MA est une maladie multifactorielle dont l'apparition peut être influencée par divers facteurs génétiques ou environnementaux, tels l'allèle ApoE ϵ 4, différents polymorphismes ainsi que le vieillissement ou la ménopause, par exemple. Depuis une dizaine d'années des études épidémiologiques ont mis en évidence l'existence d'une relation entre le statut métabolique des individus durant leur vie adulte et l'augmentation du risque de développer la MA à un âge plus avancé. En effet, l'incidence de la MA est doublée chez les sujets souffrant de diabète de type 2, et le cerveau des patients présente les caractéristiques d'une résistance à l'insuline. Il a également été rapporté que la présence d'une obésité ou d'un surpoids à la mi-vie sont des facteurs de risque importants pour le développement de cette maladie. De façon intéressante, le facteur de risque s'inverse à un âge avancé, faisant du surpoids et de l'obésité des facteurs protecteurs lorsqu'ils sont présents en fin de vie chez les individus. D'autre part, la perte de poids peut être prédictive de la survenue d'une démence de type MA. Tous ces éléments suggèrent l'existence d'une interrelation entre le métabolisme et les mécanismes physiopathologiques liés à la MA. Cette relation physiopathologique qui lie les maladies métaboliques et la MA a été bien étudiée expérimentalement sur le plan de la pathologie amyloïde mais peu investiguée concernant la pathologie Tau. Précisément, l'effet d'une obésité établie de manière physiologique, donc nutritionnelle, sur le développement et la progression de la pathologie Tau n'a pas été évalué dans un modèle approprié.

Dans ce contexte, les travaux présentés dans cette thèse visent à étudier l'impact d'un régime riche en graisse, permettant le développement d'une obésité, sur le développement physiopathologique d'un modèle transgénique mimant le versant Tau de la MA, la souris THY-Tau22. Cette souris surexprime dans les neurones du cerveau la protéine Tau humaine mutée en 2 sites favorisant sa phosphorylation et son agrégation et présente une pathologie Tau hippocampique évolutive qui s'exprime en parallèle d'altérations mnésiques. Ainsi elle constitue un modèle particulièrement adapté à l'étude des conséquences comportementales, anatomo-pathologiques, biochimiques et transcriptomiques de la tauopathie de la MA.

Après induction d'une obésité et de ses conséquences métaboliques chez la souris THY-Tau22 de 7 mois, nous avons pu observer une perturbation des performances d'apprentissage accompagnée d'une aggravation de la pathologie Tau hippocampique. De façon intéressante, ces modifications pathologiques ont eu lieu en parallèle du maintien d'une bonne sensibilité à l'insuline périphérique et en présence d'une

activation de la voie de signalisation du récepteur à l'insuline dans l'hippocampe. Ces données remettent en cause le dogme établi dans la littérature, et suggèrent que les conséquences délétères d'une obésité sur Tau dans la MA peuvent être dissociées d'une résistance à l'insuline périphérique et centrale.

Sur le plan métabolique, lorsque nourries par un régime obésifiant, les souris THY-Tau22 de 7 mois présentent au contraire de leurs contrôles de portées wild-type une homéostasie glucidique peu détériorée. Afin de contrôler la véracité de ce phénotype nous avons entrepris la caractérisation métabolique de la lignée de souris THY-Tau22 via une étude longitudinale de 2 à 9 mois. Cette caractérisation a permis de mettre en évidence le caractère plus maigre de la souris THY-Tau22 comparé aux WT avec des différences de paramètres métaboliques qui s'accroissent au cours de la vie de la souris THY-Tau22. Afin de décrypter si cette particularité métabolique est le fruit du gain de fonction lié à l'accumulation de protéine Tau phosphorylée, un suivi longitudinal identique a été réalisé chez la souris Knock-out pour le gène Tau murin (KO-Tau). Les résultats indiquent que la souris KO-Tau présente un phénotype métabolique inverse à celui de la souris THY-Tau22, avec poids corporel augmenté et homéostasie glucidique altérée, suggérant que la protéine Tau puisse posséder un rôle dans l'homéostasie métabolique. En conclusion l'ensemble des résultats de cette thèse suggère par conséquent qu'une obésité provoque l'aggravation de la pathologie Tau de la MA, et ce, en l'absence d'une résistance à l'insuline. De plus, nous révélons l'existence d'une potentielle fonction inédite de la protéine Tau dont l'action au niveau central aurait des conséquences métaboliques périphériques.

ABSTRACT

Alzheimer's disease (AD) is a major public health problem. Memory loss is the most precocious and characteristic symptom of this disease. The certain diagnosis is established after post-mortem neuropathological examination of the patient's brain. It is based on the observation of both histological hallmarks: extracellular deposits made of amyloid- β peptide derived from abnormal processing of its precursor protein, and neurofibrillary tangles, characterized by intraneuronal accumulation of hyper- and abnormally phosphorylated Tau proteins. The spatio-temporal evolution of Tau pathology in the Alzheimer's brain is correlated to the severity of cognitive symptoms.

AD is a multifactorial disease that can be influenced by several genetic or environmental factors, such as ApoE ϵ 4 allele, genetic polymorphisms and ageing and menopause, for instance. Since a decade epidemiological studies have pointed out the existence of a relationship between the metabolic status of individuals during their adult's life and an increased risk of developing AD at an advanced age. Indeed, type 2 diabetes doubles the risk to have AD. Mid-life overweight and obesity are also important risk factors for the development of AD. Furthermore, weight loss may be predictive of an AD type dementia. These elements suggest a possible relationship between peripheral metabolism and physiopathological mechanisms related to AD. This relationship linking metabolic disorders and AD has been extensively studied in the amyloid part of AD, but few investigations have looked at these relationships with Tau pathology. Precisely, the effect of a nutritional and physiologically induced obesity on the development and progression of Tau pathology has not been evaluated in an appropriate model. In this context, the work presented in this thesis aim at studying the impact of an obesity induced by a high-fat diet on physiopathological development of a transgenic mouse model reproducing AD-like Tau pathology, the THY-Tau22 mouse. This mouse overexpresses in the neurons a human Tau protein, mutated on two sites favoring its phosphorylation and aggregation and exhibits a progressive hippocampal Tau pathology in parallel with learning and memory impairment. This mouse model therefore constitutes an appropriate model to study the behavioral, anatomo-pathologic, biochemical and transcriptomic consequences of AD-like Tauopathy.

Diet induced obesity and its metabolic disturbances in 7 months THY-Tau22 mice impaired learning and induced an aggravation of hippocampal Tau pathology. Interestingly, this pathological worsening occurred in parallel with healthy peripheral insulin sensitivity and activation of central insulin signaling. These data question the current dogma of the literature and suggest that deleterious consequences of obesity on Tau pathology could happen dissociated from peripheral and central insulin signaling. On the metabolic point of view, when fed high-fat, 7 months THY-Tau22 mice present, on the contrary of their littermate controls, a relative healthy glucose homeostasis. To control this phenotype we undertook the characterization of THY-Tau22 mice with a longitudinal study from 2 to 9 months. This characterization led us to underscore the leaner phenotype of THY-Tau22 compared to their WT counterparts, with increasing differences in metabolic parameters over age. In order to decipher if

this metabolic feature is due to a gain of function induced by the neuronal overexpression of Tau we realized the same phenotyping on a Tau knock-out mouse (KO-Tau). The results indicate that, in contrary to THY-Tau22 mice, KO-Tau mice present a mirrored metabolic phenotype with higher body weight and impaired glucose homeostasis, suggesting a possible role for Tau in metabolic homeostasis.

In conclusion, all the data presented in this thesis therefore suggest that obesity induce a worsening of AD-like Tau pathology that occurs dissociated from insulin resistance. Moreover, our study reveals the existence of a potential unpublished function of Tau protein whose action at central level could have peripheral metabolic consequences.

REMERCIEMENTS

Je tiens tout d'abord à remercier les différents membres de mon jury, le **Pr. Jacques Epelbaum**, le **Dr. Guillaume Ferreira** et le **Pr. Pascal Pigny** pour l'honneur qu'ils m'ont fait d'accepter de faire partie de mon jury de thèse et d'examiner ce travail. Je remercie en particulier le **Pr. Jacques Epelbaum** et le **Dr. Guillaume Ferreira** pour avoir accepté de lire avec minutie mon manuscrit de thèse et d'évaluer le travail effectué durant ces trois années de doctorat.

Je remercie le **Pr. Pierre Formstecher** pour m'avoir hébergé au sein du centre de recherche Jean-Pierre Aubert et de l'Unité Inserm 837.

Je voudrais remercier le **Dr. David Blum**, que j'ai la première fois rencontré en Juin 2009 au congrès de la société des neurosciences de Bordeaux et qui m'a ensuite chaleureusement accueilli au sein de sa jeune équipe, afin que je puisse réaliser mon doctorat sous sa responsabilité. Son investissement pour l'obtention de ma bourse de doctorat fût déterminant, n'étant pas un premier de promo, mes conditions d'entrée n'étaient pas complètement réunies mais il a pourtant habilement su convaincre ses pairs de me laisser ma chance, et ses conseils avisés pour l'oral de bourse ont fait favorablement pencher la balance. Pour cela je lui en suis très reconnaissant. David, travailler à tes côtés aura été très formateur, et aujourd'hui, lorsque l'on me dit "Antoine, tu as été Davidisé" je le prend pour un compliment! Qui d'autre que toi possèdes une rigueur et une abnégation comme les tiennes ? Même lors des trop nombreuses périodes de tempêtes qui ont rythmé cette thèse tu as toujours œuvré – sans que je m'en rende vraiment compte – pour me soutenir dans ces épreuves, et donc pour cela je t'en remercie sincèrement. Merci également pour m'avoir permis de assister au congrès des neurosciences américaines à Washington, et pour m'avoir fait participer à ce travail collaboratif à l'IMM de Lisbonne où j'ai pu parfaire mes connaissances. Ces deux expériences hors du labo restent un super souvenir, avec l'envie de recommencer. Merci pour tout.

Je voudrais communiquer ma gratitude au **Dr. Luc Buée** pour m'avoir accueilli au sein de son équipe de recherche Inserm U837 - Alzheimer & Tauopathies durant ces trois années de doctorat. Bien que constamment sollicité, entre ces murs ou à l'autre bout du monde, votre disponibilité, par téléphone, par mail ou de vive voix, vos conseils, scientifiques ou non m'ont permis de progresser au jour le jour, et puis finalement d'années en années. Merci encore pour tout.

Je tiens à adresser mes remerciements au **Pr. Bart Staels**, merci à vous pour les remarques pertinentes qui ont contribué à l'amélioration du manuscrit de mon article.

Je tiens à remercier le **Dr. Malika Hamdane** pour avoir été ma co-tutrice pendant la moitié de ma thèse, et pour toute l'aide apportée pendant ces 3 années. Tes conseils, ton expertise m'ont été très précieux dans la réalisation de ce travail.

Je remercie le **Pr. Sandrine Humez** pour avoir pris le temps de m'initier à cette

discipline difficile qu'est l'électrophysiologie. Je tiens également à vous remercier pour tous les conseils avisés prodigués lors de nos réunions hebdomadaires. Enfin, je tiens à vous remercier pour m'avoir chaleureusement accueillie chez vous pendant ces quelques jours de ma préparation à l'oral de bourse de thèse.

Merci au **Dr. Valérie Buée-Scherrer** pour avoir pris le temps de m'initier aux dosages de phosphatases, et pour ta bonne humeur quotidienne.

J'adresse mes plus francs remerciements au **Pr. Anne Tailleur**, à **Kadiombo Bantubungi** à **Manue Vallez**, au **Dr Véronique Touche**, au **Dr. Sophie Lestavel**, vous avez toutes contribué à faire de ce travail de thèse ce qu'il est. Par le biais de nos réunions régulières, ou lors de votre participation à la réalisation de mes expériences vous avez grandement participé à faire de cette collaboration le berceau d'un travail de qualité technique et scientifique. Merci à **Anne** pour vos conseils, et merci à **Kad** pour toute l'aide apportée dans l'amélioration de ce travail.

Merci au **Dr. Steve Lancel** pour son aide précieuse dans la caractérisation du modèle.

Merci au **Dr. Nicolas Sergeant**, pour toute l'aide qu'il m'a apportée, son soutien en ces murs et au dehors. Je suis vraiment désolé que tu aies dû couvrir toutes mes bourdes informatiques. Tu ne m'en as jamais tenu rigueur, merci!

Merci au **Dr. Marie-Laure Caillet-Boudin** pour sa bonne humeur, son naturel et pour toutes les discussions que ce soit d'ordre scientifique ou gastronomique !

Merci également aux Docteurs **Morvane Colin**, **Claire-Marie Dhaenens**, **Marie-Christine Galas**, **Bernard Sablonnière**, **Vincent Deramcourt**, **Susanna Schraen** pour leur soutien, et leurs remarques constructives lors des réunions de laboratoire.

J'adresse une salve de remerciements à **Sabiha**, **Raphaëlle**, **Hélène**, **Nadège** qui ont participé de façon extensive à ce travail. Sans vous il aurait été difficile d'achever ce travail, grâce à votre expertise et vos conseils, nous y sommes parvenus !

Je remercie l'ensemble des personnels de l'animalerie de JPARC. Je remercie tout particulièrement, Ingrid, Delphine, Julien, Delphine, Mélanie, Yann et Christian pour leur contribution dans l'hébergement et l'élevage des souris qui constituent la matière première de nos travaux. Yann, François, Julien, Ingrid, dans la salle d'XP bosser à votre contact fût un plaisir, et l'animalerie restera l'un de mes meilleurs souvenirs pendant ces 3 années.

Merci au personnel administratif de JPARC, et je pense particulièrement à Sophie, Nathalie, Michèle, Céline, qui nous rendez la vie facile, et merci pour votre disponibilité, votre gentillesse et votre bonne humeur quotidiennes.

Merci au Dr. Luisa Lopez, à Vânia et à Jorge pour leur accueil à l'IMM de Lisbonne.

Merci à Cyril et Sylvie, mes partenaires Blum-Team. Vous avez participé à ce travail et merci pour ça ! Au delà de cet aspect, bien sûr merci à Sylvie pour ton accueil

quand je suis arrivé, c'est toi qui m'a appris à blotter ! Quand on voit l'empêché que j'étais (j'entends déjà cyril dire que je devrais parler au présent), tes conseils ont fini par porter leurs fruits, maintenant les blots c'est mon dada ! Cyril, merci pour m'avoir supporté en tant que co-Blum-guy, que ce soit dans le bureau ou à Lisbonne, on a plutôt bien réussi à cohabiter, et merci pour ta présence au quotidien dans les bons comme les mauvais moments. Je te souhaite le meilleur pour la suite ;-) ! Francisco, Maxime, Sylvie, Laetitia, Marie, Nadège, Simon, Sébastien ! 3 ans de marrade entre autres, avec vous dans les parages le temps est passé un peu plus vite et tous ces souvenirs resteront dans les mémoires ! Max, mon partenaire de manip high-fat caféine, j'espère que l'on aura d'autres occasions de mises en orbite! Je regretterai fort les soirées chez ben à boire la Belgique avec vous tous, le bistrot de la cité et ses célèbres normandes (Simon ya d'autres choix tu sais ?), les "1 seule karmeliet", les batailles de boule de n i è g e en mode "arrête tes conneries". Francico, je t'apprendrai ma technique à la Bresca si tu veux, en attendant améliore toi à Driver ! Laetitia, la célèbre Dictatrice scotchbrite merci pour ton accueil en 2009 avec ton jerrican de 20 litres de super souvenirs. Merci à Céline, Fanny et Marie pour les week-ends passés à se détendre ici et ailleurs, souvent la tête en bas et l'estomac rempli de karmé et de welsh. Merci à Dominique pour les coups de mains et pour les super moments passés ensemble, je dois dire que t'es la nana la plus jeune que je connaisse de ton âge, je te souhaite bonne continuation au labo, passe nous voir en alpine ! Sachez que vous êtes tous les bienvenus chez nous! Mention spéciale pour Francisco, merci pour tout, question manips et surtout pour le reste, heureusement que t'étais là pour me tempérer dans les moments difficiles - et merci encore pour m'avoir hébergé chez toi, désolé d'avoir foutu le souk! J'ai hâte de te rendre visite en Espagne!

Je tiens également à remercier tous les membres de JPARC qui sont passés par le labo: Lucie, Elodie, Séverine, Vanessa, JérémY M, Nikki, Nicole, Eglantine, Charlotte, Andrea, Hélène C, Mathieu, Odile, Nicolas, Karim, Anthony, Olf, Claire, Amélie, Marie B, Alban, Patrick, Thomas, je vous souhaite à tous une excellente continuation.

Enfin, je remercie le ministère de la recherche technique et scientifique pour avoir financé mes trois années de thèse.

SOMMAIRE

INTRODUCTION	1
CHAPITRE I – FACTEURS INFLUENCANT LA MALADIE D'ALZHEIMER	2
1. Facteurs de risques	2
A. Facteurs de risques génétiques	2
B. Facteurs environnementaux	5
CHAPITRE 2 – LA MALADIE D'ALZHEIMER	14
1. Auguste Dieter, premier cas diagnostiqué de Maladie d'Alzheimer.	14
2. Les neuropathologies, affections micro et macroscopiques	16
A. Atrophie du cerveau – aspect macroscopique.	16
B. Les lésions histopathologiques	18
3. L'inflammation dans la MA	22
CHAPITRE 3 – LA PROTEINE TAU	24
1. Génétique de Tau	24
2. Structure et fonctions de la protéine Tau.	25
A. Tau : protéine d'association aux microtubules	26
B. Autres partenaires et fonctions rapportées de la protéine Tau.	29
3. Modifications post-traductionnelles de Tau : La phosphorylation	30
A. Kinases	31
B. phosphatases	32
4. Mécanismes par lesquels Tau pourrait contribuer au phénotype mémoire de la MA	32
A. La perte de fonctions physiologiques de Tau	33
B. Perte de fonctions pathogéniques de Tau	34
C. Gain de fonction anormale de Tau	35
CHAPITRE 4 MODELES D'ETUDES DE LA RELATION METABOLISME – MA	37
1. Modèles basés sur l'injection de Streptozotocine	37
2. Modèles de diabète mono ou polygéniques.	39
3. Modèles basés sur une invalidation génique	40

4. Les modèles expérimentaux combinant MA et métabolisme	41
A. MA et STZ	41
B. MA et diabète mono ou polygénique	42
C. MA et invalidation génique	42
D. MA et nutrition riche en graisse ou en sucres	43
CHAPITRE 5 - MECANISMES DE REGULATION DE LA PRISE ALIMENTAIRE	45
1. Insuline	46
2. Leptine	48
3. Ghréline	50
4. Indices reliant pathologie amyloïde et susceptibilité métabolique	50
OBJECTIFS	53
Présentation des modèles	55
THY-Tau22	55
KO Tau	60
MATERIELS ET METHODES	64
PARTIE 1 - IMPACT D'UN REGIME RICHE EN GRAISSE SUR LA PATHOLOGIE TAU DE LA MA	
RESULTATS	79
DISCUSSION	99
PARTIE 2 - ETUDE DE L'INFLUENCE DE TAU SUR LE METABOLISME	
RESULTATS	105
DISCUSSION	123
BIBLIOGRAPHIE	132
ANNEXES	162

LISTE DES FIGURES ET TABLEAUX

INTRODUCTION

Figure 1. Comparaison entre fréquence des allèles de l'ApoE et fréquence de MA après 60 ans.

Figure 2. Influence de l'âge sur la prévalence de MA.

Figure 3. Carte représentant la prévalence de l'obésité (IMC >30) dans le monde en 2008.

Figure 4. Représentation de 12 études de population ayant examiné le risque de MA lorsqu'un DT2 est présent.

Figure 5. Examen histologique du cerveau de Auguste D

Figure 6. Critères diagnostiques de la MA.

Figure 7. Visualisation de l'atrophie par IRM.

Figure 8. Différentes voies du métabolisme de l'APP.

Figure 9. Oligomérisation du peptide β -amyloïde.

Figure 10. Evolution stéréotypée de la pathologie Tau au cours de la MA.

Figure 11. Isoformes de Tau obtenus par l'épissage alternatif du gène MAPT.

Figure 12. Eléments structuraux de Tau.

Figure 13. Visualisation par microscopie électronique de la fonction de liaison de Tau aux MT.

Figure 14. Régulation de la dynamique microtubulaire par Tau.

Figure 15. Diagramme des différents sites de phosphorylation de Tau par ses kinases.

Figure 16. Anticorps ciblant Tau.

Figure 17. Rétablissement des capacités d'apprentissage chez une souris reproduisant la pathologie amyloïde mais knock-out pour la protéine Tau.

Figure 18. Diagramme représentant les résidus phosphorylés de Tau lors de désordres métaboliques expérimentaux.

Figure 19. Mécanismes de la régulation de la prise alimentaire par l'hypothalamus.

MATERIELS ET METHODES

Figure 20. La souris THY-Tau22.

Figure 21. Progression de la pathologie Tau au cours de l'âge de la souris THY-Tau22.

Figure 22. Altérations d'apprentissage et de mémoire spatiaux chez la souris THY-Tau22.

Figure 23. Absence de perte neuronale majeure et dysfonctionnement post-synaptique de la THY-Tau22.

Figure 24. Profil transcriptomique global dans l'hippocampe de la THY-Tau22 montrant la présence d'une inflammation.

Figure 25. Composition du régime riche en graisse.

Figure 26. Paradigmes expérimentaux réalisés.

Figure 27. Procédure du test du labyrinthe de la piscine de Morris.

Figure 28. Principe de l'électrophorèse bi-dimensionnelle.

RESULTATS PREMIERE PARTIE – REGIMES STANDARD ET HIGH-FAT

Figure 29. Suivi du poids des souris.

Figure 30. Augmentation de l'adiposité.

Figure 31. Homéostasie glucidique.

Figure 32. Evaluation de l'inflammation hippocampique.

Figure 33. Apprentissage et mémoire spatiaux.

Figure 34. Evaluation par électrophorèse bi-dimensionnelle de l'état de phosphorylation de Tau.

Figure 35. Evaluation par électrophorèse mono-dimensionnelle de l'état d'expression, de phosphorylation et de troncation de Tau.

Figure 36. Immunohistochimie ciblant l'état de phosphorylation de Tau.

Figure 37. Profil d'expression de Tau chez les souris wild-type.

Figure 38. Evaluation de l'état d'agrégation de Tau.

Figure 39. Concentration plasmatique de Tau humaine.

Figure 40. Profil d'expression des marqueurs neuronaux.

Figure 41. Profil d'expression et d'activation des kinases et phosphatases de Tau.

Figure 42. Evaluation de l'activation des éléments de signalisation du récepteur à l'insuline.

Figure 43. Expression transcriptomique des marqueurs du cholestérol.

RESULTATS DEUXIEME PARTIE – REGIME STANDARD

Figure 44. Suivi du poids et de la prise alimentaire des souris THY-Tau22.

Figure 45. Mesures de l'adiposité des souris THY-Tau22.

Figure 46. Profil lipidique des souris THY-Tau22 à 7 et 9 mois.

Figure 47. Profil d'expression chez la THY-Tau22 à 9 mois de transcrits impliqués dans la régulation de la prise alimentaire.

Figure 48. Homéostasie glucidique basale des THY-Tau22.

Figure 49. Tolérance au glucose et à l'insuline des THY-Tau22.

Figure 50. Profil de signalisation à l'insuline dans l'hippocampe des THY-Tau22.

Figure 51. Effets de la délétion d'une à deux copies de Tau sur le poids corporel et la prise alimentaire.

Figure 52. Adiposité des souris hétéro-ko et KO-Tau.

Figure 53. Cholestérolémie des souris hétéro-ko et KO-Tau.

Figure 54. Homéostasie glucidique basale des hétéro-ko et KO-Tau.

Figure 55. Tolérance au glucose et à l'insuline des hétéro-ko et KO-Tau.

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1. Risque de développer une démence au regard du statut inflammatoire et métabolique des individus.

Tableau 2. Phénotypes rencontrés chez les différents modèles de souris Tau knock-out.

Tableau 3. Liste des anticorps primaires utilisés.

Tableau 4. Liste et séquence des amorces utilisées.

Tableau 5. Résultats de l'analyse transcriptomique globale chez les THY-Tau22 nourries au HFD.

Tableau 6. Comparaison phénotypique des souris THY-Tau22 et KO-Tau.

LISTE DES ABBREVIATIONS

ADN : acide désoxyribonucléique
AgRP : "agouti related peptide", peptide relatif à agouti
AICD : "amyloid precursor protein intracellular domain", domaine intracellulaire de la protéine précurseur de l'amyloïde
AMPA : acide 2-amino-3-(3-hydroxy-5-méthyl-isoxazol-4-yl) propanoïque
AMPK : AMP activated protein kinase
ANOVA : analyse de variance
APOE : apolipoprotéine E
APP : "amyloid precursor protein", protéine précurseur de l'amyloïde
ARN : acide ribonucléique
AUC : "area under curve", aire sous la courbe.
A β : peptide β -amyloïde
BACE1 : Beta-sécrétase 1
BBZdr/Wor : "Bio-Breeding Zucker diabetic rat", modèle de rat diabétique de type 1
BHE : barrière hémato-encéphalique
CaMKII : protéine calcium calmoduline kinase de type 2
CCK : cholecystokinine
CCL3/4/5 : chemokine ligand 3/4/5
CD68 : cluster of differentiation 68
CDK5 : cyclin-dépendant kinase 5
CHOW : régime alimentaire standard
CT : "cycle threshold", cycle seuil
DAB : di-aminobenzidine
Db/db : modèle de souris diabétique de type 2, transgéniques
DNF : dégénérescence neurofibrillaire
DT1 : diabète de type 1
DT2 : diabète de type 2
ERK : extracellular related kinase
GLP-1 : "glucagon like peptide 1", peptide de type glucagon 1
Glut2 : transporteur de glucose intracellulaire
GSK3 : glycogen synthase kinase 3
HDL : "high density lipoprotein", lipoprotéine de haute densité
HFD : régime "high-fat diet" riche en graisse
HOMA-IR : "homeostatic model assessment of insulin resistance", modèle homéostatique d'établissement de l'insulino-résistance
HRP : "horseradish peroxidase", peroxydase du raifort
hTau : "human Tau", protéine Tau humaine
IGF-1 / IGF-1R : insuline growth factor 1 et son récepteur, facteur de croissance de type insuline
IMC : indice de masse corporelle
IPGTT : "intra-peritoneal glucose tolerance test", test de tolérance au glucose intrapéritonéal.
IR : insuline receptor
IRM : imagerie par résonance magnétique
IRS1/2 : "insulin receptor substrate 1 / 2", protéine substrat d'association au récepteur à l'insuline
ITT : "insulin tolerance test", test de tolérance à l'insuline

JNK : Janus kinase
KO : "knock-out", désigne une souris inactivée pour un gène donné
MA : maladie d'Alzheimer
MAPK : mitogen activated protein kinase
MAPT : "microtubule associated protein Tau", protéine Tau associée aux microtubules
MARK : "microtubule affinity-regulating kinase", kinase régulant l'affinité des microtubules.
MC3/4 R : "melanocortin 3/4 receptor", récepteur à la mélanocortine 3 / 4
MT : microtubule, élément du cytosquelette axonal
NeuN : neuronal N
NINCDS-ADRDA : "National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke and the Alzheimer's Disease and Related Disorders Association"
NIRKO : "neuronal insulin receptor knock-out", souris knock-out pour le récepteur à l'insuline neuronal
NMDA : N-méthyl D-aspartate
NOD : souris non-obèse diabétique, modèle de diabète de type 1
NPY : neuropeptide Y
NSE : neuronal specific enolase
NSY : souris Nagoya-Shibata-Yasuda, modèle de souris diabétique de type 1
Ob/ob : modèle de souris obèses transgéniques
OLETF : "Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty", modèle de rats diabétiques de type 2.
OMS : organisation mondiale de la santé
PDPK : "proline-directed protein kinase", protéine kinase dirigée contre les prolines.
pH : potentiel hydrogène
PHF : "paired helical filaments", filaments appariés en hélice
PI3K : Phosphatidyl inositol 3 kinase
PKA : protéine kinase dépendante de l'AMPc
PKB : protéine kinase B, nommée également Akt.
PKC : protéine kinase C
PKN : protéine kinase N
POMC : pro-opiomélanocortine
PP1/2A/2B/5 : protein phosphatase 1/2A/2B/5
PS1/2 : préséniline 1/2
PTP1B : protein tyrosine phosphatase 1B
RI : récepteur à l'insuline
SAPK : stress activatek protein kinase
SDS-PAGE : "sodium dodecyl sulfate – polyacrylamide gel electrophoresis", électrophorèse en gel de polyacrylamide – sulfate de sodium dodécyl.
Ser : acide aminé sérine
SNC : système nerveux central
Spino : spinophiline
STZ : streptozotocine
SYP : synaptophysine
T0/Tf : désigne le début ou la fin d'un suivi ou d'un régime
Tau : tubulin associated unit
TC : souris THY-Tau22 nourries par un régime standard, chow
TG : triglycérides
TH : souris THY-Tau22 nourries par le régime HFD, riche en graisse
Thr : acide aminé thréonine
THY-Tau22 : souris transgénique exprimant la protéine Tau humaine mutée
TNF : tumor necrosis factor

Tyr : acide aminé tyrosine

WC : souris wild-type nourries par un régime chow, standard

WH : souris wild-type nourries par le régime HFD, riche en graisse

WT : souris wild-type, sauvage

xN/yR : composition des isoformes de Tau, présence de x exons facultatifs dans la partie N-terminale de Tau et de y domaines de liaison aux microtubules dans sa partie C-terminale

INTRODUCTION

La Maladie d'Alzheimer, c'est, en 2010 : 36 millions de personnes atteintes dans le monde. Les prévisions en 2030 tablent sur un doublement du nombre de cas si aucun traitement efficace n'est découvert, ni aucun changement de mode de vie n'est pris. Durant les 40 prochaines années, près de 700 millions de personnes seront confrontées dans leur entourage proche à la démence. Outre le coût humain, il faut noter que le coût total, en France, d'une prise en charge à domicile d'un patient atteint de démence s'élève à 3580 euros par mois, salaires des aidants et matériel de soin compris. Ces chiffres alarmants montrent l'urgence d'intensifier l'effort de recherche.

CHAPITRE I – FACTEURS INFLUENCANT LA MALADIE D'ALZHEIMER

1. Facteurs de risques

Les études basées sur les cohortes de jumeaux apportent des informations sur l'influence de composantes génétiques ou environnementales dans les pathologies. Puisque les jumeaux partagent le même environnement, on observe, dans le cas de maladies héréditaires, un taux de concordance de 100% chez les jumeaux monozygotes alors que chez les dizygotes ce taux tend vers 50%. A l'inverse, pour une maladie entièrement déterminée par des facteurs environnementaux, les taux de concordance chez les monozygotes sont identiques à ceux des dizygotes. Råihä et collaborateurs en 1997 ont pu mettre en évidence une concordance de 31% de MA chez les jumeaux monozygotes alors qu'elle était seulement de 9% chez les jumeaux dizygotes, proposant ainsi que l'étiologie de la MA ait une composante génétique forte, mais également environnementale (Råihä *et al.*, 1997).

Même si, dans 1% des cas, l'origine de la maladie est clairement déterminée, l'origine des formes sporadiques n'est pas identifiée. La MA semble être une maladie multifactorielle mettant en jeu un ensemble de facteurs de risque, à la fois génétiques et environnementaux.

A. Facteurs de risques génétiques

i. à pénétrance complète : les mutations sur les gènes de l'APP, de la PSEN1 et 2

Un à six pourcents des cas de MA correspond aux formes familiales précoces (voir pour revues Alonso-Vilatela *et al.*, 2012, Tanzi 2012). On explique l'apparition de ces formes de la maladie par la présence dans le génome de mutations autosomiques dominantes sur 3 gènes, et qui constituent un facteur de risque à pénétrance complète avant 50 ans. Ces 3 gènes codent pour les présénilines 1 et 2 et l'APP (amyloïd

precursor protein, protéine précurseur de l'amyloïde) (Chartier-Harlin *et al.*, 1991, Goate *et al.*, 1991 ; Sherrington *et al.*, 1995 ; Levy-Lahad *et al.*, 1998, Rogaev 1999).

Bien que présents sur 3 différents chromosomes, ces gènes codent pour des protéines impliquées dans une voie biologique commune, celle qui conduit à la production de peptide β -amyloïde (Tanzi et Bertram, 2005), celui-ci étant retrouvé dans le cerveau des patients (Suzuki *et al.*, 1994; Scheuner *et al.*, 1996; Citron *et al.*, 1997). Très récemment, une mutation du gène de l'APP a été identifiée dans une cohorte islandaise, et procure une diminution du risque de MA d'un facteur 5 après 85 ans. Les auteurs de cette étude observent *in vitro* une réduction de production du peptide β -amyloïde par cette mutation (Jonsson *et al.*, 2012). Ces résultats démontrent ainsi le rôle prépondérant joué par le peptide β -amyloïde dans la pathogenèse de la maladie puisqu'une réduction de sa production confère un risque inférieur de développer la MA.

En opposition aux formes familiales, les formes sporadiques de MA comptent pour 94 à 99 % des cas et ont des origines étiologiques différentes.

ii. A pénétrance incomplète

a. Le gène de l'Apolipoprotéine E

Les antécédents familiaux constituent un facteur de risque significatif pour la MA, mais seulement chez les porteurs de l'allèle $\epsilon 4$ de l'APOE (Huang *et al.*, 2004). Le principal candidat génétique responsable des formes sporadiques de MA est la présence d'un des 3 allèles $\epsilon 2$, $\epsilon 3$ et $\epsilon 4$ du gène de l'Apolipoprotéine E. Selon les études, le risque de MA est augmenté de 3 à 15 fois pour les détenteurs d'une à deux copies de l'allèle E4, respectivement (Genin *et al.*, 2011 ; Farrer *et al.*, 1997). A l'inverse, la présence de l'allèle $\epsilon 2$ serait protectrice (Corder *et al.* 1994 ; Raber *et al.*, 2004 ; Genin *et al.*, 2011). Contrairement aux 3 mutations causant la MA à début précoce, l'allèle APOE $\epsilon 4$ n'est ni nécessaire, ni suffisant pour causer la MA (Figure 1). En effet, si 58 à 65% des patients ont au moins une copie de l'allèle $\epsilon 4$ (Raber *et al.*, 2004, Corder *et al.* 1994), 40% des patients atteints de MA ne sont pas porteurs de l'allèle $\epsilon 4$, et 30% des homozygotes pour APOE $\epsilon 4$ ne développent jamais la maladie

(Raber et al, 2004 ; Schmechel *et al.*, 1993 ; Mayeux *et al.*, 1993). Il faut cependant noter que les individus portant le génotype APOE $\epsilon 4/\epsilon 4$ s'exposent à une probabilité de 1 risque sur 2 de développer une MA après 85 ans, tandis que chez ceux portant le génotype $\epsilon 3/\epsilon 4$ cette probabilité est de 1 risque sur 4 environ, compatible avec une transmission autosomique semi-dominante (Genin *et al.*, 2012). L'allèle $\epsilon 4$ pouvant alors être considéré comme un facteur de risque génétique à pénétrance semi-complète.

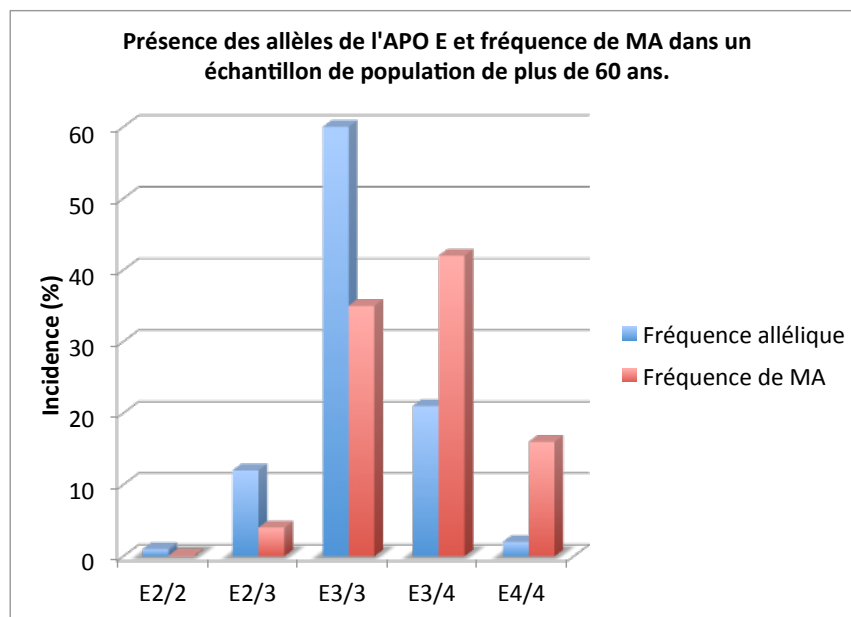


Figure 1. Comparaison entre fréquence des allèles de l'ApoE et fréquence de MA après 60 ans. Moins de 25% de la population possède au moins un allèle E4, pourtant cette frange de la population présente plus de 50% de MA. Adaptée de Raber et al., 2004.

Un certain nombre d'études indique que l'allèle epsilon4 de l'APOE serait d'une part, le moins efficace pour assurer le transport pour dégradation vers la périphérie du peptide beta amyloïde (Dodart *et al.*, 2005) et d'autre part, moins affin pour la protéine Tau, la rendant ainsi disponible à une phosphorylation augmentée (Gibb *et al.*, 2000), ces deux évènements étant centraux dans la pathogenèse de la maladie.

b. Apports des études d'association pangénomiques

Le développement de techniques de criblage à haut débit a permis l'essor des études d'association pangénomiques, qui permettent l'identification de loci modifiés entre le

code génétique de populations contrôles et de populations atteintes d'une maladie. A ce jour, 695 gènes et près de 3000 polymorphismes ont été testés dans la MA (source : www.alzgene.org), mais seuls une dizaine de gènes se révèlent véritablement impliqués. Parmi ceux-ci, on peut citer les gènes CD33, codant pour une protéine impliquée dans l'immunité innée et ABCA7, codant pour une protéine impliquée dans le métabolisme lipidique (Hollingworth *et al.*, 2011). Des mutations sur le gène codant pour la sortiline SORL1 ou son homologue SORCS1, protéines impliquées dans le contrôle de la production du peptide beta-amyloïde, sont retrouvées associées à un risque supérieur de MA (Reitz *et al.*, 2011 ; Pottier *et al.*, 2012). Lambert et collègues, en 2009 ont également identifié des loci associés à CR1 et CLU qui sont impliqués dans l'inflammation (Lambert *et al.*, 2009).

B. Facteurs environnementaux

Selon l'OMS, les maladies chroniques sont la toute première cause de mortalité dans le monde. L'augmentation de l'espérance de vie des populations et leur sédentarisation sont des facteurs qui augmentent le nombre de cas de maladies chroniques liés au mode de vie.

i. Santé générale et modes de vie

Les progrès de la médecine ont permis l'augmentation de l'espérance de vie dans les pays occidentaux. Par ailleurs cela s'est accompagné d'une diminution de la natalité, aboutissant à un vieillissement de la population. Le principal facteur de risque non modifiable de la MA est l'âge (Coria *et al.*, 1994). La prévalence de MA augmente de façon exponentielle au cours des années, et est de 0,9% dans la tranche d'âge de 60 à 64 ans et après 85 ans, c'est près d'une personne sur 4 qui est affectée (Figure 2). Etude Delphi, Ferri, 2005, Lancet).

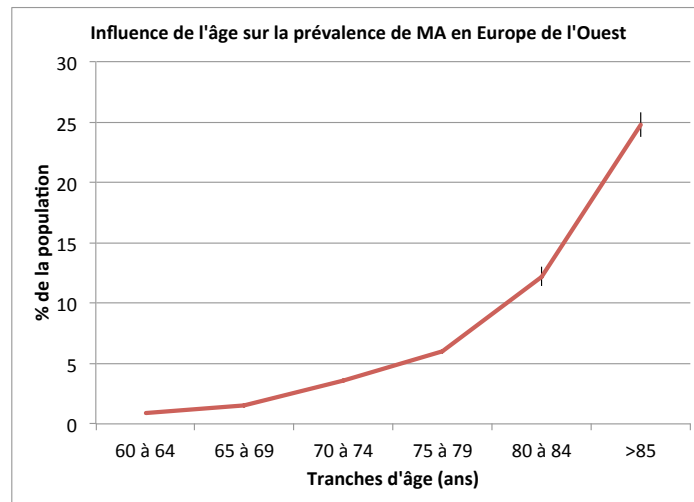


Figure 2. Influence de l'âge sur la prévalence de MA. La prévalence augmente de façon exponentielle après 60 ans, si bien qu'une personne sur quatre âgée de 85 ans est atteinte de MA. Adapté de Ferri et al., 2005.

Outre le vieillissement, un ensemble de facteurs environnementaux semble augmenter le risque de survenue de MA, parmi lesquels on peut citer l'hypertension artérielle, l'hypercholestérolémie (Kivipelto *et al.*, 2005), la dépression (Devanand *et al.*, 1996 ; Jorm *et al.*, 2000) ou la cigarette (Reitz *et al.*, 2007 ; Anstey *et al.*, 2007). En revanche, certains facteurs semblent bénéfiques et retarderaient l'apparition de la maladie, tels que la pratique d'une activité physique, la consommation de caféine (Rosso *et al.*, 2008), le maintien d'une vie sociale active (Laurin *et al.*, 2001 ; Stern *et al.*, 1994), le suivi d'un régime de type méditerranéen, riche en fruits, céréales, poisson, pauvre en viandes et en produits laitiers (Scarmeas *et al.*, 2006 ; Gu *et al.*, 2010). Par ailleurs, la consommation d'alcool, et plus particulièrement de vin, bénéfique pour le système cardiovasculaire (Rimm *et al.*, 1999) est associée à un risque réduit de développer la MA (Luchsinger *et al.*, 2004 ; Stampfer *et al.*, 2005). Cependant, les interactions entre l'alcool, l'alimentation et l'activité sociale ne sont souvent pas pris en compte et peuvent expliquer cette association (Letenneur 2004, 2007).

Une constellation d'autres facteurs de risque importants comportent les désordres métaboliques et plus précisément, le surpoids / l'obésité, l'hyperinsulinémie, le diabète de type 2 en sont les composantes principales.

ii. Présentation des maladies métaboliques.

a. Obésité et surpoids

Selon l’OMS, le surpoids et l’obésité se définissent comme une accumulation anormale ou excessive de graisse corporelle qui peut nuire à la santé.

La prévalence de l’obésité et du surpoids augmente de façon dramatique dans les pays occidentaux mais aussi dans les puissances émergentes (Figure 3.).

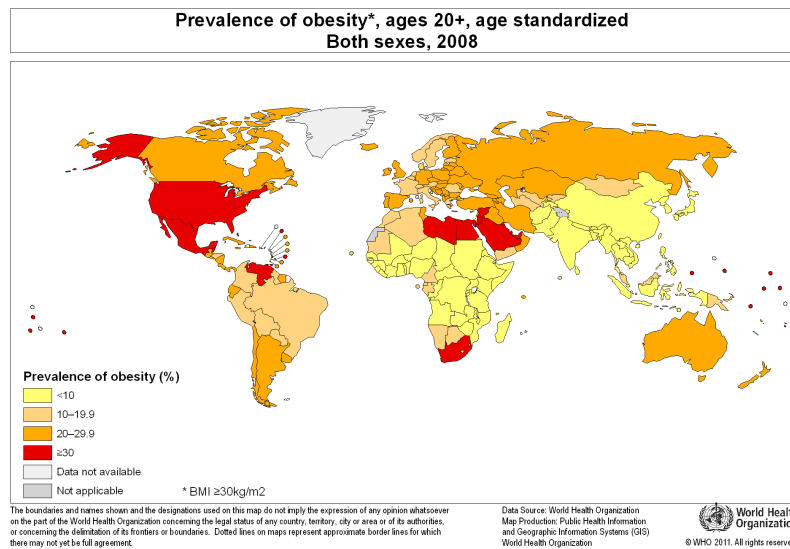


Figure 3. Carte représentant la prévalence de l'obésité (IMC >30) dans le monde en 2008. Globalement, les régions les plus touchées sont l'Amérique du Nord, l'Afrique du Nord, l'Europe, mais la prévalence est en augmentation dans l'ensemble des pays et notamment dans les pays émergents. Tiré de l'OMS.

L’indice de masse corporelle (IMC) est une mesure anthropologique permettant d’évaluer le poids corporel en fonction de la taille des individus. L’IMC est le ratio poids en kg divisé par la taille en cm au carré, et s’exprime en kg/cm². Un individu est en surpoids lorsque son IMC est supérieure à 25, et on parle d’obésité lorsque l’IMC est supérieure à 30. Cette méthode de catégorisation du poids corporel ne tient cependant pas compte de la musculature, ni de la localisation corporelle des masses de tissu adipeux, qui peut être différente entre deux individus ayant la même IMC, ou qui varie selon le sexe.

L’adiposité reflète la quantité de masse grasseuse d’un individu, et constitue de ce fait une mesure appropriée de l’obésité. On peut l’estimer grâce aux mesures de tour de

taille ou parfois au diamètre sagittal ou au ratio tour de taille / tour de hanche (RTH ratio taille hanche). Sont considérés obèses les individus ayant un tour de taille supérieur à 102 cm pour les hommes et 88 cm pour les femmes (Janssen *et al.*, 2004, Luchsinger *et al.*, 2008, Eur J pharmacol). L'intérêt de ces mesures est qu'elles prennent en compte l'état d'adiposité viscérale, en opposition à l'adiposité sous-cutanée qui est typiquement caractérisée par des replis de peau gras. De fait, les individus présentant une IMC correcte mais avec une distribution abdominale de graisse sont davantage à risque de maladies métaboliques. On peut expliquer ceci au fait que la graisse viscérale possède une influence importante sur la production d'adipocytokines et sur l'insulino-résistance (Rondinone *et al.*, 2006). Enfin, un excès de tissus adipeux a pour conséquence une production accrue de leptine, hormone anorexigène (Stanley *et al.*, 2005). Chez les individus obèses, une leptino-résistance s'installe, et le signal anorexigène véhiculé par la leptine est altéré.

Ainsi, si l'obésité est un facteur important de risque cardiovasculaire, et prédispose au diabète de type 2, à l'insulino-résistance, l'hypertension et la dyslipidémie (Wellman *et al.*, 2002) une distribution abdominale de la graisse corporelle en constitue un facteur de risque encore plus important (Ramachandran *et al.*, 1997 ; Yarnell *et al.*, 2001).

L'obésité est caractérisée par de l'inflammation. L'excès d'apport en nutriments et la résistance périphérique à l'insuline causée par l'excès de masse grasse sont connus pour induire, à la fois au niveau des adipocytes (Hotamisligil *et al.*, 1995) que du cerveau (DeSouza *et al.*, 2005) une sécrétion de cytokines proinflammatoires et de chimiokines (Shoelson *et al.*, 2006, 2012), caractérisant ce que l'on appelle une inflammation de bas grade impliquant les macrophages.

Avec l'augmentation de l'adiposité il y a augmentation du risque de résistance à l'insuline et de diabète de type 2, d'hypertension artérielle, de dyslipidémie, qui sont des constituants du syndrome métabolique (Malik *et al.*, 2010).

b. Résistance à l'insuline et DT2.

La sensibilité à l'insuline est caractérisée par la capacité pour le corps entier à capter et utiliser le glucose en réponse à une sécrétion d'insuline. Au contraire, la résistance à l'insuline se traduit par l'incapacité pour les tissus cibles (foie, muscles, tissus adipeux) à répondre à ce signal. Le taux d'insuline à jeun reflète l'insulinorésistance, puisque des doses croissantes d'hormone deviennent nécessaires pour atteindre l'effet biologique attendu. D'autres moyens de mesurer l'insulinorésistance comprennent les tests de tolérance à l'insuline et au glucose. Ces tests sont couramment utilisés pour établir l'état insulinorésistant chez les rongeurs et les humains (Muniyappa *et al.*, 2007). On peut également estimer l'insulinorésistance d'un organisme via le calcul de l'HOMA-IR (homeostatic model assessment of insulin resistance), index tenant compte de l'insulinémie qui est nécessaire pour le bon maintien d'une glycémie donnée. Cet index est rapporté fidèle à la mesure de taux d'infusion de glucose obtenu lors de tests de clamp, tests plus universels de l'insulinorésistance (Muniyappa *et al.*, 2009), mais reconnus trop lourds et contraignants à mettre en place.

Dans l'homéostasie, le maintien d'une glycémie normale est rendu possible par l'équilibre entre la capacité des tissus périphériques (muscles, tissus adipeux, foie) à capter le glucose au sein de leurs cellules, et à la capacité du pancréas à sécréter l'insuline (DeFronzo *et al.*, 2000). De fait, des taux anormalement élevés de glucose sanguin sont causés par une résistance des tissus à l'action de l'insuline et par l'incapacité du pancréas de sécréter suffisamment d'insuline pour contrer l'insulinorésistance des tissus. Il s'ensuit une élévation chronique des taux d'insuline, une gluco-intolérance forte et une insulinopénie, caractéristiques cliniques du diabète de type 2.

iii. Données issues des études basées sur l'homme reliant MA et métabolisme

a. Relations entre MA et Adiposité

Un IMC élevé à la mi-vie est associé à un risque élevé de démence (Kivipelto *et al.*, 2005 ; Whitmer *et al.*, 2005). Le risque pour un sujet obèse ou en surpoids de développer la MA est par exemple quantifié respectivement à et 260 et 180% de plus qu'un individu contrôle (Whitmer *et al.*, 2008). Ces auteurs rapportent même un risque

augmenté de 80% chez des sujets ayant un IMC normal mais un tour de taille important, synonyme de répartition abdominale du tissu graisseux. De la pathologie Tau et amyloïde a été observée dans l'hippocampe de sujets obèses morbides sans antécédents de démence (Mrak 2009). Luchsinger et collaborateurs ont observé dans une catégorie de population âgée entre 65 et 76 ans que l'association entre l'IMC et le risque de MA ressemble à une courbe en U (Luchsinger *et al.*, 2007). En effet ces auteurs constatent qu'à ces âges, un IMC soit trop faible, soit trop fort est associé à un risque important de MA. Après 76 ans, il semblerait qu'un fort IMC soit protecteur de ce risque. De la même façon, des études issues de cohortes différentes ont rapporté un risque élevé de développer une démence chez des sujets âgés lorsque l'IMC est faible (Atti *et al.*, 2009 ; Nourashémi et Vellas., 2008). Bien que ces études ne tiennent pas compte de la répartition de la masse graisseuse, la notion qu'un faible poids corporel à un âge avancé soit associé à l'approche d'une démence n'est pas nouvelle (Barrett-Connor *et al.*, 1996 ; Gillette-Guyonnet *et al.*, 2000). Si cette relation entre faible poids et incidence de MA est une conséquence de la perte d'autonomie (Gustafson et al 2008) ou si elle reflète un mécanisme physiopathologique particulier reste à définir. Des hypothèses ont cependant été proposées. L'altération de l'olfaction est un des premiers symptômes dans la MA (Doty, 2009). La perte de ce sens altère l'attractivité des plats et peut donc conduire à une baisse de prise alimentaire (Devanand *et al.*, 2000 ; Doty, 2009). D'autre part, les modifications métaboliques en relation avec la MA ne sont pas bien connues. On sait cependant que la MA est accompagnée de perturbations de la voie de signalisation à l'insuline dans le cerveau (Steen *et al.*, 2005, Talbot *et al.*, 2012) pouvant être à l'origine de perturbations du métabolisme central et périphérique.

b. Relations entre MA, obésité et inflammation

Au cours d'une étude prospective, Yaffe et collaborateurs (Yaffe, 2004, JAMA) ont mis en évidence l'importance de l'inflammation périphérique dans le risque de déclin cognitif (Tableau 1). Les individus présentant un syndrome métabolique avec inflammation périphérique étant plus à risque d'atteinte cognitive. Ces résultats ont par la suite été confirmés par d'autres études (Roberts et al, 2010).

	Déficits cognitifs, nombre (%)		Facteur de Risque ajusté (intervalle de confiance à 95%) *
	Absence du Syndrome Métabolique (n=1616)	Présence du Syndrome Métabolique (n=1016)	
Cohorte entière (n=2632)	338 (20,9)	260 (25,6)	1,20 (1,02-1,41)
Inflammation élevée (n=665)	67 (21,1)	105 (30,2)	1,66 (1,19-2,32)
Inflammation faible (n=1967)	271 (20,9)	155 (23,2)	1,08 (0,89-1,30)

* La référence est le groupe sans syndrome métabolique. Facteurs de risque ajustés selon les critères suivants : âge, niveau d'éducation, origine ethnique, score cognitif initial, dépression, consommation d'alcool, antécédent d'AVC et utilisation de statines.

Tableau 1. Risque de développer une démence au regard du statut inflammatoire et métabolique des individus. Le risque de démence est de près de 60% uniquement dans le groupe présentant une inflammation importante. Adapté de Yaffe et al., 2004.

c. Relations entre MA et Dyslipidémie

La dyslipidémie consécutive à une obésité ou un surpoids est caractérisé par des taux anormalement élevés de cholestérol et de triglycérides. L'hypercholestérolémie est associée à un risque plus élevé de MA (Kivipelto *et al.*, 2001, 2002, 2005). D'autre part, les statines, médicaments utilisés dans le traitement de l'hypercholestérolémie ont été associés à une diminution de la démence (Wolosin *et al.*, 2000 ; Jick *et al.*, 2000) mais ceci n'a pas toujours été observé (Morley et Banks 2010). Des taux très élevés de triglycérides sont associés à la présence de plaques séniles dans le cerveau de patients atteints de MA (Matsuzaki *et al.*, 2011). Enfin, il est à noter que l'APOE, dans le cerveau, intervient dans l'élaboration du transport des TG et du cholestérol en partenariat avec la protéine ABCA7. L'isoforme Epsilon 4 de l'APOE, la moins efficace pour jouer ce rôle, étant le facteur de risque génétique le plus important dans la MA à début tardif, et un locus génétique sur le gène de l'ABCA7 ayant été associé à un risque augmenté de MA (Hollingworth *et al.*, 2011).

d. Relations entre MA et insuline

De nombreuses études montrent l'existence d'une association entre hyperinsulinémie et risque augmenté de MA (Razay et Wilcock, 1994 ; Luchsinger *et al.*, 2004) et ce, même indépendamment d'un DT2 (Peila *et al.*, 2004). De façon intéressante, hors contexte pathologique, les taux plasmatiques d'insuline sont positivement corrélés à un moindre score lors de tests cognitifs (van Oijen *et al.*, 2008), et une infusion d'insuline au niveau périphérique, tout en maintenant une glycémie acceptable améliore les scores cognitifs de personnes saines ou atteintes de MA (Craft *et al.*, 1999). Chez les patients MA, les taux d'insuline plasmatique ont été rapportés supérieurs alors que ceux du liquide céphalorachidien se sont révélés inférieurs (Craft *et al.*, 1998). Une hypothèse soulevée par cette particularité est la présence d'une insulino-résistance de la BHE. En effet, en cas d'hyperinsulinémie périphérique, la concentration d'insuline dans le cerveau commence par être élevée, mais une chronicité engendre une diminution du transport d'insuline dans le cerveau (Banks *et al.*, 1997). Les conséquences de l'incapacité pour l'insuline d'agir au niveau central peuvent être nombreuses. En effet, le récepteur à l'insuline, bien que fortement exprimé à la périphérie l'est également au niveau central. On le retrouve bien sûr localisé dans les régions du cerveau impliquées dans la régulation de la prise alimentaire, mais pas seulement puisque le cortex, le bulbe olfactif, l'amygdale et l'hippocampe en contiennent également (Gerozissis 2008). L'incapacité d'action de l'insuline au niveau périphérique est une des caractéristiques du diabète de type 2. La relation entre DT2 et risque de MA a été très bien décrite. L'étude de la cohorte de Rotterdam par Ott et collaborateurs (Ott *et al.*, 1996, 1999) a mis en évidence le risque augmenté de développer la MA chez les individus atteints de diabète de type 2. De fait, souffrir d'un DT2 augmente d'un facteur 2 le risque de développer la MA. Un nombre important d'autres études épidémiologiques ont été menées et une grande majorité d'entre elles indiquent que le DT2 augmente le risque de développer la MA (Figure 4 ; Profenno *et al.*, 2010 ; Luchsinger *et al.*, 2010).

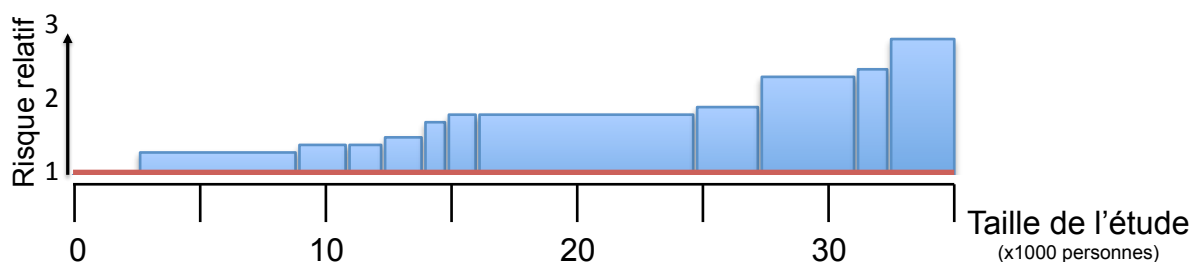


Figure 4. Représentation de 12 études de population ayant examiné le risque de MA lorsqu'un DT2 est présent. La largeur des histogrammes reflète la taille de l'étude (en milliers d'individus). Leur hauteur indique le facteur de risque. La ligne rouge indique le facteur 1, c'est à dire l'absence de risque. Adapté de Profenno et al., 2010 ; Luchsinger et al., 2010.

De façon intéressante, dans des coupes de cerveau de patients, Valente et collaborateurs ont observé que la présence conjointe d'un DT2 et d'une MA avait un effet synergétique sur la présence de DNF, renforçant ce lien entre MA et DT2 (Valente *et al.*, 2010). Outre la présence d'un lien entre désordres du métabolisme de l'insuline périphérique et MA, il faut ajouter qu'au sein de l'hippocampe de patients atteints de MA l'expression d'éléments de signalisation pour l'insuline est altérée. On peut citer une réduction importante de l'expression (Steen et al., 2005) mais également de l'activabilité (Talbot et al., 2012) du récepteur à l'insuline et du récepteur à l'IGF-1 et de leurs molécules de signalisation, l'IRS-1 et l'IRS-2, respectivement.

La notion selon laquelle les maladies métaboliques prédisposent à un risque de MA est renforcée par des données expérimentales. Les relations physiopathologiques entre maladies métaboliques et MA sont examinés dans le chapitre 3.

CHAPITRE 2 – LA MALADIE D'ALZHEIMER

1. Auguste Dieter, premier cas diagnostiqué de Maladie d'Alzheimer.

Le 26 Novembre 1901 le psychiatre et neuropathologiste allemand Aloïs Alzheimer examine pour la première fois Auguste D, femme de 51 ans, maigre, présentant des problèmes de mémoire et de comportement. Son auscultation révèle la présence d'une désorientation spatiale et temporelle, et de sa difficulté voire incapacité à répondre à certaines questions simples comme l'énonciation de son nom ou de la date, tandis que sa connaissance du nom d'objets demeure intacte. Alzheimer y voit les signes d'une démence sénile, pourtant peu compatible avec le relatif jeune âge de la patiente. Pendant les 4 années et demi de son internement en institut psychiatrique les médecins ont constaté l'aggravation des symptômes de Auguste D. Elle mourut peu après ses 56 ans.

L'examen anatomique du cerveau révèle une atrophie généralisée. L'étude histologique montre tout d'abord une perte massive de cellules, et une coloration à l'argent révèle la présence de 2 lésions très différentes. L'une forme des paquets de fibres très épaisses et fortement imprégnées d'argent qui envahissent l'intérieur des neurones. Parfois, le noyau et le cytoplasme ont disparu et seul subsiste ces amas (Figure 5). En l'absence d'agent contrastant, Alzheimer constate, dispersé dans le cortex cérébral, des amas qui une fois marqués ressemblent à du millet et couvrent des surfaces plus importantes (Figure 5). Les neuropathologistes Fisher et Hübner de l'époque feront les mêmes observations (voir pour revue Goedert *et al.*, 2009). Ces dépôts, intra cellulaires ou extracellulaires seront identifiés plus tard comme étant des plaques séniles et de la dégénérescence neurofibrillaire (Graeber *et al.*, 1999).

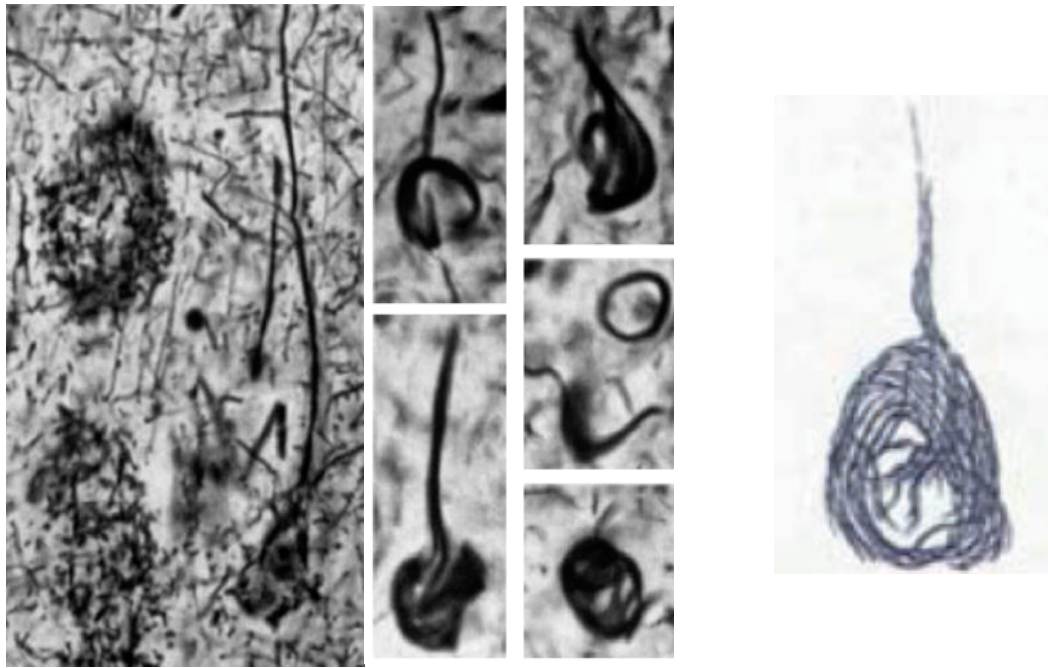


Figure 5. Examen histologique du cerveau de Auguste D par Alzheimer, Nissl et Perusini, mettant en évidence des dépôts amyloïdes (photographie de gauche) et de la dégénérescence neurofibrillaire (au milieu ; encart de droite : croquis de Fisher). Photographies obtenues par microscope Zeiss plana. Adapté de Perusini et al., 1909, Fisher et al., 2010 (Goedert et al., 2009).

Le cas de Auguste D. remplit certains des critères cliniques aujourd'hui proposés par le NINCDS-ADRDA, Figure 6, McKhann *et al.*, 1984) comme permettant le diagnostic de MA. Parmi ceux-ci on peut citer l'aphasie, l'agnosie, l'apraxie, dont souffrait Auguste D (Alzheimer, 1907), mais également la présence de délires et d'illusions. Enfin, parmi les critères de diagnostic on peut citer la perte de poids, qui précède et peut être révélatrice d'une démence chez le sujet âgé (Barrett-Connor *et al.*, 1996 ; Wang *et al.*, 1997 ; Gillette Guyonnet *et al.*, 2000).

1. Les critères pour le diagnostic clinique de la maladie d'Alzheimer probable sont :

Démence diagnostiquée sur les données de la clinique et documentée par MMS
des altérations d'au moins deux fonctions cognitives
diminution progressive de la mémoire et d'autres fonctions cognitives
l'absence de trouble de la conscience
début entre 40 et 90 ans

2. Le diagnostic de maladie d'Alzheimer probable est basé sur :

La présence d'une aphasia, d'une apraxie, d'une agnosie
Une diminution des activités quotidiennes et des troubles du comportement
Des antécédents familiaux de troubles similaires
Résultats des examens de laboratoire : LCR normal, EEG normal ou anomalies non spécifiques, atrophie cérébrales au scanner X progressant sur plusieurs examens consécutifs

3. Autres signes cliniques compatibles avec le diagnostic de maladie d'Alzheimer probable après exclusion des autres causes de démence :

Présence de plateaux dans la progression de la maladie
Symptômes associés : dépression, insomnie, incontinence, délire, illusions, hallucinations, réactions de catastrophe, troubles sexuels, perte de poids
Crises comitiales possibles à un stade avancé
Scanner X normal pour l'âge
Début <40 et 90 ans <

4. Eléments qui plaident contre le diagnostic de maladie d'Alzheimer probable :

Début soudain
Signes neurologiques focaux, troubles de la coordination survenant précocement en cours d'évolution
Crises d'épilepsie ou troubles de la marche dès le début de la maladie

5. Le diagnostic de maladie d'Alzheimer possible peut être porté :

Devant un syndrome démentiel en l'absence d'autres affections systémiques, neurologiques, psychiatriques et en présence de forme atypiques dans leur mode de début, leur présentation clinique ou leur évolution
En présence d'une autre affection systémique ou cérébrales susceptible de causer une démence mais qui n'est pas considérée comme la cause de la maladie
Dans le cadre de la recherche clinique ce diagnostic doit être retenu lorsqu'un déficit cognitif est isolé et s'aggrave progressivement en l'absence d'une cause identifiable

6. Les critères pour le diagnostic de maladie d'Alzheimer certaine sont :

Les critères cliniques pour le diagnostic de maladie d'Alzheimer probable
La mise en évidence d'altérations histopathologiques caractéristiques obtenues par biopsie ou autopsie

Figure 6. Critères diagnostics de la MA. D'après le NINCDS-ADRDA, 1984.

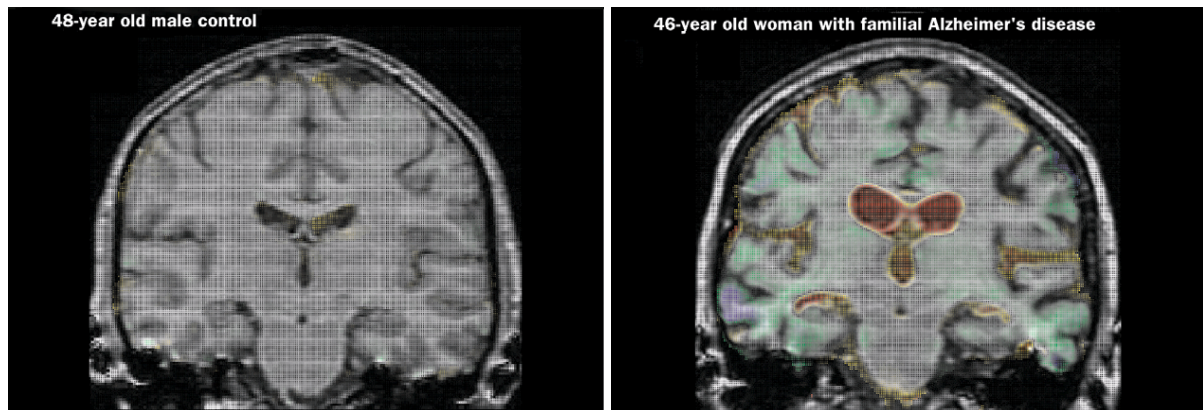
Enfin, le diagnostic de MA certaine est basé sur la présence conjointe d'altérations histopathologiques que sont les plaques de dépôts amyloïdes extracellulaires et la dégénérescence neurofibrillaire, qui furent tous deux observés dans le cerveau de Auguste D, et dont les neuropathologistes de l'époque pensaient responsables de la démence présénile dont elle souffrait (Fisher, 1907).

2. Les neuropathologies, affections micro et macroscopiques

A. Atrophie du cerveau – aspect macroscopique.

L'atrophie cérébrale importante identifiée par Alzheimer (Alzheimer, 1907) dans cette maladie est le résultat d'une pathologie évolutive. L'hippocampe est sévèrement touché (De Leon *et al.*, 1989). Fox et collaborateurs, en utilisant la technique d'imagerie par

résonance magnétique ont pu mettre en évidence la fenêtre temporelle réduite qui conduit à l'atrophie du cerveau d'une patiente atteinte d'une forme sévère, génétique de maladie d'Alzheimer (Fox *et al.*, 2001, Figure 7).



*Figure 7 : IRM anatomique coronale T1 avec mesure des changements perçus dans une unité de volume (voxel) pendant 11 mois (contrôle, gauche) et 14 mois (patient, droite). Le parenchyme apparaît en blanc et gris tandis que les liquides apparaissent en noir. Les couleurs chaudes indiquent une augmentation du volume occupé par les liquides (et donc une réduction du volume occupé par le parenchyme) pendant la période et dans le voxel étudié tandis que les couleurs froides indiquent une réduction. On peut noter chez le cerveau contrôle le niveau réduit occupé par les sillons et ventricules tandis que chez le cerveau de patient celui-ci est plus important. Adapté de Fox *et al.*, 2001.*

L'atrophie est majeure dans la région du lobe temporal et notamment au niveau de l'hippocampe, de l'amygdale et du cortex entorhinal, régions impliquées dans l'encodage, le stockage et la restitution de la mémoire alors que les cortex moteur et sensoriel, le cervelet sont épargnés. Une hypothèse expliquant l'atrophie observée serait d'une part une perte neuronale mais surtout une perte synaptique (Terry *et al.*, 2000), provenant de la neurotoxicité consécutive aux lésions β -Amyloïde et Tau.

B. Les lésions histopathologiques

Dans le cerveau des patients atteints de MA sont retrouvées deux types de lésions bien distinctes provoqués par l'agrégation et le dépôt de protéines : Le peptide β -amyloïde et la protéine Tau.

a. Lésions β -Amyloïde

La séquence de dépôt des agrégats de peptide β -amyloïde suit une extension stéréotypée qui commence dans le néocortex cérébral et le cortex puis s'étend aux régions entorhinale et transentorhinale, à l'hippocampe puis au diencephale et enfin au tronc cérébral (Thal *et al.*, 2002). Thal et collaborateurs suggèrent qu'elle se produit séquentiellement en suivant les voies neuroanatomiques. Le séquençage en acides aminés d'une protéine issue de plaques séniles par Glenner et Wong en 1984 a permis d'identifier un peptide de 4 KDa organisé en feuilletts β -plissés au sein des plaques. Ce peptide physiologique de 4 kDa est issu du clivage protéolytique séquentiel de son précurseur APP (Amyloid Precursor Protein) par deux enzymes : la β -sécrétase (ou BACE1) et la γ -sécrétase, cette dernière consistant en un complexe de protéines dont les présénilines 1 et 2. L'APP est une protéine transmembranaire dont le gène est localisé sur le chromosome 21. Bien que le métabolisme de cette protéine soit bien caractérisé, on sait peu de choses sur la fonction de ses métabolites. Le métabolisme de l'APP peut avoir lieu selon 2 voies principales, que l'on appelle les voies amyloïdogéniques et non-amyloïdogéniques (De Strooper *et al.*, 2000 ; Anderson *et al.*, 1992). La voie non-amyloïdogénique est le résultat du clivage de l'APP par les α -sécrétases qui conduit à la formation de peptide soluble sAPP α et de C83. Ce dernier étant ensuite clivé par la γ sécrétase en un fragment de 3Kda appelé p3. La voie amyloïdogénique a lieu via le clivage par la β -sécrétase (appelée BACE-1) qui conduit à la formation d'un peptide soluble appelé sAPP- β et de C99, qui à son tour est clivé par la γ -sécrétase en peptide β -amyloïde (figure 8).

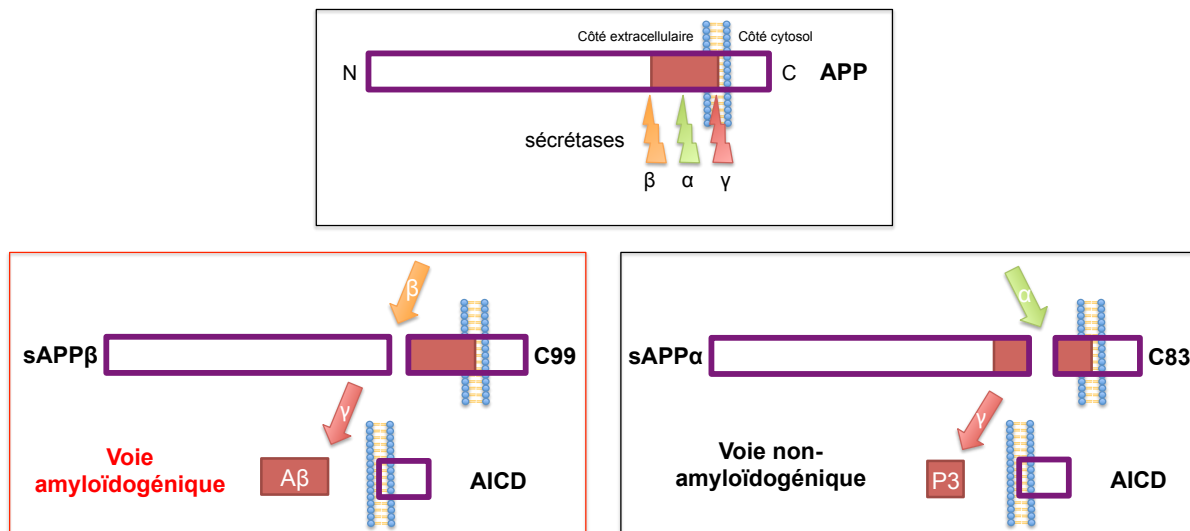


Figure 8. Différentes voies du métabolisme de l'APP. L'APP, protéine transmembranaire est la cible des sécrétases α , β et γ . La voie amyloïdogénique conduit notamment à la formation du peptide β -amyloïde et à la formation de l'AICD et du sAPP- β . La voie non-amyloïdogénique conduit à la formation de sAPP- α de P3 et d'AICD.

Dans les formes génétiques de la maladie, les mutations des gènes de l'APP ou des PS1 et PS2 ont pour effet l'augmentation soit de la production des peptides A β 1-40 et 1-42 soit l'augmentation du ratio A β 1-42 / 1-40 (Selkoe et Podlisny, 2002). Le peptide A- β peut être long de 36 à 43 acides aminés. Les formes majoritaires de A β sont les A β 1-40 et A β 1-42 qui comptent respectivement pour près de 90 et 10% des formes totales d'A β . Le peptide A β 1-42 possède deux aminés hydrophobes supplémentaires qui lui confèrent un potentiel pro-agrégatif supérieur.

Dans la MA, les monomères de peptides β -amyloïdes sont donc produits en plus grande quantité, et leur clairance vers la périphérie est altérée, ce qui a pour conséquence l'augmentation de leur quantité dans le cerveau (Selkoe *et al.*, 2000). Cette concentration conduit à la formation d'agrégats solubles, qui d'abord sont des oligomères, formés d'une dizaine de monomères. S'ensuit leur agrégation en protofibrilles de moins en moins solubles qui finissent pas se déposer sous forme de fibrilles, les constituants des plaques (Figure 9.). Des données indiquent que les oligomères de A β , au contraire de leurs monomères et fibrilles, seraient responsables de la neurotoxicité et la dysfonction synaptique présente dans la MA (Lambert *et al.*,

1998 ; McLean *et al.*, 1999 ; Walsh *et al.*, 2002).

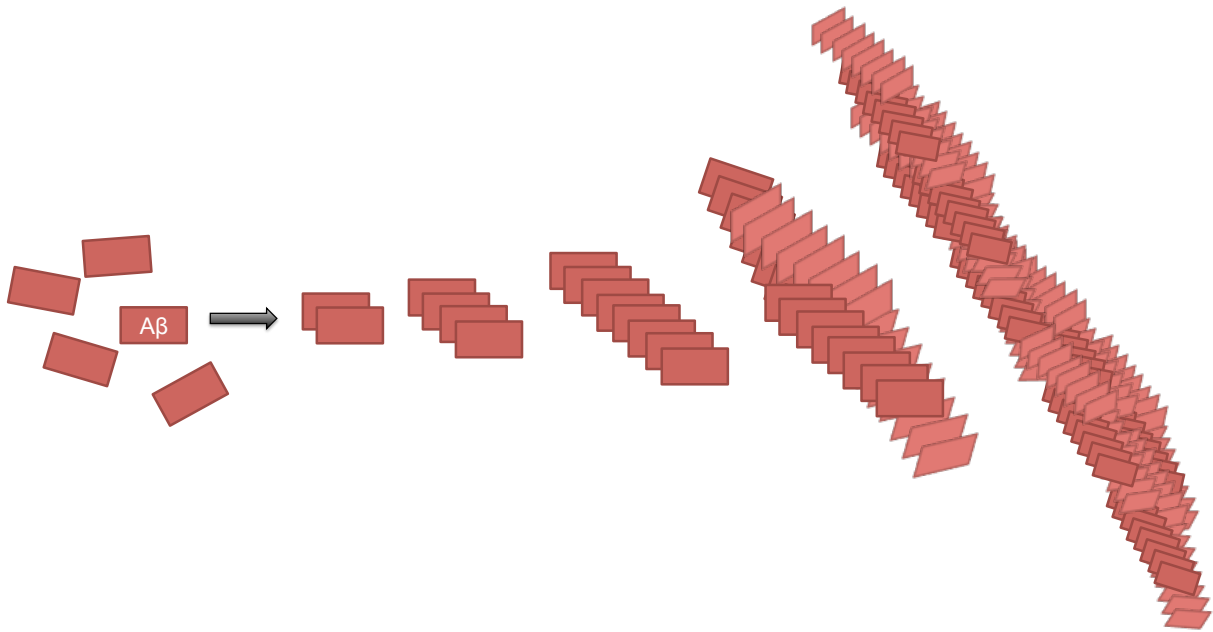


Figure 9. Oligomérisation du peptide β -amyloïde. Les monomères de A- β , solubles, s'agrègent en oligomères puis en protofibrilles et fibrilles.

Cette hypothèse est corroborée par l'établissement récent d'une lignée transgénique de souris exprimant une pathologie amyloïde exclusivement composée d'intermédiaires oligomériques de peptide amyloïdes (Tomiya *et al.*, 2010). Ces souris présentent des altérations mnésiques sans que des plaques ne soient présentes dans leur cerveau. L'ensemble de ces données suggère que les plaques servent de réservoirs de peptides amyloïdes, qui sous forme soluble, oligomériques sont bien plus toxiques (Walsh et Selkoe, 2004).

B. Dégénérescence neurofibrillaire

Dans les années 1960 l'analyse par microscopie électronique de sections de cerveau a permis de mettre en évidence l'ultrastructure en double hélice de la dégénérescence neurofibrillaire (DNF) (Kidd 1963, 1964). La nature moléculaire exacte de la DNF ne fut élucidée que dans les années 1980. Ainsi, par l'utilisation d'anticorps spécifiques on y détecta de la protéine Tau (Brion *et al.*, 1985, Delacourte et Défossez 1986). Une preuve additionnelle indiquant la nature exacte de la protéine constituante des PHF fût apportée par Goedert *et al.* 1988; Wischik *et al.* 1988a,b qui séquencèrent des fragments de protéines isolées du noyau des PHF et découvrirent que les ADNc

dérivés de ces fragments codaient pour la protéine Tau.

Les filaments appariés en hélice, constituants de la dégénérescence neurofibrillaire sont retrouvés dans une vingtaine de pathologies neurodégénératives appelées tauopathies (Sergeant *et al.*, 2008). Certaines tauopathies présentent la caractéristique de contenir également de la pathologie amyloïde comme la MA, le syndrome de Down, la démence pugilistique, ou bien en être exempt, comme pour la maladie de Niemann-Pick de type C, la démence frontotemporale avec syndrome parkinsonien liée au chromosome 17 (FTDP-17) ou la dégénérescence corticobasale (Buée et al 2000, Higuchi *et al.*, 2000).

En 1991, Braak et Braak soulèvent l'hypothèse selon laquelle l'évolution de la dégénérescence neurofibrillaire dans les différentes structures du cerveau pourrait expliquer le déclin cognitif (Braak et Braak, 1991). Delacourte et collaborateurs confirment cette hypothèse en 1999, via une étude basée sur l'analyse de 60 cerveaux de patients non-déments et 70 cerveaux de patients déments. Ces auteurs observent que les filaments appariés en hélice constitués de protéine Tau se répandent de façon stéréotypée, séquentielle et hiérarchique au sein des structures du cerveau et ont établi une classification en stades reflétant l'envahissement progressif des différentes régions du cerveau (Figure 10).

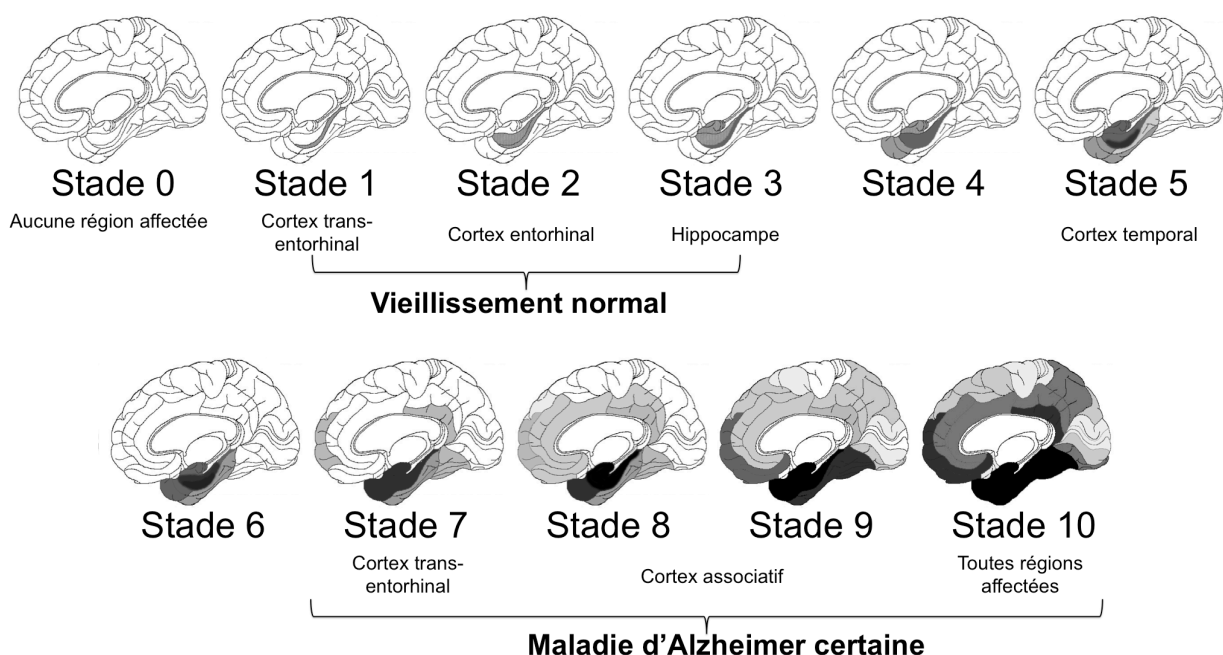


Figure 10. L'évolution stéréotypée de la pathologie Tau au cours de la MA commence par la région hippocampique puis s'étend à l'ensemble des régions corticales. Adapté de Delacourte et al., 1999.

De façon intéressante, bien que cette classification en stades a été faite sans inclure la notion de statut cognitif, les auteurs ont remarqué que l'intégralité des cerveaux de patients non-déments étaient aux stades S0 à S5, tandis que la totalité des cerveaux de patients de MA étaient aux stades S7 à S10 (Figure 10). D'autres auteurs ont également fait l'observation d'une bonne corrélation entre la DNF et les perturbations mnésiques (Duyckaerts *et al.*, 1997).

3. L'inflammation dans la MA

L'inflammation est une caractéristique importante dans de nombreuses pathologies neurologiques dont la Sclérose en plaques, la sclérose latérale amyotrophique, la maladie de Parkinson (Wyss-Coray et Rogers, 2012), et la MA (Mandrekar-Colucci et Landreth, 2010). Des données épidémiologiques indiquent que la consommation chronique d'anti-inflammatoires non stéroïdiens diminue le risque de développer la MA (McGeer *et al.*, 1996). De la microglie activée (Rogers *et al.* 1988) et des astrocytes (Sofroniew et Vinters, 2010) sont retrouvés aux abords des plaques séniles, et le cerveau des patients atteints de MA comprend des niveaux de médiateurs inflammatoires supérieurs à ceux de contrôles du même âge (Sastre *et al.*, 2008).

Le rôle protecteur ou délétère de la neuroinflammation reste à définir, cependant on sait par exemple que la microglie est capable de phagocyter les dépôts amyloïdes *in vitro* (Bard *et al.*, 2000). Les microglies sont capables également de sécréter des médiateurs inflammatoires (Lue *et al.*, 2001a,b; Wyss-Coray *et al.*, 2006; Cameron et Landreth, 2010) dont la cytokine TNF α , des chimiokines comme CCL3, CCL4, CCL5, et d'autres (Wyss-Coray et Rogers, 2012). Une expression locale de ces médiateurs peut avoir des conséquences délétères pour les neurones (voir pour revue in Akiyama *et al.* 2000). Les chimiokines CCL3, 4 et 5 sont connues pour être chimio-attractantes envers les lymphocytes T et les macrophages (Akiyama *et al.*, 2000), tandis que le TNF α peut avoir des conséquences cytotoxiques envers les neurones. Bien que les dépôts amyloïdes soient connus pour participer à l'inflammation

chronique qui a lieu dans la MA, certaines preuves aussi existent du rôle de la dégénérescence neurofibrillaire dans celle-ci. Sheng et collaborateurs ont montré la présence de microglies activées et d'astrocytes aux abords de la DNF (Sheng *et al.*, 1997). Des preuves expérimentales vont en ce sens. Ainsi, la souris THY-Tau22, qui surexprime une pathologie Tau hippocampique est aussi atteinte par de l'inflammation caractéristique d'une activation des macrophages, de la microglie et des astrocytes (Belarbi *et al.*, 2011, travail de master 2 et de thèse de Cyril Laurent, 2009 à 2013). L'administration de Lipopolysaccharide, composé fortement pro-inflammatoire, à des rongeurs reproduisant ou non les pathologies amyloïdes et Tau de la MA potentialise l'hyperphosphorylation de Tau (Bhaskar *et al.* 2003; Kitazawa *et al.*, 2005; Kitazawa *et al.*, 2008 ; Lee *et al.*, 2010 ; Roe *et al.*, 2011 ; Tweedie *et al.*, 2012). De plus, des données expérimentales obtenues par immunosuppression d'une lignée de souris transgéniques exprimant la protéine Tau humaine mutée en P301S indiquent une diminution de la pathologie Tau, suggérant le rôle délétère que ces processus inflammatoires puissent jouer dans cette pathologie (Higuchi *et al.*, 2007).

CHAPITRE III – LA PROTEINE TAU

En 1975, Weingarten et collaborateurs ont mis en évidence un facteur essentiel dans la conversion des dimères de tubuline en anneaux qui, dès lors peuvent s'assembler en microtubules. Ce facteur, protéique, est nommé Tau pour tubulin associated unit. La découverte d'une part de la nature protéique de la DNF (Brion *et al.*, 1985, Delacourte et Défossez, 1986), et le clonage de cette protéine (Goedert *et al.* 1988; Wischik *et al.*, 1988) dans la DNF ont été les points de départ de l'effort de recherche sur la protéine Tau.

1. Génétique de Tau

La protéine Tau humaine est codée par le gène MAPT en position 17q21 et est constitué de 16 exons. Neve et collaborateurs en 1986 observent que l'ARN messager de cette protéine est principalement exprimé dans les neurones du cerveau. On la trouve en moindre importance dans les astrocytes et oligodendrocytes (Ahmed *et al.*, 2011), et également dans le cœur, le muscle squelettique, les poumons et les testicules, et en de plus faibles proportions dans l'estomac et le foie (Gu *et al.*, 1996). Dans le cerveau on retrouve 6 isoformes différentes (Figure 11.), générés par épissage alternatif (Andreadis *et al.*, 1992; Neve *et al.*, 1986). L'inclusion ou l'exclusion des exons 2, 3 et 10 conduit à la formation de ces 6 isoformes dont la taille varie de 352 à 441 acides aminés (Goedert *et al.*, 1989). Une isoforme plus longue, appelée big Tau comprend un exon supplémentaire et est exprimée dans le système nerveux périphérique (Goedert 1992, Couchie 1992).

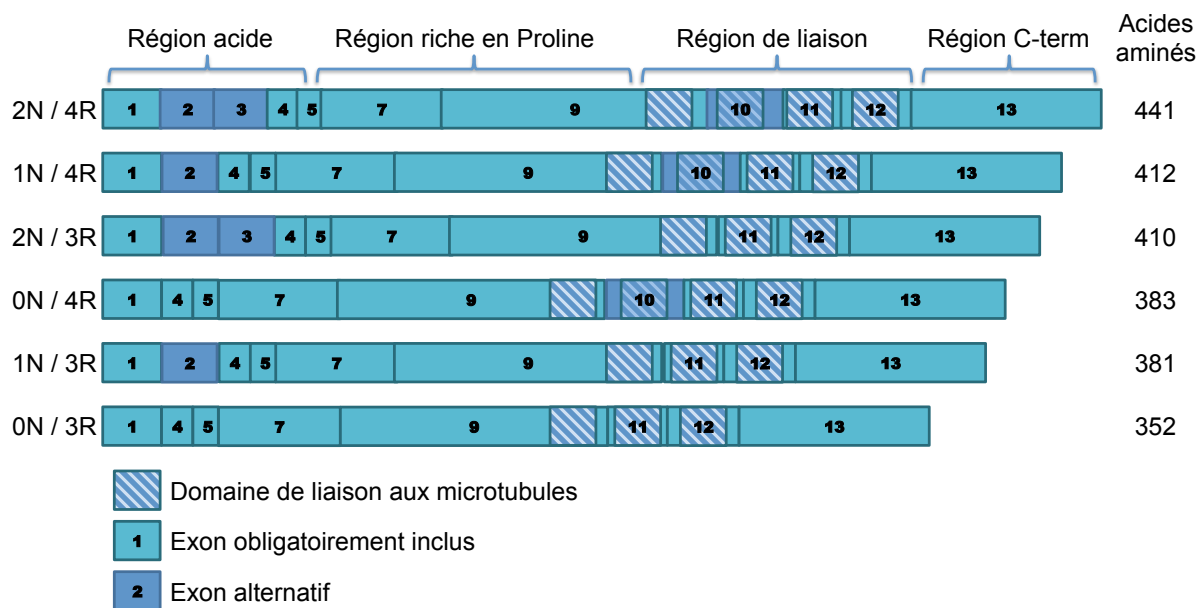


Figure 11 : Les différentes isoformes de Tau obtenues par l'épissage alternatif du gène MAPT se distinguent par l'absence (0N) la présence d'un (1N) ou de deux (2N) inserts dans la partie acide N-terminale, et de l'inclusion (4R) ou non (3R) de l'exon 10, domaine supplémentaire de liaison aux microtubules. Adapté de Martin et al 2011.

Tau est constituée de 2 domaines majeurs : un domaine d'association aux microtubules en C-terminal contenant 3 à 4 séquences de 18 acides aminés hautement similaires (nommés R : Repeat domains, Goedert *et al.*, 1989; Himmler, 1989, Lee et al 1989) et un domaine N-Terminal appelé domaine de projection et dont la fonction est peu connue. Ce domaine N-terminal est lui même composé d'une extrémité acide et d'une région riche en proline.

Tau remplit de nombreuses fonctions physiologiques, dont la régulation de la dynamique microtubulaire et intervient dans des cascades de transduction du signal.

2. Structure et fonctions de la protéine Tau.

La protéine Tau est globalement hydrophile, et de ce fait possède la particularité d'avoir une conformation plutôt linéaire (Figure 12. Mukrash et al 2009).

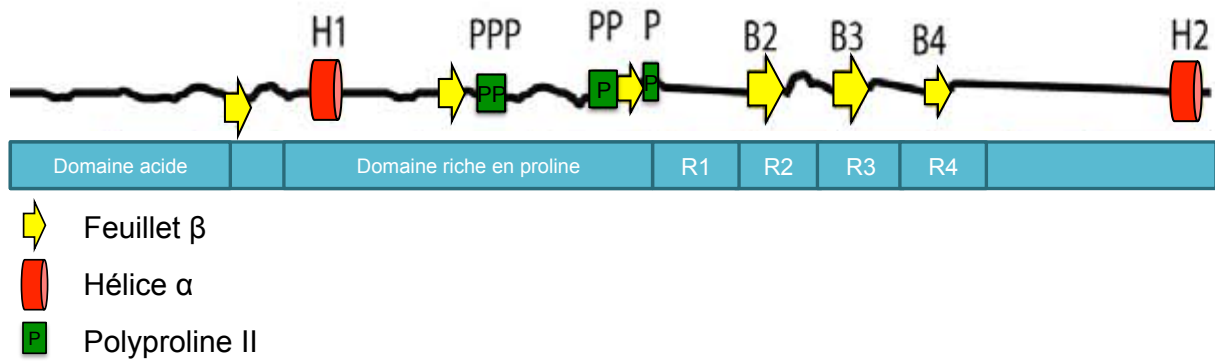


Figure 12. *Eléments structuraux de Tau. La majorité de la chaîne protéique est dépliée (ligne noire). On retrouve quelques éléments adoptant une structure secondaire en feuillets β , hélice α ou domaine polyproline II. Adapté de Mukrash et al 2009.*

Tau est une protéine intracellulaire. Au sein du neurone, elle occupe principalement les axones, mais est retrouvée également au niveau synaptique, nucléaire ou membranaire (Buée *et al.*, 2000). En fonction de son emplacement subcellulaire, Tau jouera un rôle différent, et adapté à sa localisation.

La fonction la plus connue et la plus caractérisée de Tau est la liaison aux microtubules, qui a lieu dans les axones.

A. Tau : protéine d'association aux microtubules

Tau est une MAP, une protéine d'association aux microtubules (Cleveland *et al.*, 1977). Les MT forment, de concert avec les filaments d'actine et les neurofilaments, le cytosquelette neuronal. Ils interviennent de ce fait dans de nombreux processus cellulaires. Dans le cerveau, une fonction importante des MT est celle permettant le transport intracellulaire de protéines, de vésicules et d'organites entre le soma des neurones et les extrémités axonales et dendritiques, jusque et depuis les synapses, bien souvent éloignées du site de synthèse des protéines et neurotransmetteurs. Le transport vers la périphérie ou vers le soma fait intervenir les protéines motrices kinésines ou dynéines, respectivement (Hirokawa et Takemura 2005). Tau, en tant que stabilisateur des MT participe donc au bon fonctionnement de ces mécanismes de transport. Par ailleurs, la surexpression de Tau dans un modèle in-vitro s'est soldée par une réduction drastique du transport kinésine-dépendant, menant à l'accumulation des organites et

vésicules au niveau du noyau (Ebner *et al.*, 1998). La notion que Tau puisse empêcher le bon fonctionnement du transport kinésine-dépendant a été confirmé par d'autres (Lapointe *et al.*, 2009, McVicker *et al.*, 2011) mais les mécanismes restent incertains. Il est probable que dans un contexte physiologique, le bon fonctionnement du réseau de transport microtubulaire requiert une labilité entre fixation et détachement de Tau aux microtubules.

Les MT, en peuplant l'intérieur des prolongements neuronaux, permettent aussi de maintenir le diamètre et la polarité axonaux. Tau, de par sa liaison aux microtubules permet le maintien des MT à distance les uns des autres (Figure 13. Hirokawa *et al.*, 1988).

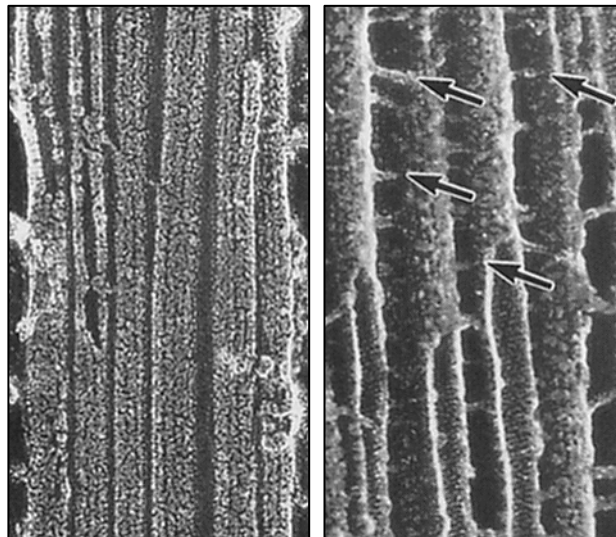


Figure 13. La protéine Tau se fixe aux microtubules et permet leur maintien à distance les uns des autres. A gauche, une préparation de microtubules polymérisés artificiellement en utilisant du taxol montre des microtubules en rang serré. A droite une préparation polymérisée en présence de protéine Tau montre la formation de ponts (flèches) maintenant les MT à l'écart les uns des autres. Adapté de Hirokawa 1988.

Deux modifications sur la protéine Tau peuvent moduler son efficacité de liaison aux MT. D'une part, les isoformes de Tau contenant 4 domaines de répétitions (4R) ont une plus grande affinité pour les microtubules et sont plus efficaces pour promouvoir leur assemblage que les isoformes en contenant 3 (3R, Butner and Kirschner, 1991; Goedert and Jakes, 1990; Gustke *et al.*, 1994). D'autre part, l'affinité de Tau pour les microtubules est régulée par son état de phosphorylation. Globalement déphosphorylé

Tau se lie aux microtubules et permet leur polymérisation. Davantage phosphorylée elle s'en détache (Buée *et al.*, 2000) (Figure 14.).

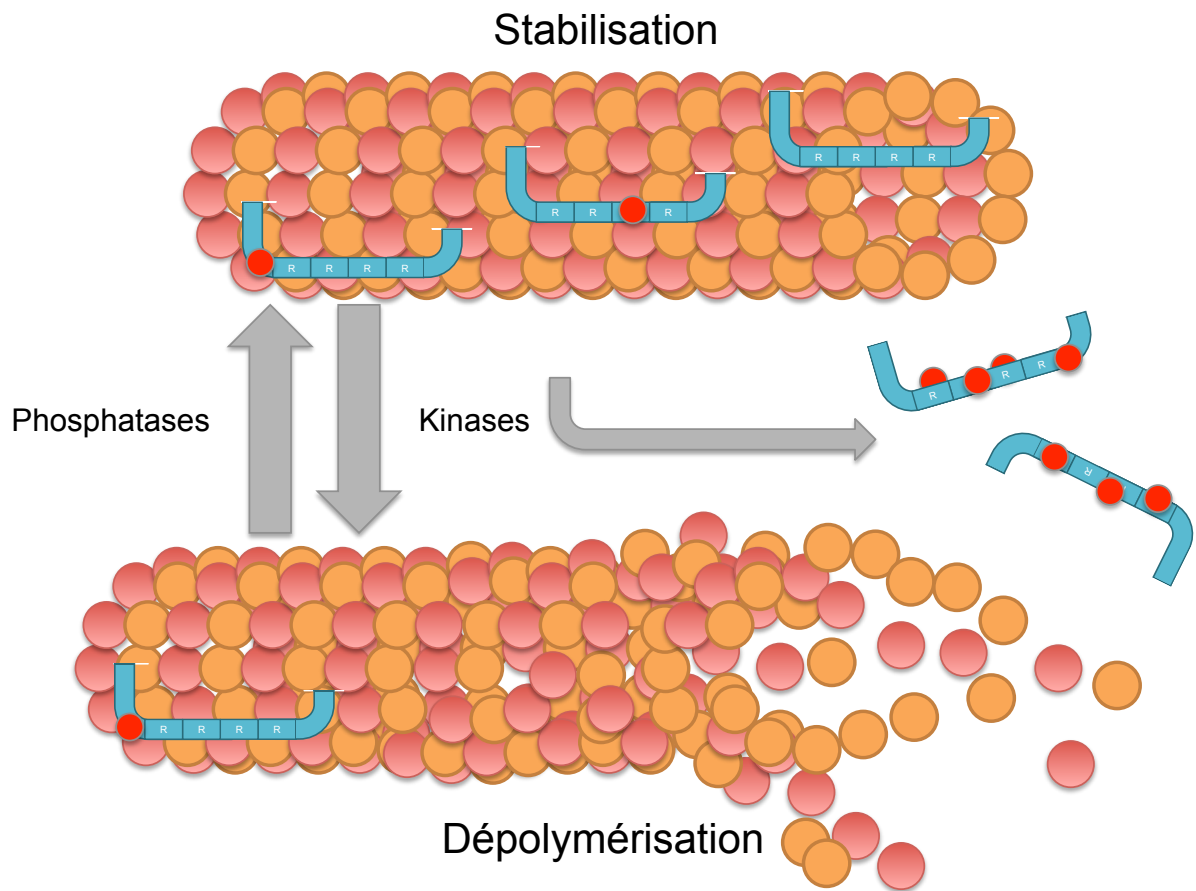


Figure 14. Régulation de la dynamique microtubulaire par Tau. Sous forme globalement déphosphorylée, Tau lie et stabilise les microtubules. Sous l'action de kinases (groupements phosphate représentés par un disque rouge), Tau davantage phosphorylé a une affinité réduite pour les microtubules, et s'en détache, menant à leur dépolymérisation. Adapté de Buée *et al.*, 2000.

Ainsi, l'état de phosphorylation de Tau est un point primordial dans la balance d'assemblage et de désassemblage des microtubules (voir chapitre consacré aux modifications post-traductionnelles de Tau).

Outre sa fonction de liaison et de stabilisation des microtubules, de nombreux autres partenaires de liaison à Tau ont été identifiés.

B. Autres partenaires et fonctions rapportées de la protéine Tau.

Un nombre important d'autres partenaires de Tau a été identifié (Buée *et al.* 2000, Mandelkow *et al.*, 2012). La fonction potentielle de tau dans ces partenariats commence à être investiguée.

Ainsi, Tau peut interagir avec des éléments du cytosquelette dont les filaments d'actine (Correas *et al.*, 1990, Fulga *et al.* 2007), les neurofilaments (Aamodt et Williams 1984), la dynactine (Magnani *et al.* 2007), la kinésine (Utton *et al.*, 2005). Tau peut aussi se lier à des kinases comme la GSK3- β (Sun *et al.*, 2002), la sous unité P85- α de la PI3K (Reynolds *et al.*, 2008), les tyrosine kinases Fyn (Lee *et al.*, 1998, Reynolds *et al.*, 2008, Ittner *et al.*, 2010), Src (Burnouf *et al.*, 2012) et Lck (Reynolds *et al.*, 2008). Elle peut également se lier aux membranes plasmiques (Brandt *et al.*, 1995, Maas *et al.*, 2000, Ittner *et al.*, 2010, Pooler *et al.*, 2012) sous forme déphosphorylée (Maas *et al.*, 2000, Pooler *et al.*, 2012) et indépendamment de ses domaines répétés (Brandt *et al.*, 1995). La protéine Tau interagit également avec la protéine 14-3-3 (Sluchanko *et al.*, 2009, Chen *et al.*, 2011), impliquée dans la régulation du métabolisme de l'insuline (Dubois *et al.*, 2009, Neukamm *et al.* 2012, Kleppe *et al.*, 2011).

Dans un contexte physiologique, il semblerait que la protéine Tau puisse se localiser au niveau synaptique, se fixer aux protéines d'assemblage PSD-95 et, sous forme phosphorylée y jouer un rôle clé dans la signalisation du récepteur NMDA (Mondragon-Rodriguez *et al.*, 2012) en modulant son activité.

Par ailleurs, la protéine Tau est capable de se lier à l'ADN (Hua et He, 2003; Krylova *et al.*, 2005). Dans des neurones de souris KO-Tau en culture soumis à un stress thermique (heat shock stress), l'ADN nucléaire subit une dégradation qui est rétablie par la ré-expression de Tau ciblée au noyau (1*et al.*, 2010). En conséquence Tau confère le maintien de l'intégrité de l'ADN nucléaire, et ceci est rendu possible grâce à la translocation de Tau au noyau.

3. Modifications post-traductionnelles de Tau : La phosphorylation

Tau peut subir une dizaine de modifications post-traductionnelles différentes parmi

lesquelles la O-Glycosylation, la glycation, la prolyl-isomérisation ou la troncation (Buée *et al.*, 2000 ; Sergeant *et al.*, 2008, Martin *et al.*, 2011). La modification post-traductionnelle la plus importante en terme de résidus touchés et la plus importante en terme de pertinence physiopathologique est la phosphorylation. Cependant, la troncation apparaît aussi comme un mécanisme aux conséquences pathophysiologiques importantes, puisqu'il servirait à la nucléation en faveur de la formation de DNF (de Calignon *et al.*, 2010, Kovacech et Novak., 2010).

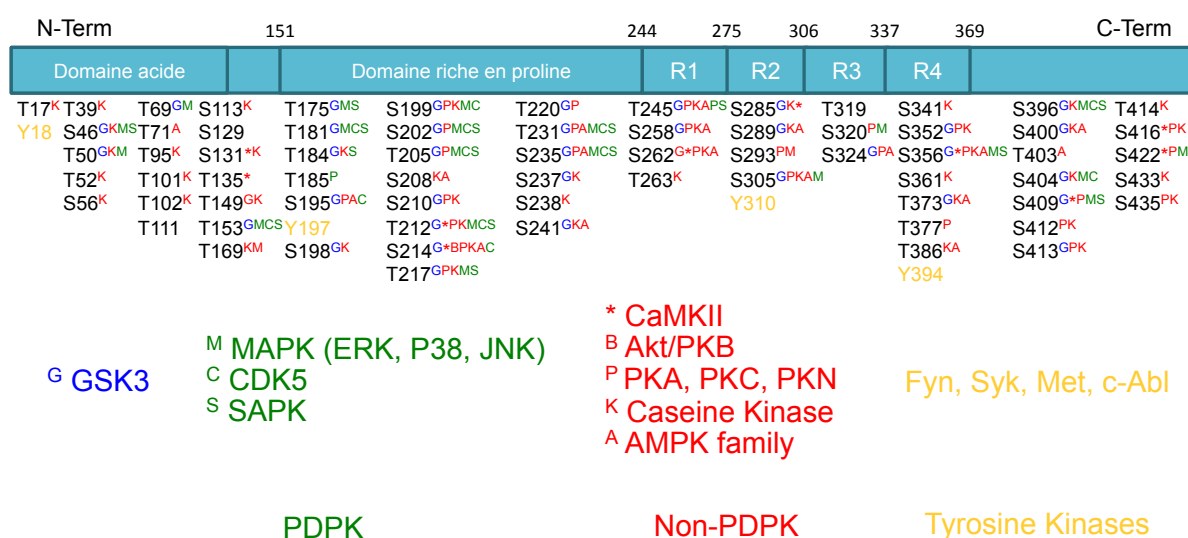


Figure 15. Diagramme non exhaustif des différents sites de phosphorylation de Tau par ses kinases. Ne sont représentés que les sites dont on a éventuellement identifié les kinases qui les phosphorylent (les kinases potentielles de 15 des 85 sites de phosphorylation de Tau n'ont pas été identifiées). Adapté de Buée *et al.*, 2000, Sergeant *et al.*, 2008, Mandelkow *et Mandelkow* 2012 *et* <http://cnr.iop.kcl.ac.uk/hangerlab/tautable>.

Il existe 85 sites potentiels de phosphorylation de la protéine tau (Figure 15). La majorité des sites de phosphorylation sont situés autour des domaines d'interactions aux microtubules, le domaine riche en proline qui le précède, et la région C-terminale de tau. On distingue deux types de phosphorylations. L'hyperphosphorylation consiste en la présence de plusieurs résidus phosphorylés sur une même protéine Tau, et / ou une augmentation du nombre de protéines tau phosphorylées sur un résidu (Kopke *et al.*, 1993; Ksiezak-Reding *et al.*, 1992), ces résidus pouvant être retrouvés phosphorylés en conditions physiologiques. La phosphorylation anormale est

constituée de résidus phosphorylés sur des sites qui, en conditions physiologiques ne le sont jamais (Buée *et al.*, 2000 ; Delobel *et al.*, 2002).

L'étude de la phosphorylation de Tau est considérablement facilitée par les nombreux outils immunologiques permettant la détection des épitopes phosphorylés ou non de Tau (figure 16).

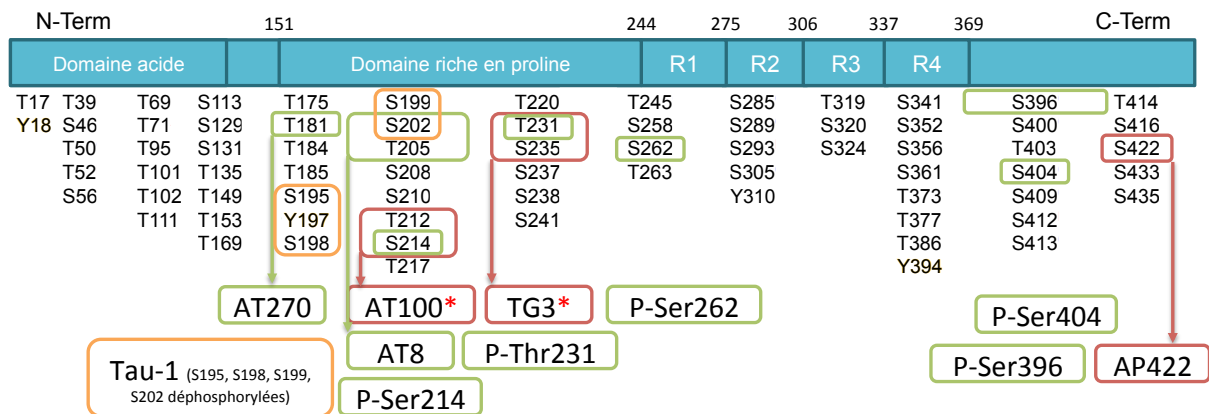


Figure 16. Quelques anticorps reconnaissant les épitopes hyperphosphorylés de Tau (en vert), anormalement phosphorylés (en rouge) et déphosphorylés (en orange). L'étoile * indique que l'anticorps reconnaît un épitope conformationnel. Adapté de Buée *et al.*, 2000 ; Martin *et al.*, 2011.

L'état de phosphorylation de Tau est sous le contrôle fin de l'action de kinases et de phosphatases.

A. Kinases

Une vingtaine de kinases ont été identifiées, et composent 4 groupes distincts (Sergeant *et al.*, 2008) (Figure 15.).

Le groupe des kinases qui ciblent les prolines (PDPK en anglais) phosphorylent tau sur les sérines ou thréonines qui sont suivies d'un résidu proline. Ce groupe inclus les kinases dépendantes des cyclines (CDK), les Mitogen Activated Protein Kinases (MAPK) et plusieurs protéines kinases activées par le stress (SAPK/JNK). Les non-PDPK incluent notamment les MARK, la protéine calcium-Calmoduline kinase de type II (CaMKII), la protéine Kinase dépendante de l'AMPc (PKA), la PKB/AKT, les PKC et PKN. Le troisième groupe est constitué d'une kinase phosphorylant tau sur des

résidus sérine ou thréonine suivi ou non par une proline. C'est le cas de la GSK3- β . Le quatrième groupe correspond aux tyrosines kinases tel que les Src kinases dont fait partie Fyn (Sergeant *et al.*, 2008). Les mécanismes conduisant à la phosphorylation de Tau par ses kinases sont complexes, pouvant mettre en jeu des phénomènes d'amorçage (Singh *et al.*, 1997 ; Wang *et al.*, 2007) ou d'isomérisation (Hamdane *et al.*, 2006).

B. phosphatases

Si les kinases de Tau ciblent des résidus particuliers, les phosphatases, au contraire sont moins spécifiques. La déphosphorylation de Tau est menée par l'action des phosphatases dont PP1, PP2A, PP2B et PP5 (Liu *et al.*, 2005). Ces phosphatases sont capables de déphosphoryler Tau en Ser199, Ser202, Thr205, Thr212, Ser214, Ser235, Ser262, Ser396, Ser404 et Ser409. PP2A est la phosphatase majeure de Tau, et son action compte pour 70% de l'activité phosphatase de Tau dans le cerveau (Torrent et Ferrer, 2012). Pin1, la prolyl-isomérase de Tau, en agissant sur le site Thr231 conduit à un changement conformationnel, permettant l'accès facile de Tau à PP2A (Hamdane *et al.*, 2006) et de ce fait peut contribuer à la déphosphorylation de Tau.

4. Mécanismes par lesquels Tau pourrait contribuer au phénotype mémoire de la MA

La protéine Tau est indéniablement en cause dans la MA. Au cœur des filaments appariés en hélice, constituants de la DNF, Tau est abondamment phosphorylée (Sergeant et al 1995, Grundke-iqbal *et al.*, 1986), et ce, à raison de 2 à 3 fois plus de moles de phosphate par mole de protéine Tau que dans le cerveau de patients non-atteint de MA (Kopke *et al.*, 1993). Ce lien de cause à effet entre Tau et la MA est corroboré par la notion que les tauopathies comme la FDTP-17 sont causées par des mutations sur le gène Tau, et conduisent à sa phosphorylation et son agrégation (Spillantini and Goedert, 1998), de pair avec différents troubles moteurs et cognitifs. Cependant, chez les patients atteints de MA, le gène de Tau ne présente pas de mutation. L'étude des mécanismes conduisant à l'agrégation de Tau dans la MA soulève par conséquent plusieurs hypothèses, parmi lesquelles on peut citer les

dérégulations de la phosphorylation (Buée *et al.*, 2000).

L'hyperphosphorylation et la phosphorylation anormale de Tau sont au cœur des hypothèses mettant en avant Tau dans les désordres cognitifs dont souffrent les patients atteints de MA. Cette phosphorylation abondante sur Tau peut agir dans la pathologie selon trois schémas.

A. La perte de fonctions physiologiques de Tau

La perte de fonction liée à un excès de phosphorylations, qui dans leur proportion et leur localisation ne sont pas physiologiques amènera à l'incapacité de Tau de mener à bien ses nombreuses fonctions cellulaires et subcellulaires. Par exemple, la phosphorylation de Tau en Ser262, Ser293, Ser324 et Ser356, occupant respectivement les domaines R1 à R4 a été montrée comme réduisant l'affinité de Tau pour les microtubules (Dickey *et al.*, 2007; Drewes *et al.*, 1995). Il en va de même pour la phosphorylation sur les résidus Thr231, Ser235 et Ser262 (Sengupta *et al.*, 1998). De manière générale, un excès de phosphorylation conduit à une désorganisation du cytosquelette microtubulaire (Alonso *et al.*, 1994; Li *et al.*, 2007) et perturbe le transport axonal (Bramblett *et al.*, 1993).

Ensuite, au vu des nombreuses fonctions accessoires de Tau, et notamment au niveau de son implication dans diverses voies de signalisation comme celle du récepteur NMDA à la synapse (Mondragon-Rodriguez *et al.*, 2012), son rôle protecteur de l'ADN (Sultan *et al.*, 2011), on peut supposer qu'une perte de fonction de Tau aura des conséquences sur l'ensemble de ses fonctions.

L'hypothèse de la perte de fonction, bien que séduisante, est en fait réfutée par les données issues des modèles inactivés pour la protéine Tau. En effet, ces modèles KO-Tau sont viables et peu d'entre eux présentent des altérations cognitives ou autres anomalies (Harada *et al.*, 1994 ; Dawson *et al.*, 2001 ; Fujio *et al.*, 2007 ; Yuan *et al.*, 2008).

B. Perte de fonctions pathogéniques de Tau

Curieusement, la délétion de Tau, réalisée dans les modèles KO-Tau peut avoir des conséquences protectrices dans certains cas. Plusieurs études rapportent le potentiel protecteur de la délétion de Tau sur la toxicité de A β (Rapoport *et al.*, 2002, Roberson *et al.*, 2007, Vossel *et al.*, 2010, Leroy *et al.*, 2012). Roberson et collaborateurs en 2007 ont par exemple montré qu'une déficience en protéine Tau rétablit les déficits cognitifs induits par le transgène APP humain dans un modèle de souris (souris hAPP : Mucke *et al.* 2000) (Figure 17), et ce, sans modifier la quantité de pathologie amyloïde de la souris.

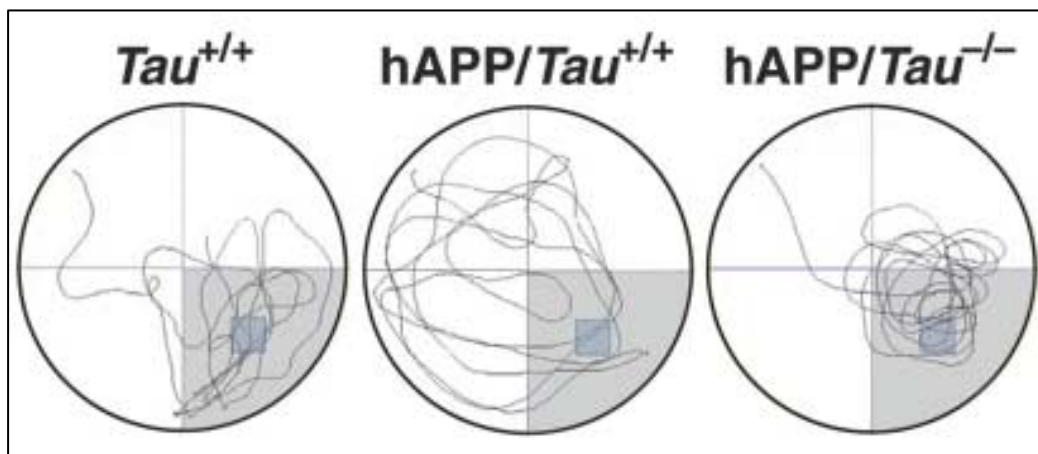


Figure 17. Tracés représentatifs lors du test de la piscine de Morris, permettant l'évaluation de la mémoire spatiale. La plateforme ayant été retirée à ce moment de l'expérience, une souris ayant retenu l'emplacement de la plateforme séjournera davantage dans le cadran cible (souris contrôle, tracé de gauche), lieu où se trouvait la plateforme pendant la phase d'apprentissage. Une souris exprimant la protéine APP humaine peine à se souvenir de l'emplacement de la plateforme (tracé du milieu). La déficience en protéine Tau, chez la souris exprimant la protéine APP humaine rétablit les déficits cognitifs (tracé de droite). Tiré de Roberson *et al.*, 2007.

Ittner et collaborateurs, en 2010, ont observé que la surexpression de Tau dépourvu de sa partie C-Terminale (Δ tau) conférait à ce même modèle de souris hAPP une protection typique de celle produite par le Knock-out de Tau (Roberson *et al.*, 2007). La protéine Δ tau, dépourvue de ses domaines de liaison aux microtubules mais conservant son potentiel de liaison à Fyn entrant alors en compétition avec la protéine Tau endogène. Ils ont ainsi pu montrer que la toxicité du peptide β -amyloïde dans le

modèle de souris hAPP est potentialisée par un mécanisme excitotoxique régi par l'interaction entre Tau et Fyn à la synapse.

La notion que Tau puisse jouer un rôle pathogénique a été par ailleurs illustré par Fulga et collaborateurs, en 2007. Ces auteurs ont montré que la fonction de Tau de liaison aux filaments d'Actine induisait la formation d'agrégats d'actine potentiellement neurotoxiques (Fulga *et al.*, 2007).

Ces données soutiennent ainsi l'hypothèse selon laquelle, dans la physiologie normale, Tau joue plusieurs rôles dont certains sont discrets (absence de phénotype majeur de la KO-Tau), mais qui deviennent pathogéniques lorsque le contexte pathologique lié à la protéine β -Amyloïde commence à œuvrer.

C. Gain de fonction anormale de Tau

L'hypothèse prédominante commence par l'hyperphosphorylation, qui confère à Tau un gain de fonction toxique (Steinheilb *et al.*, 2007; Nishimura *et al.*, 2004; Khurana *et al.*, 2006 ; Xu *et al.*, 2010). L'hyperphosphorylation de Tau semble favoriser son détachement des MT, puis son assemblage sous forme de PHF (Goedert, 1996 ; Liu *et al.*, 2007) et induire le recrutement de protéines Tau normales afin de former des agrégats (Alonso *et al.*, 1996; Sato *et al.*, 2002). D'autres facteurs et notamment certaines autres modifications post-traductionnelles de Tau peuvent influencer l'agrégation de Tau, comme la troncation (de Calignon *et al.*, 2010, Kovacech et Novak., 2010), la glycation ou la O-glycosylation.

Récemment, des preuves suggèrent que les formes solubles de protéines Tau agrégées possèdent un pouvoir toxique plus important que les formes non solubles et déposées. Chez la souris P301L, qui surexprime de la protéine Tau mutée et agrégée, l'utilisation d'un inhibiteur de kinases a réduit substantiellement le phénotype moteur de cette souris. Ceci s'est produit en parallèle d'une diminution de la quantité de protéines Tau hyperphosphorylées, sans pour autant réduire la quantité de DNF (Le Corre *et al.*, 2006). De même, dans un modèle de souris permettant une expression contrôlée dans le temps d'un transgène Tau humain pathologique (P301L) l'arrêt d'expression de Tau

conduit à une diminution des formes solubles agrégées de Tau, sans diminuer le nombre de DNF, et cela s'accompagne d'améliorations cognitives (Santacruz *et al.*, 2005). Enfin, la DNF à elle seule ne semble pas provoquer de mort neuronale (de Calignon *et al.*, 2010). Ainsi, tout comme dans le domaine de la recherche sur le peptide β -amyloïde, il est suggéré que les formes hautement agrégées de protéines Tau puissent être des réservoirs de protéines Tau sous forme peu toxique.

CHAPITRE 4 MODELES D'ETUDES DE LA RELATION METABOLISME – MA

Le lien épidémiologique reliant les désordres métaboliques et la MA a été bien étudié, et a fourni de nombreux résultats. L'obésité, le surpoids, le diabète de type 2, et plus généralement le syndrome métabolique sont des facteurs de risque importants de survenue de la MA, le risque pouvant s'inverser à un âge avancé dans le cas de l'obésité ou de l'hypertension, par exemple (voir pour revue : Mayeux et Stern, 2012). Les relations entre ces pathologies métaboliques sont étroitement liées, ainsi, un individu obèse sera à risque pour le DT2, et présentera probablement des manifestations caractéristiques du syndrome métabolique, avec répartition abdominale de la masse grasseuse et/ou dyslipidémie, hyperinsulinémie, hyperglycémie, intolérance au glucose et à l'insuline. Le décryptage du rôle joué par les diverses composantes susmentionnées dans la pathophysiologie de la MA n'est pas aisé dans les études basées sur l'homme. Une manière efficace de répondre à ces questions est l'utilisation de modèles animaux reproduisant les aspects de désordres métaboliques, dans un contexte initialement pathologique ou non. Nous verrons ici un aperçu des résultats publiés dans ce domaine.

1. Modèles basés sur l'injection de Streptozotocine

Un modèle expérimental de diabète très fréquemment utilisé est le modèle basé sur l'utilisation de la streptozotocine (STZ). Ce composé, analogue du glucose, est ciblé par le transporteur Glut2 présent sur les cellules β des îlots de Langerhans. A l'intérieur de celles-ci, la STZ provoque la mort des cellules pancréatiques. Ainsi, injectée en périphérique elle provoque une abolition de la sécrétion d'insuline et de ce fait reproduit les caractéristiques du diabète de type 1. Bien que les données épidémiologiques peinent à établir un lien entre diabète de type 1 et MA (Heitner et Dickson, 1997 ; Brands *et al.*, 2005), les expérimentations STZ ont été couramment employées, probablement de par leur mise en place aisée. Cependant, ils donnent une quantité d'informations non négligeables. Une hyperphosphorylation de Tau et sa

baisse d'affinité pour les microtubules sont retrouvés chez des rongeurs non-transgéniques injectés à la STZ (Planel *et al.*, 2007 ; Jolivalt *et al.*, 2008, 2009. ; Ke *et al.*, 2009 ; Kim *et al.*, 2009 ; Qu *et al.*, 2011 ; Yoon *et al.*, 2010; Kim *et al.*, 2012 ; Zhang *et al.*, 2012). Les sites affectés peuvent varier (Figure 18.).

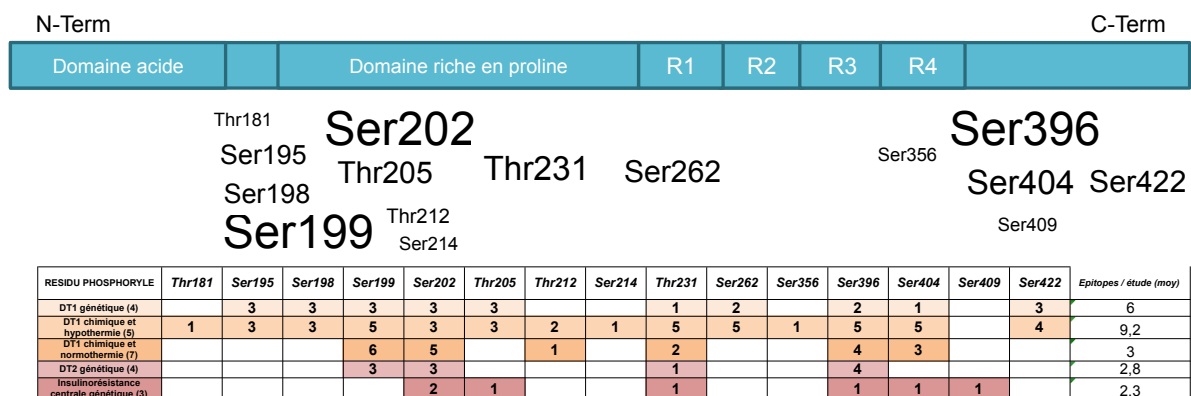


Figure 18. Diagramme non exhaustif représentant les sites de phosphorylation de Tau affectés dans les études basées sur des désordres métaboliques. Les modèles STZ touchent le plus de sites, notamment du fait de l'hypothermie et de l'activation des phosphatases qui en découle. Les modèles génétiques reproduisant une insulino-résistance périphérique ou centrale touchent souvent les sites AT8, (Ser202/Thr205) et PHF-1 (Ser396/Ser404), mais aucune règle ne domine.

L'origine de ces modifications diffère selon les études. Certains les attribuent à une activation de kinases, y compris la GSK3- β , kinase majeure de Tau (Jolivalt *et al.*, 2008). D'autres les attribuent à une dérégulation conjointe de l'état d'activation de kinases et de phosphatases (Planel *et al.*, 2007 ; Qu *et al.*, 2011) parmi lesquelles on peut citer GSK3- β , JNK, CaMKII et PP2A. Cependant, l'hypothèse majeure est que le désordre métabolique engendré par le STZ conduit à une hypothermie sévère chez les souris, et cause une forte diminution de l'activité de phosphatases (Planel *et al.*, 2007 ; 2004). Une particularité de ces modèles basés sur l'injection périphérique de STZ est que leurs effets centraux peuvent être dus à une diminution de l'insulinémie périphérique, retrouvée dans le diabète de type 1, mais également dans les formes sévères de diabète de type 2 non-traités, ou alors aux conséquences de l'hypothermie générée par ce composé (Planel *et al.*, 2007). La STZ est incapable de passer la BHE, cependant son transporteur intracellulaire Glut2 est présent dans le SNC. Plusieurs

auteurs se sont intéressés aux conséquences d'une injection intra cérébroventriculaire de STZ sur les caractéristiques physiopathologiques de la MA. L'avantage de l'injection ICV est l'absence d'effets métaboliques périphériques – les doses injectées étant jusqu'à 100 fois inférieures à celles utilisées en périphérie. Ainsi, l'administration i.c.v. de STZ provoque une pléthore d'effets centraux ayant des répercussions sur la pathologie de la MA. Précisément, au niveau central, les niveaux d'insuline, et de son récepteur ont été retrouvés diminués (Salkovic-Petrisic *et al.*, 2006 ; Deng *et al.*, 2009), un des signes distinctifs retrouvés dans le cerveau des patients (Steen *et al.*, 2005 ; Talbot *et al.*, 2012). Une hyperphosphorylation de Tau a également été observée dans ces études (Santos *et al.*, 2010 ; Deng *et al.*, 2009 ; Salkovic-Petrisic *et al.*, 2006), sur davantage de sites que dans les modèles d'injection périphérique de STZ. Les modèles murins de STZ n'apportent cependant pas d'information claire sur la pathologie amyloïde. Seule une étude rapporte la présence subtile d'agrégats de peptide amyloïde (Salkovic-Petrisic *et al.*, 2006). Enfin, dans des modèles injectés en ICV ou IP a été rapporté l'existence de déficits mnésiques (Salkovic-Petrisic *et al.*, 2006 ; Jolivald *et al.*, 2008 ; Haider *et al.*, 2012 ; Santos *et al.*, 2010). Les modèles basés sur le STZ, bien que reproduisant certaines caractéristiques de la MA restent peu physiologiques. Bien que les effets périphériques de ce composé soient bien caractérisés (Szkudelski, 2001), il n'en va pas de même pour ses effets centraux. La majeure partie de l'insuline du cerveau provient de la périphérie, cependant quelques études indiquent qu'une synthèse locale existe (Clarke *et al.*, 1986 ; Devaskar *et al.*, 1994 ; Woods *et al.*, 2003) mais cela reste controversé chez les mammifères (Banks *et al.*, 2012). Le STZ, une fois internalisé dans toute cellule exprimant le transporteur Glut2 induira des dommages à l'ADN de cette cellule. Il est admis que le STZ agit sur les cellules neuronales productrices d'insuline, cependant aucune démonstration claire n'est proposée. En conséquence les effets centraux de la STZ restent flous et il a par exemple été rapporté une importante atrophie causée par une mort neuronale généralisée, une inflammation et la présence de stress oxydatif (Salkovic-Petrisic *et al.*, 2006). D'autres modèles d'études existent, et se rapprochent plus des caractéristiques physiologiques de désordres métaboliques.

2. Modèles de diabète mono ou polygéniques.

Les rats BB/Wor et les souris NOD (non-obese mice) sont des modèles polygéniques de diabète de type 1. Ces rongeurs présentent une hyperphosphorylation massive de Tau dont l'origine provient soit d'une réduction de l'activité des phosphatases (Papon *et al.*, 2012), soit d'une augmentation de celle de la GSK3- β (Li *et al.*, 2007). Chez les rats BB/Wor, des signes de pathologie amyloïde ont été signalés (Li *et al.*, 2007) en parallèle d'altérations de mémoire montrés au cours du test du labyrinthe de la piscine de Morris (Li *et al.*, 2002). De même, les modèles polygéniques de diabète de type 2, présentent une pathologie de type MA. Les rats BBZdr/Wor par exemple présentent une hyperphosphorylation de Tau accompagnée d'une massive activation de la GSK3- β (Li *et al.*, 2007), les rats OLETF (Kim *et al.*, 2012), les souris db/db, modèle monogénique de diabète de type 2 (Kim *et al.*, 2009), présentent elles-aussi une hyperphosphorylation de Tau, mais là encore il n'existe pas de consensus concernant les mécanismes conduisant à cette augmentation. L'hypothèse prédominante est celle mettant en jeu la GSK3- β . Cette hypothèse est étayée par le fait que les sites de phosphorylation mis en jeu sont des épitopes que cible cette dernière (pSer396, Kim *et al.*, 2009, Li *et al.*, 2007). La GSK3- β se retrouve être la kinase située en aval du récepteur à l'insuline. Une activation tonique du RI conduit à l'activation de la PI3K via les substrats IRS1 et 2, puis Akt phosphoryle la Ser9 de la GSK3- β menant ainsi à son activation. Il est alors logique que la perte du signal insuline – rendue possible par la réduction de la concentration du ligand, de son récepteur ou par une moins bonne efficacité de la transmission du signal conduite à une désinhibition de la GSK3- β et aie les conséquences sur Tau que l'on sait. Certains modèles sont basés sur une inactivation génétique de l'un ou l'autre des éléments de la signalisation à l'insuline et tentent de répondre à cette question.

3. Modèles basés sur une invalidation génique

Les souris NIRKO (Knock-out pour le RI neuronal) ont été créées initialement dans le but d'étudier le rôle joué par le RI dans la régulation du métabolisme au niveau central (Brüning *et al.*, 2000). Ces souris, qui modélisent une insulino-résistance centrale

sévère, présentent logiquement une forte diminution de la phosphorylation des acteurs en aval du RI, c'est à dire de la PI3K, de Akt et de l'épitope inhibiteur de la GSK3- β . En conséquence, une hyperphosphorylation de Tau en Thr231 a été observée dans le cerveau de ces souris (Schubert *et al.*, 2004). Curieusement, aucune modification de la phosphorylation de l'épitope Ser202 n'a été observée, alors que ces 2 épitopes sont des cibles de la GSK3- β . En outre, ces souris ne présentent pas d'altération de leurs capacités mnésiques lors du test du labyrinthe de la piscine de Morris. La souris IRS2KO, au contraire, présente une phosphorylation augmentée en Ser202/Thr205, Ser235, Thr231, Ser396/Ser404 (Killick *et al.*, 2009 ; Schubert *et al.*, 2003). En outre, cela s'est produit en parallèle d'une inhibition de la GSK3- β et d'une diminution de l'expression de la sous-unité catalytique de la PP2A, suggérant cette fois que l'hyperphosphorylation de Tau dans ce modèle d'insulinorésistance centrale soit causée davantage par une diminution de l'activité des phosphatases plutôt qu'une activation de kinases. Ces différences restent inexplicables et viennent renforcer la complexité des phénomènes conduisant la résistance à l'insuline à provoquer la phosphorylation de Tau.

4. Les modèles expérimentaux combinant MA et métabolisme

Les modèles décrits plus haut permettent d'évaluer l'impact de désordres métaboliques sur la genèse de caractéristiques typiques de la MA que sont les pathologies amyloïdes et Tau. Cependant ces modèles ne permettent pas de considérer leur rôle dans une éventuelle interaction ou aggravation de symptômes déjà présents ou dans des modèles susceptibles de développer une pathologie de type humaine. C'est pourquoi de nombreux auteurs se sont intéressés à soumettre plusieurs modèles transgéniques emblématiques de la MA à des désordres métaboliques.

A.MA et STZ

La souris Tg2576, qui surexprime la protéine APP humaine mutée sur 2 sites (mutations "swedish"), reproduit une pathologie amyloïde qui commence avec une expression de protéine A β soluble dès 3 mois et évolue avec, à 9 mois l'apparition de plaques séniles. Ces souris présentent une mémoire spatiale progressivement dégradée

(Hsiao *et al.*, 1996). Soumises à une injection i.c.v. de STZ, elles présentent une augmentation de la quantité de plaques et une aggravation de leurs déficits de mémoire spatiale (Plaschke *et al.*, 2010). Ces modifications ont eu lieu en parallèle d'une diminution des formes inactives de la GSK3- β . Cependant aucune phosphorylation de Tau n'a été observée en Ser202/Thr205 chez ce modèle STZ. Le paradigme STZ a également été testé chez la souris pR5, un modèle de souris surexprimant la protéine Tau humaine mutée en P301L. Cette souris, de base, présente une hyperphosphorylation de Tau sur de nombreux épitopes physiologiques comme pathologiques. De façon similaire à d'autres études, l'injection de STZ chez les souris contrôles a provoqué une hyperphosphorylation de Tau en de multiples épitopes, y compris Thr181, Ser202/Thr205, Thr212/Ser214, Ser262/Ser356, Ser396/Ser404 et Ser422 (Ke *et al.*, 2009). Chez les souris P301L, l'injection de STZ, au contraire d'induire une augmentation massive de la phosphorylation n'a induit qu'une hyperphosphorylation de Tau en Ser422, ainsi qu'une augmentation de la quantité de DNF dans le cerveau. Aucune étude comportementale n'a été faite dans ce paradigme, du fait des problèmes moteurs que cette souris présente. Enfin, le modèle 3xTg (P301L-Tau, K670N et M671L APP, M146V-PS1) qui présente de la pathologie Tau et A β , lorsque injecté par de la STZ montre des signes d'augmentation de la charge amyloïde, mais pas de modifications de la pathologie Tau (Li *et al.*, 2010). Cependant les auteurs n'ont pas étudié de façon exhaustive cette dernière.

B. MA et diabète mono ou polygénique

La souris APP23, modèle surexprimant au niveau neuronal la protéine APP humaine mutée sur 2 sites, présente des altérations de l'apprentissage et de la mémoire spatiale corrélées au développement de plaques de peptide A β dans le cortex et l'hippocampe. Croiser ces souris avec le modèle d'obésité monogénique ob/ob ou de diabète polygénique NSY conduit à une accélération du phénotype d'apprentissage sans pour autant affecter les taux de A β solubles ou agrégés (Takeda *et al.*, 2010).

C.MA et invalidation génique

Certains modèles d'invalidation génique des éléments de la signalisation du récepteur à l'insuline ont été combinés avec quelques modèles reproduisant la pathologie de la MA. Cela concerne par exemple la souris Tg2576 invalidée pour IRS2. Logiquement, l'immunoréactivité pour les épitopes Ser396/Ser404, Ser235, et Thr231 s'est montrée supérieure. En revanche, la charge amyloïde dans ce modèle est significativement inférieure à celle des Tg2576 contrôles (Killick *et al.*, 2009). Cette notion selon laquelle une invalidation d'un élément de la voie de signalisation du récepteur à l'insuline engendre une amélioration de la pathologie amyloïde a également été observée dans un modèle hétérozygote pour le récepteur à l'IGF-1 et croisé avec le modèle de souris APP/PS1 (APP^{swe} et PS1 Δ 9) (Cohen *et al.*, 2009). Les souris APP/PS1 présentent classiquement une pathologie amyloïde sous forme de plaques de A β et des altérations de la mémoire spatiale. Lorsqu'invalidés d'une copie du récepteur à l'IGF1, ces souris présentent une diminution de la quantité d'A β soluble. De façon intéressante, la quantité de plaques est augmentée, et celles-ci sont physiquement plus stables. Ceci a lieu en parallèle d'une amélioration du phénotype mémoire de ces souris, suggérant là encore que les plaques séniles puissent jouer un rôle protecteur en retirant du cytoplasme les espèces solubles plus toxiques de A β . Talbot et collaborateurs ont démontré l'existence d'un défaut d'activabilité des récepteurs à l'insuline et à l'IGF-1 dans l'hippocampe issu de patients atteints de MA (Talbot *et al.*, 2012). Au regard du côté neuroprotecteur que la réduction génétique de la signalisation IGF-1R/IRS2 peut avoir chez des modèles amyloïdes, ces auteurs supposent que cette résistance à l'IGF-1/IRS2 puisse refléter un mécanisme adaptatif consécutif à l'élévation de la charge amyloïde.

D.MA et nutrition riche en graisse ou en sucres

Une dernière catégorie de modèles d'étude des relations entre MA et métabolisme comprend les modèles basés sur l'établissement physiologique d'une altération métabolique. En effet, bien que les modèles précédemment décrits apportent des informations intéressantes sur les modalités d'action de telle ou telle composante sur la

pathophysiologie, il n'en reste pas moins que ces modèles sont complètement non-physiologiques. Les modèles STZ modélisent davantage un diabète de type 1 alors que peu de preuves indiquent une interrelation entre cette affection métabolique et le risque de MA. Les modèles géniques d'obésité ou de diabète ne reflètent pas la réalité des maladies qu'elles modélisent. En effet, aucune forme de diabète génique n'existe dans la pathologie humaine, et les mutations du récepteur à la leptine chez l'homme ne représentent qu'une fraction des cas (Rankinen *et al.*, 2005). Enfin, tous ces modèles ne suivent pas l'évolution physiologique progressive menant à une obésité, un diabète ou une insulino-résistance. Les régimes riches en graisse et/ou en sucres sont couramment utilisés dans l'étude des complications métaboliques que la nutrition dite occidentalisée peut produire. Généralement ces régimes apportent une part majoritaire de calories sous forme de graisse végétale ou animale. La contribution des sucres est parfois étudiée. Par exemple, la souris Tg2576 soumise à un régime HFD présente une insulino-résistance périphérique et une inhibition de la voie de signalisation PI3K / Akt centrale. Il s'ensuit une activation de la GSK3- β et de la phosphorylation sur Tau en Thr231. De plus, la charge amyloïde est exacerbée et les souris présentent en outre des déficits d'apprentissage et de mémoire (Ho *et al.*, 2004). De façon analogue, un régime HFD appliqué chez la souris 3xTg conduit à des manifestations similaires (Julien *et al.*, 2010). Enfin, supplémenter l'eau de boisson des souris APP / PS1 avec 10% de saccharose, sans modifier la nature des croquettes a des effets délétères sur la pathologie amyloïde, avec augmentation de la quantité d'A β 42 et de plaques dans l'hippocampe (Cao *et al.*, 2007). Les souris abreuvées de sucre présentent, d'une part, une gluco-intolérance et d'autre part perdent complètement la capacité d'apprentissage et de mémorisation spatiale. De plus, il a été mis en évidence qu'une hypercholestérolémie induite par un régime accélère la pathologie amyloïde dans des modèles de type APP (Refolo *et al.*, 2000 ; Shie *et al.*, 2002) tandis qu'une réduction de la charge amyloïde (Refolo *et al.*, 2001) ou de la pathologie Tau (Boimel *et al.*, 2009) se produisent consécutivement à une intervention pharmacologique de nature à réduire les taux plasmatiques de cholestérol. Enfin, des rats nourris par un régime riche en cholestérol performant moins bien lors de tests de mémoire spatiale (Granholm *et*

al., 2008), suggérant qu'un excès de cholestérol puisse activer l'inflammation de type microglie.

L'ensemble de ces études nous indique l'existence d'un lien mécanistique entre changement métabolique et développement accéléré d'une pathologie de type MA. Cependant, à ce jour, aucune étude ne s'est intéressée aux conséquences d'une obésité induite de façon nutritionnelle sur la pathologie Tau humaine retrouvée dans la MA.

D'autre part, au travers de quelques une de ces études, il semblerait que les manifestations pathologiques relatives à la MA puissent modifier le métabolisme, notamment via une altération centrale de voies de signalisation ou par la modification de prise alimentaire dans certains paradigmes.

CHAPITRE 5 - MECANISMES DE REGULATION DE LA PRISE ALIMENTAIRE

La régulation de la prise alimentaire et de la dépense énergétique fait partie des mécanismes physiologiques indispensables au maintien d'un poids corporel stable au cours du temps. Le cerveau sonde en permanence l'état énergétique global du corps humain via une lecture des signaux hormonaux ou électriques issus du tractus gastro-intestinal et des tissus adipeux et les intègre puis les traduit en comportements adaptés.

L'obésité et l'anorexie mentale sont des pathologies dans lesquelles une dérégulation de ces mécanismes a lieu. Près de 120 médiateurs périphériques, hormonaux, relatifs à l'humeur ou aux systèmes de récompense ont été identifiés comme étant associés à l'anorexie mentale (Rask-Andersen *et al.*, 2009). Concernant l'obésité ce sont 408 gènes qui sont potentiellement impliqués (Rankinen *et al.*, 2006), illustrant la complexité des mécanismes qui gouvernent un comportement aussi anodin que celui de manger.

Le point ici n'est pas de traiter de façon exhaustive ces mécanismes, mais d'apporter une vision simple de leurs modes de fonctionnement.

A tout instant, le corps émet des signaux hormonaux qui informent le système nerveux central de l'état des réserves énergétiques et/ou de la présence du bol alimentaire. Par exemple, l'insuline est sécrétée par le pancréas en réponse à une élévation de la glycémie consécutive à une prise alimentaire, la leptine est produite par le tissu adipeux de façon proportionnelle à la quantité de réserves énergétiques qu'il contient, la ghréline est sécrétée en réponse à un état énergétique réduit et le GLP-1 est relargué suite au passage du bol alimentaire dans les intestins. Ces messagers sont interprétés au niveau central notamment via l'hypothalamus et conduisent à une réponse comportementale adaptée (voir pour revue Stanley *et al.*, 2005 ; Schwartz *et al.*, 2000 ; Coll *et al.* 2008) (Figure 19.).

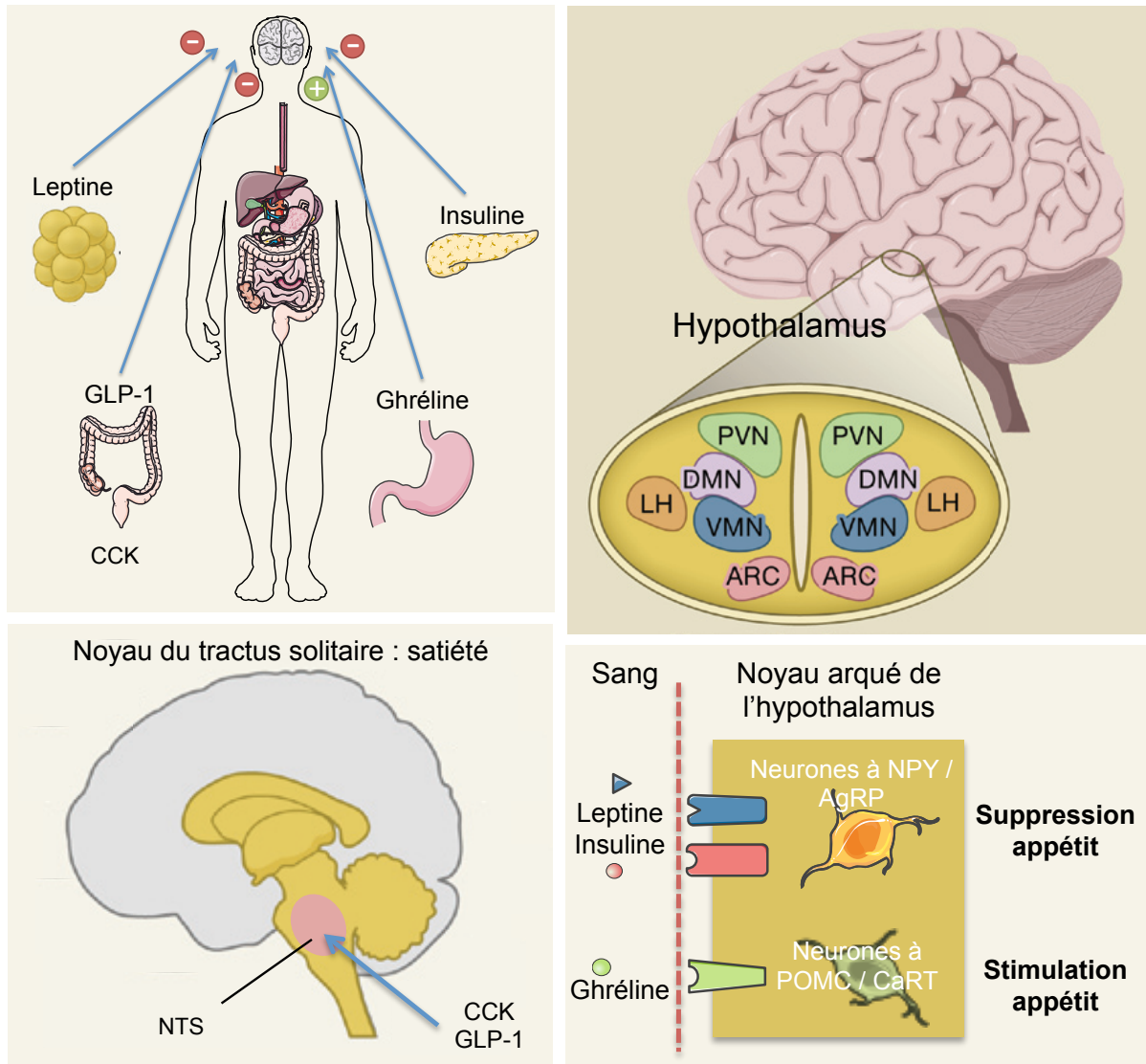


Figure 19. Représentation simple des modes de régulation de la prise alimentaire par le cerveau. Les signaux hormonaux périphériques rejoignent l'hypothalamus via la circulation sanguine au niveau de l'éminence médiane. Ils transmettent leur signal grâce à la fixation sur leurs propres récepteurs présents sur les neurones exprimant des neuropeptides à action soit orexigène, soit anorexigènes (stimulation ou suppression de l'appétit, respectivement). Le noyau du tractus solitaire intervient dans la satiété en modulant des signaux à la fois issus du nerf vague ou d'effecteurs hormonaux comme le GLP-1 et la cholecystokinine (CCK). Adapté de Coll et al., 2008.

1. Insuline

Les récepteurs à l'insuline sont présents sur presque tous les tissus chez les mammifères, non seulement dans les tissus répondant au signal insuline périphérique (foie, tissu adipeux, muscle) mais également dans le cerveau. L'insuline agit au niveau

du SNC et transmet un signal anorexigène. L'administration d'insuline ou d'un mimétique de l'insuline au niveau du SNC diminue la prise alimentaire et le poids corporel (Air *et al.*, 2002) et altère l'expression des gènes hypothalamiques connus pour réguler la prise alimentaire. On observe une diminution dose-dépendante de la prise alimentaire chez des rongeurs ayant reçu une infusion d'insuline dans le ventricule latéral (Ikeda *et al.*, 1986) ou dans l'hypothalamus (Menendez *et al.*, 1991), ce qui se solde par une perte de poids. A l'inverse, une injection d'anticorps anti insuline dans l'hypothalamus de rats a stimulé leur prise alimentaire (Strubbe *et al.*, 1977). De façon similaire, la délétion neurone spécifique du récepteur à l'insuline (NIRKO) conduit des souris à une hyperphagie menant à l'obésité, l'hyperinsulinémie et la dyslipidémie (Bruning *et al.*, 2000). De façon intéressante, l'inactivation spécifiquement centrale ou périphérique du récepteur à l'insuline aura des répercussions de magnitude différente sur l'index de résistance à l'insuline, les invalidées pour le RI cérébral étant plus gluco-intolérantes que celles invalidées pour le RI périphérique (Koch *et al.*, 2010). Enfin, l'inactivation du RI dans les neurones hypothalamiques exprimant les neuropeptides orexigènes AgRP et anorexigènes POMC ne cause pas de modifications de la prise alimentaire comme celles retrouvées chez les NIRKO (Konner *et al.*, 2007), suggérant ainsi que le récepteur à l'insuline central et ses éléments de signalisation jouent un rôle important dans la régulation du métabolisme périphérique, et ce, indépendamment de l'hypothalamus.

L'insuline propage sa signalisation via le RI, et on le retrouve largement distribué dans le cerveau (Havrankova *et al.*, 1978), et particulièrement dans les noyaux hypothalamiques impliqués dans la prise alimentaire, le noyau arqué, le noyau dorso-médian, le noyau paraventriculaire, les régions suprachiasmiques et périventriculaires (Corp *et al.*, 1986, Marks *et al.*, 1990). L'activation du RI passe par les IRS. Bien que les données issues des souris IRS1 KO ont donné des résultats contradictoires (poids corporel identique aux WT : Araki *et al.*, 1994 ; poids réduit : Gazdag *et al.*, 1999), les souris IRS2 KO présentent une prise alimentaire et des réserves lipidiques augmentées (Burks *et al.*, 2000 ; Hashimoto *et al.*, 2007). L'ARNm

de l'IRS-2 est hautement exprimé dans le noyau arqué, et de ce fait les actions centrales de l'insuline peuvent passer par l'IRS2 (Burks *et al.*, 2000). Chez le rat, lors d'une expérience de jeune, une injection ICV d'insuline a évité l'augmentation d'ARNm de NPY dans le NPV et le noyau arqué suggérant que le NPY hypothalamique soit un effecteur de l'insuline (Schwartz *et al.*, 1992). Les systèmes à mélanocortine ont aussi été impliqués en tant que médiateurs des actions centrales de l'insuline. Les RI sont présents sur les neurones à POMC du noyau arqué, et l'administration d'insuline dans le 3^e ventricule augmente l'expression en ARNm de POMC (Benoit *et al.*, 2002). L'utilisation d'un antagoniste de POMC bloque les effets anorexigènes de l'insuline (Benoit *et al.*, 2002). Ainsi, l'expression du NPY, peptide orexigène et de POMC, peptide anorexigène sont régulés à la baisse ou à la hausse, respectivement, par l'insuline et de ce fait permettent à cette dernière de transmettre un signal anorexigène, ce qui conduit à l'inhibition de la prise alimentaire observée consécutivement à un repas.

2. Leptine

Le tissu adipeux n'est pas un organe uniquement dédié au stockage d'énergie sous forme de graisse, c'est aussi un organe endocrine. Une de ses hormones les plus importantes est la leptine, un peptide dont l'action influence l'homéostasie énergétique et la fonction neuroendocrine. La leptine est le produit du gène *ob*, exprimé principalement dans les adipocytes (Zhang Y *et al.*, 1994). Les taux circulants de leptine reflètent le contenu énergétique stocké mais également la balance énergétique au niveau aigu. En effet, bien que les taux plasmatiques de leptine sont hautement corrélés avec la masse de tissus adipeux (Maffei *et al.*, 1995), dans le cas d'une restriction alimentaire on observe l'abolition de la leptine circulante (Frederich *et al.*, 1995, Maffei *et al.*, 1995), ce qui est rétabli après réalimentation. L'administration exogène de leptine à la fois au niveau central et périphérique réduit l'hyperphagie spontanée ou habituellement observée après un jeune (Ahima *et al.*, 1996) tandis qu'une administration chronique réduit la prise alimentaire ce qui a pour conséquence une perte de masse grasse et une baisse du poids corporel (Halaas *et al.*, 1995).

La leptine transmet son signal anorexigène via son récepteur à un seul domaine transmembranaire. Ce récepteur est couplé à une signalisation JAK et STAT3 (Stanley *et al.*, 2005). Le récepteur Ob-Rb est exprimé largement dans l'hypothalamus. Les neurones à peptides orexigènes NPY et AgRP (Mercer *et al.*, 2000) ainsi que ceux à peptides anorexigènes POMC et CART (Cheung *et al.*, 1997) expriment le récepteur à la leptine. La leptine inhibe l'activité des neurones orexigènes tandis qu'elle active les neurones anorexigènes (pour revue, Schwartz *et al.*, 2000 ; Stanley *et al.*, 2005). On observe ainsi, en conditions de faibles quantités circulantes de leptine, comme celles retrouvées en conditions de restriction alimentaire, une augmentation de l'expression des peptides NPY et AgRP et une activation de ces neurones, tandis qu'en conditions d'excès de prise alimentaire et de fortes quantités circulantes de leptine, les voies anorexigènes régulées par POMC et CART sont activées.

L'absence de leptine a des effets forts sur le poids corporel. L'absence de leptine circulante, due à une mutation sur le gène ob mène à une hyperphagie et une obésité mais aussi à des désordres neuroendocrinien et immunitaires chez la souris ob/ob. De façon similaire, une déficience en leptine chez les enfants ou les adultes est une des causes de l'obésité monogénique (Rankinen *et al.*, 2006). De même, une signalisation défectueuse du récepteur à la leptine altère le poids corporel et la fonction endocrine. En effet, une mutation au niveau du domaine intracellulaire de Ob-Rb, empêchant la transmission du signal dans la cellule conduit à l'obésité et au diabète chez la souris db/db (Chen *et al.*, 1996 (cell)).

A part dans les cas d'obésité monogénique chez l'homme ou chez la souris ob/ob, où les taux de leptine sont faibles ou nuls, la majorité des cas d'obésité humaine ou animale se traduit par des taux élevés en leptine circulante (Considine *et al.*, 1996, Maffei *et al.*, 1995), ce qui suggère la présence de résistance aux actions de la leptine.

La résistance à la leptine résulte en la combinaison de plusieurs facteurs, comprenant un transport réduit de la leptine dans le cerveau et une signalisation à l'insuline altérée dans les neurones répondants à la leptine.

De façon intéressante l'infusion cérébrale de leptine réduit l'expression en ARNm de

NPY, mais l'expression retourne à un état similaire à celui des animaux normaux (Sahu *et al.*, 2002), suggérant l'établissement moléculaire d'une résistance à la leptine. La résistance à la leptine pourrait ainsi être une conséquence de l'obésité, mais pourrait aussi en être une cause.

En conclusion, bien qu'une déficience en leptine ait des effets très forts sur la prise alimentaire, les taux de leptine retrouvés élevés dans les cas d'obésité ne semblent pas efficaces pour rétablir un poids normal, suggérant que la leptine soit davantage une hormone ayant un effet dans l'initiation de la prise alimentaire, lorsque ses taux sont faibles.

3. Ghréline

La ghréline est l'agoniste endogène du récepteur sécrétagogue de l'hormone de croissance (GHS-R), et possède un effet orexigénique puissant. Il est produit et relargué par l'estomac et par le duodenum, iléon, cecum et colon (Date *et al.*, 2000). Les taux de ghréline plasmatique sont régulés à la fois par le rythme endogène diurne (Murakami *et al.*, 2002) et par la prise alimentaire (Olszewski *et al.*, 2008). Chez les rongeurs, la ghréline plasmatique et les taux d'ARNm de ghréline gastrique retombent après ingestion de graisse ou de glucides. Les niveaux de stockage énergétique régulent aussi la ghréline. La ghréline circulante est inversement corrélée à l'adiposité. Des taux paradoxalement élevés de ghréline ont été trouvés chez les personnes atteintes d'anorexie mentale (Usdan *et al.*, 2008), mais cela est interprété comme un mécanisme compensatoire de l'organisme pour tenter de stimuler l'appétit. A l'inverse, les individus obèses ont des taux réduits de ghréline, qui retournent à la normale après une perte de poids induite par une restriction calorique (Hansen *et al.*, 2002). L'effet de la ghréline sur la prise alimentaire passerait par les neurones à NPY / AgRP du noyau arqué (Chen *et al.*, 2004 ; Tamura *et al.*, 2002).

4. Indices reliant pathologie amyloïde et susceptibilité métabolique

Dépourvue de leptine, la souris ob/ob affiche une prise alimentaire très augmentée et ainsi, de base, est caractérisée par un état insulino-résistant important et une obésité.

Curieusement, le double mutant APP23 x ob/ob présente une exacerbation de ce phénotype métabolique avec insulino-résistance et gluco-intolérance encore plus prononcées. De façon similaire, lorsque les souris APP23 sont cette fois croisées avec le modèle NSY polygénique de diabète de type 2, elles présentent des caractéristiques métaboliques qui laissent penser à une sensibilité accrue de ces souris à l'obésité (Takeda *et al.*, 2010). Chez les souris Tg2576 une telle susceptibilité à l'insulino-résistance est également observée de base, et est amplifiée lorsque ces souris sont soumises à un régime HFD (Kohjima *et al.*, 2010). Enfin, chez les souris 3xTg a été observé une prise alimentaire supérieure à celle des souris contrôles (Adebakin *et al.*, 2012). Des hypothèses émergent pour expliquer ces phénotypes. Dans le cerveau de patient atteint de MA, la signalisation à l'insuline est défectueuse (Talbot *et al.*, 2012). Plus particulièrement, les taux d'ARNm de l'insuline sont diminués (Steen *et al.*, 2005), l'expression du RI est réduite au niveau dendritique *in vitro* (Zhao *et al.*, 2008), la phosphorylation en Serine sur les protéines IRS1 connue pour constituer une des bases de l'insulino-résistance centrale, est augmentée dans l'hippocampe à la fois des patients mais aussi de souris 3xTg (Ma *et al.*, 2009). Compte tenu du rôle majeur que joue la signalisation à l'insuline centrale dans les processus de régulation du poids corporel et de la prise alimentaire, on peut se demander quelles conséquences cette insulino-résistance centrale jouera sur le métabolisme périphérique et sur la prise alimentaire. La souris NIRKO, emblème de l'insulino-résistance centrale, est hyperphagique et obèse (Brüning *et al.*, 2000), tout comme les souris IRS2 KO (Hashimoto *et al.*, 2007). Ces effets périphériques semblent provenir d'un mécanisme spécifiquement central mais déconnecté de l'hypothalamus (Koch *et al.*, 2010, Konner *et al.*, 2007). Ainsi, dans les modèles reproduisant la pathologie amyloïdes de la MA, on peut supposer que la présence d'une insulino-résistance périphérique, mais surtout centrale aura des répercussions potentiellement significatives sur la régulation du métabolisme périphérique. Bien qu'une étude dénote le caractère hyperphagique du modèle 3xTg, combinant les deux pathologies amyloïde et Tau (Adebakin *et al.*, 2012), le rôle spécifique de Tau dans ces mécanismes n'a pas été élucidé.

En conclusion, l'ensemble de ces études nous indique que la pathologie est capable de causer des modifications périphériques et centrales du métabolisme. En outre les modalités de cette interaction restent à élucider.

OBJECTIFS

L'objectif de ce travail de thèse est d'étudier les relations bidirectionnelles existant entre la protéine Tau et le métabolisme périphérique.

La MA sporadique est une maladie influencée par de nombreux facteurs environnementaux. Bien qu'une grande quantité de ces facteurs aient été mis en évidence par le biais d'études basées sur l'homme, les mécanismes physiopathologiques entourant cette susceptibilité sont assez peu connus. L'obésité, qui prédispose à bon nombre d'autres affections métaboliques, en est un facteur de risque important. Une affection métabolique, et donc périphérique peut donc avoir des conséquences neurologiques, et donc centrales.

L'étude des mécanismes fondamentaux formant la connexion entre la pathologie métabolique périphérique et la pathologie neurologique est facilitée par l'utilisation de modèles expérimentaux.

Les connaissances fournies par les modèles expérimentaux d'étude des relations entre affections métaboliques et MA au regard de la pathologie amyloïde sont nombreuses et fournies. En revanche, les conséquences d'une obésité sur Tau ont été bien moins étudiées. La majorité des études se focalisant sur Tau se sont intéressées à l'impact de phénomènes métaboliques non physiologiques et donc peu pertinents au regard de la pathologie humaine.

En conclusion, les conséquences physiopathologiques d'une obésité n'ont pas été investigués dans un modèle approprié de pathologie Tau de type Alzheimer. C'est l'objectif de la première partie de ce travail de thèse. Le modèle choisi pour cette étude est la souris THY-Tau22, un modèle transgénique mimant le versant Tau de la MA. Cette souris surexprime dans les neurones du cerveau la protéine Tau humaine mutée en 2 sites favorisant sa phosphorylation et son agrégation et présente une pathologie Tau hippocampique évolutive qui s'exprime en parallèle d'altérations mnésiques. Ainsi elle constitue un modèle particulièrement adapté à l'étude des conséquences

comportementales, anatomo-pathologiques, biochimiques et transcriptomiques de la tauopathie de la MA.

A l'inverse, quelques données semblent indiquer que la pathologie centrale puisse avoir des conséquences métaboliques périphériques.

Dans une seconde partie, je me suis donc intéressé à cette relation, c'est à dire au rôle joué par la protéine Tau neuronale dans la régulation du métabolisme périphérique. Afin de décrypter cette problématique, deux modèles de souris ont été choisis. La souris THY-Tau22 permet l'étude de l'impact d'une surexpression de protéine Tau dans le métabolisme périphérique. A l'inverse, la souris KO-Tau permet d'évaluer de façon convaincante les conséquences éventuelles d'une absence de Tau dans ces paradigmes.

Présentation des modèles

THY-Tau22

Afin de progresser dans la compréhension de la MA, plusieurs modèles murins de pathologie Tau ont été créés et reproduisent certaines caractéristiques neuropathologiques, biochimiques et cliniques de la pathologie humaine. Bon nombre d'entre eux sont basés sur la surexpression d'isoformes humaines de protéine Tau, mutées ou non en des sites retrouvés dans les formes héréditaires des tauopathies. Les modèles arborant l'une ou l'autre des mutations G272V, P301L/S, V337M, R406W sont les plus répandus, et tous montrent une hyperphosphorylation et la présence de DNF dans les structures du cerveau. Chez plusieurs de ces modèles la caractérisation du phénotype mémoire est rendue difficile par des problèmes moteurs liés à l'expression de Tau au niveau de la moëlle épinière. La souris THY-Tau22, développée au sein de notre équipe surexprime (10 copies) l'isoforme 1N/4R mutée sur les sites G272V et P301S, et possède l'avantage d'être exempte de déficits moteurs (Figure 20.), au contraire de la plupart des autres modèles (Denk et Wade-Martins 2010 ; Schindowski *et al.*, 2006).

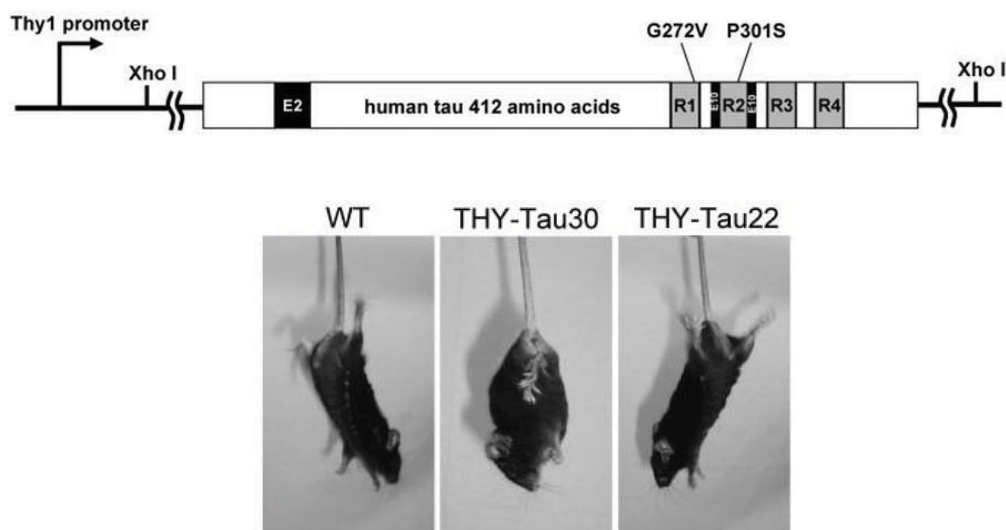


Figure 20 : Représentation du transgène Tau 1N4R surexprimé chez la souris THY-Tau22 sous contrôle du promoteur neuronal Thy1.2. Les deux mutations P301S et G272V se trouvent localisées au niveau de la région des domaines répétés, d'association aux microtubules (numérotation basée sur l'isoforme la plus longue). A

10 mois, l'absence d'expression au niveau spinal confère à la souris THY-Tau22 un phénotype moteur similaire à la souris WT, permettant d'évaluer pertinemment son phénotype mémoire. A l'inverse, la THY-Tau30, qui présente de la protéine Tau dans la moëlle épinière ne présente pas de phénotype moteur normal. Tiré de Schindowski et al., 2006.

La THY-Tau22 présente une accumulation progressive de protéines Tau hyper et anormalement phosphorylées, principalement au niveau de l'hippocampe, de l'amygdale et du cortex. Les premières lésions se manifestent vers 3 mois dans la région CA1 (Corne d'Ammon) de l'hippocampe puis s'étendent progressivement vers la CA3 (Figure 21). Les sites de phosphorylation physiologiques Ser202/Thr205 (AT8), Thr231/Ser235 (AT180), Ser396/Ser404 (PHF-1/AD2) et pathologiques Thr212/Ser214 (épitope conformationnel AT100), Ser422 sont notamment exprimés chez cette souris.

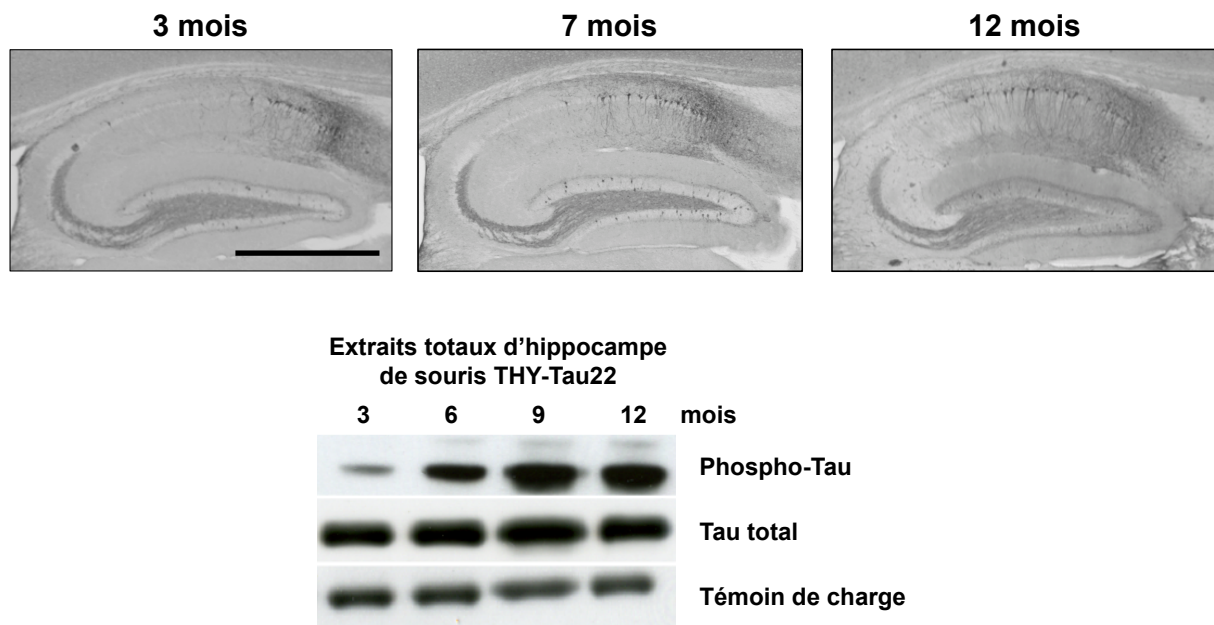


Figure 21. Progression de la pathologie Tau au cours de l'âge au sein de l'hippocampe de souris THY-Tau22. Haut : La phosphorylation pathologique de Tau, visualisée grâce au marquage pathologique pSer422 s'étend progressivement de la région CA1 à la région CA3 de l'hippocampe. Barre = 1mm. Bas : La pathologie Tau hippocampique, visualisée par Western blot grâce à l'anticorps AT100 ciblant les épitopes phosphorylés en pThr212/Ser214, est de plus en plus importante au cours de l'âge.

En parallèle de la pathologie Tau évolutive observée dans le modèle, ces souris

présentent des déficits cognitifs, eux aussi évolutifs. L'apprentissage et la mémoire spatiaux ont été étudiés grâce au test du labyrinthe de la piscine de Morris et montrent que les souris THY-Tau22 de 3 et 7 mois présentent un subtil retard d'apprentissage visible au cours du 2e jour. Les troubles de l'apprentissage s'intensifient à un âge avancé (Figure 22).

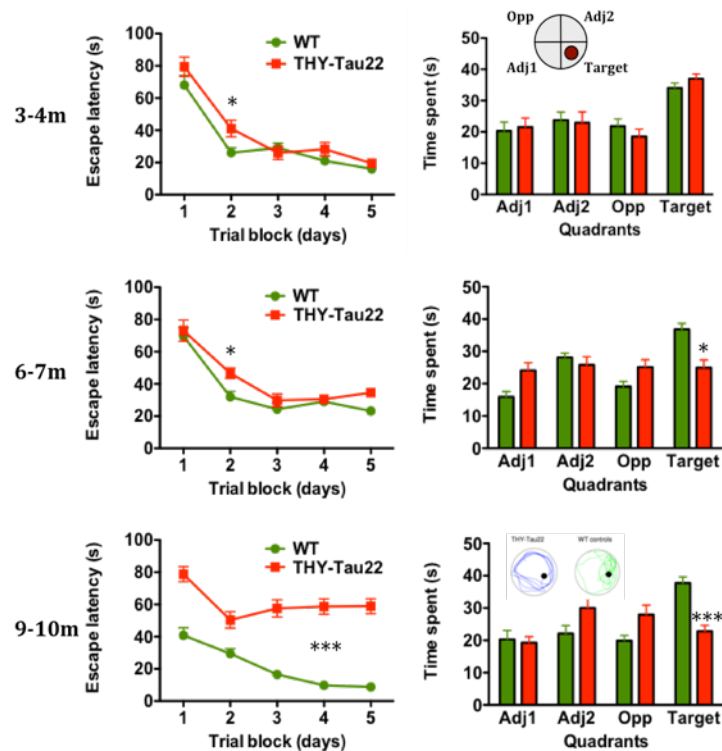


Figure 22. Apprentissage retardé et mémoire diminuée chez les souris THY-Tau22. Les altérations de l'apprentissage spatial sont subtils à 3 et 7 mois et s'accroissent à 9-10 mois (* : $p < 0,05$, *** : $p < 0,001$ en utilisant l'ANOVA two-way, $n=8$ /groupe). Dans l'encadré à 9-10 mois sont indiqués des trajets représentatifs de nage des souris dans la piscine au cours de la phase de mémorisation. Tiré de la thèse de Sylvie Burnouf, 2010.

En dépit de ces altérations de la mémoire et de l'apprentissage, aucune mort neuronale ni perte synaptique (VanDerJeugd *et al.*, 2011) ne vient expliquer ce phénotype jusqu'à l'âge de 12 mois. En revanche, le modèle présente de discrètes modifications de la réponse synaptique à 7 mois et notamment une modification de la neurotransmission dépendante des récepteurs NMDA (Figure 23, à droite. Burnouf *et al.*, 2012)

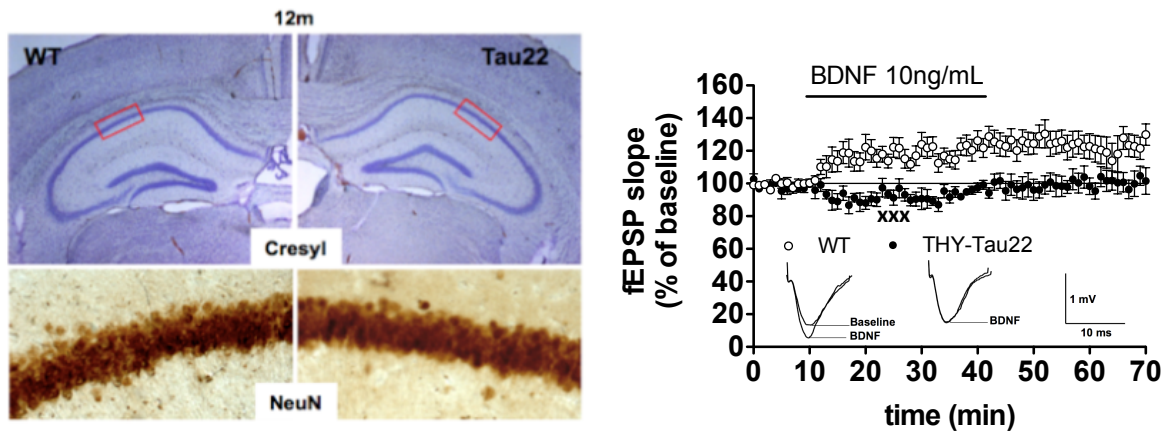


Figure 23. Absence de perte neuronale chez la souris THY-Tau22. A gauche : coloration au crésyl violet de l'hippocampe de souris âgées de 12 mois, montrant l'absence d'altération majeure de la morphologie hippocampique chez les THY-Tau22 (droite). Le marquage NeuN, représentant les noyaux des neurones de la couche CA1 de l'hippocampe, indique également l'absence de perte neuronale majeure dans cette région chez les souris THY-Tau22. A droite : profil électrophysiologique en potentiel de champ suite à une application exogène de BDNF sur des tranches de souris THY-Tau22 et WT âgées de 7 mois, montrant une différence de réponse. Adaptée de Van der Jeugd *et al.*, 2011, Burnouf *et al.*, 2012.

Enfin, il a été mis en évidence l'existence d'une inflammation dans l'hippocampe des souris THY-Tau22, et notamment une astroglie (Belarbi *et al.*, 2011 ; Schindowski *et al.*, 2006). Ces observations ont été le point de départ d'une caractérisation plus globale du phénotype inflammatoire hippocampique de ces souris (travail de thèse de Cyril Laurent, 2013). Pour cela une analyse transcriptomique globale (Figure 24.) a été réalisée dans l'hippocampe des souris THY-Tau22 âgées de 12 mois et a révélé une régulation positive de plusieurs marqueurs pro- inflammatoires (CD52, C3, Clec7a, CC14, CCL3, CCL5, H2Ab1, CD74...). Un certain nombre de ces marqueurs, et d'autres ont été validés par qPCR, et indiquent une inflammation de type astrocytaire, microgliale et faisant intervenir les lymphocytes T. L'ensemble de ces résultats révèle la présence de phénomènes inflammatoires dans le modèle THY-Tau22.

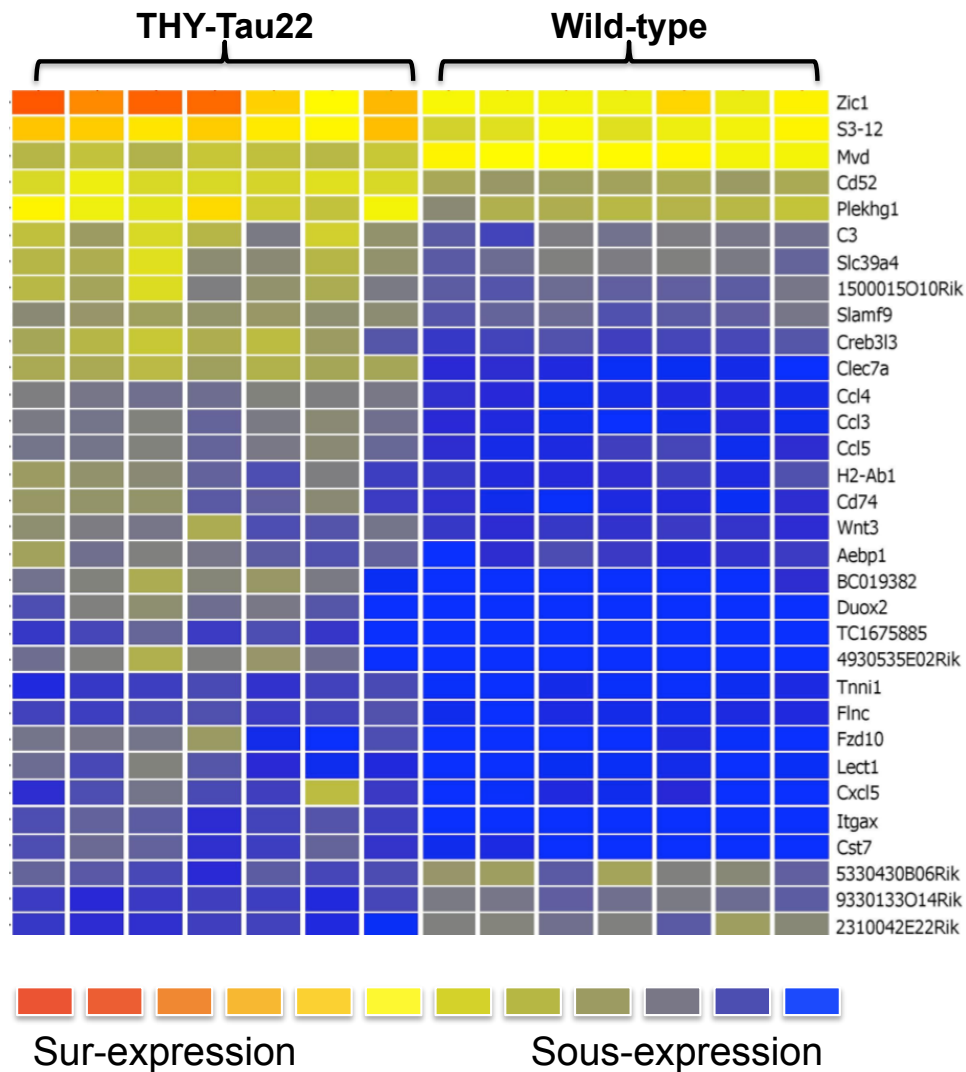


Figure 24. Analyse transcriptomique globale dans l'hippocampe de souris THY-Tau22 de 7 mois indiquant une surexpression importante de marqueurs inflammatoires de type chimiokines, lymphocytaire, du complément, etc.

Ainsi, le modèle THY-Tau22 présente une pathologie Tau bien caractérisée et séquentielle, avec une dérégulation de la phosphorylation de Tau et une agrégation de Tau sans perte neuronale massive. En outre, ces souris présentent des déficits cognitifs précoces en l'absence de déficits moteurs. Le modèle THY-Tau22 est donc un modèle pertinent pour l'étude des conséquences physiopathologiques d'une obésité induite par régime.

KO-Tau

Les modèles de souris KO-Tau généralement utilisés dans la littérature sont issus d'une recombinaison homologue d'un élément placé dans la région de l'exon 1 de Tau. Quatre modèles différents ont été décrits (Harada *et al.*, 1994 ; Dawson *et al.*, 2001 ; Tucker *et al.*, 2001 ; Fujio *et al.*, 2007). Tous ces modèles sont viables et ne présentent pas de phénotype particulier apparent à un âge jeune (Tableau 2). Ceci peut s'expliquer par le fait que d'autres protéines d'association aux microtubules puissent remplacer la protéine Tau. Il a de fait été montré une augmentation de l'expression d'autres protéines d'association aux microtubules dans ces modèles (Dawson *et al.*, 2001 ; Harada *et al.*, 1994). Quelques altérations comportementales subtiles ont cependant été décrites (Ikegami *et al.*, 2000) mais arrivent tardivement.

Auteurs	Viabilité	Aspect macroscopique/ comportement	Aspect microscopique	Autres
Harada <i>et al.</i> , 1994 Ikegami <i>et al.</i> , 2000	oui	Jeunes : normal Âgées : faiblesse musculaire et conditionnement de peur contextuel altéré. Hétérozygotes présentent phénotype similaire. Mémoire spatiale normale.	Densité MT – Pontages entre MT-MT et MT-membrane : –	Jeunes : MAP1A +++ Âgées : MAP1A + MAP1B normal Background 93% C57BL/6
Tucker <i>et al.</i> , 2001 ; Andorfer <i>et al.</i> , 2003	oui	normal	Non étudié	Background 50/50%: C57BL/6 et 129/SvJae.
Dawson <i>et al.</i> , 2001 Dawson <i>et al.</i> , 2010 Cantero <i>et al.</i> , 2010	oui	Mémoire spatiale normale. Perturbations cycle veille/sommeil	En culture primaire : développement axonal perturbé.	Jeunes : MAP1A +++ Âgées : MAP1A = Backcross répétés sur C57BL/6 depuis un fond mixte BL6/SvJ
Fujio <i>et al.</i> , 2007	oui	Non rapporté	Non étudié	MAP1A +++ Background 93% C57BL/6

Tableau 2. Phénotypes rencontrés chez les différents modèles de souris Tau knock-out. On peut noter que lorsque le fond génétique s'approche d'un C57BL/6 pur le phénotype mémoire et moteur est affecté.

La souris Knock-out de Tau que nous avons utilisé a été initialement développée par Tucker et collaborateurs en 2001 (Mapttm1(EGFP)Klt, hétérozygote ou homozygote, description disponible à l'adresse <http://jaxmice.jax.org/strain/004779.html>). Ces auteurs ont inséré une séquence codant pour l'eGFP dans l'exon 1 du gène de Tau, produisant ainsi une protéine fusion contenant les 31 premiers acides aminés de Tau

suivis de l'eGFP (Tucker *et al.*, 2001). La majeure partie des modèles de souris KO-Tau utilisés l'est dans le but de définir les effets de la perte de la fonction stabilisatrice des MT sur les conséquences comportementales, ainsi le phénotype plus global de ce type de modèle n'a été que peu ou pas investigué, même si aucune différence macroscopique ne semble avoir été observée dans ces modèles.

MATERIELS ET METHODES

Protocoles animaux - généralités. Toutes les souris utilisées sont des males. Les souris ont été hébergées à 3 individus par cage dans des cages standard et ont disposé d'eau et de nourriture *ad libitum*. Au fond de cage ont été ajoutées des boules de coton servant à la confection d'un nid. Les locaux de l'animalerie sont soumis à un cycle d'éclairage jour/nuit de 14h/10h. L'animalerie et les projets expérimentaux sur animaux ont été approuvés par un comité d'éthique (AF 06/2010, CEEA). Tous les protocoles de nutrition ont été réalisés comme suit. Les groupes expérimentaux ont été conçus de sorte à ce que, au début du régime, les groupes, en respect à leurs génotypes respectifs, soient homogènes au niveau du poids, de l'insulinémie et de la glycémie. De cette façon les différences métaboliques observées après le début du régime sont le reflet de la nutrition plutôt que de l'évolution des différences individuelles. Les souris ont été nourries soit avec une alimentation classique dite CHOW (RM1A, Special Diets Services, Essex, Great Britain) soit avec une alimentation riche en graisse dite HFD (H; 59% de calories issues du gras; Ssniff, D12331, Figure 25). Le poids des souris ainsi que la prise alimentaire ont été mesurés chaque semaine, le même jour. Les unités de poids sont exprimées en grammes.

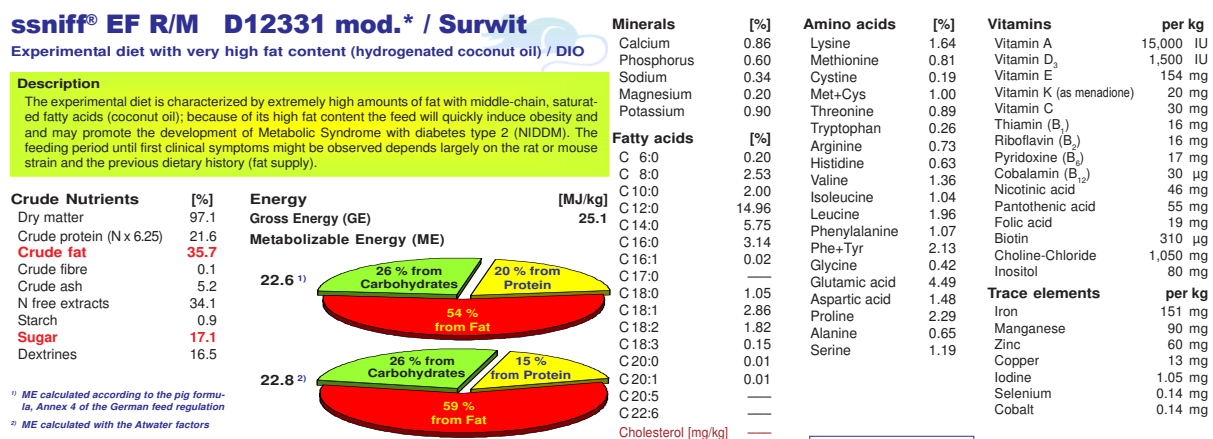


Figure 25. Composition du régime riche en graisse D12331 donné aux souris des groupes HFD. Le contenu élevé en graisses (35,7 g / 100 g) et la valeur énergétique importante (544 Kcal / 100g) favorisent l'apparition d'une obésité. Tiré du catalogue ssniff®.

Paradigmes expérimentaux (Figure 26.)

Paradigme nutrition THY-Tau22 de 2 – 7 mois. L'objectif de ce paradigme est l'étude de l'influence d'un régime hyper gras conduisant à une obésité sur la pathologie Tau de la maladie d'Alzheimer. 42 souris hétérozygotes THY-Tau22 (Tau22) et 42 souris sauvages (WT) âgées de 2 mois ont suivi un régime soit standard (CHOW) soit hyper gras (HFD) pendant 5 mois jusqu'à l'âge de 7 mois. A l'âge de 2 mois, la pathologie Tau dans le modèle de souris THY-Tau22 n'a pas encore débuté. Démarrer le protocole à ce stade permet d'étudier les éventuels effets d'une obésité précoce dans la vie sur l'évolution de la pathologie dans le modèle. A l'âge de 7 mois, la pathologie dans le modèle de souris THY-Tau22 n'a pas atteint son maximum, nous permettant ainsi d'observer une éventuelle aggravation de ses caractéristiques physiopathologiques.

Paradigme portées normalisées en régime standard THY-Tau22 0-9 mois. L'objectif de ce paradigme est d'étudier les caractéristiques métaboliques basales du modèle. Pour cela, l'environnement postnatal des nouveau-nés de 11 souris WT et 12 souris THY-Tau22 a été normalisé au sein de leurs portées, avec 6 petits par mère, et le poids des souris ainsi que leur prise alimentaire ont été mesurés chaque semaine pendant 9 mois.

Paradigme nutrition KO-Tau 2-7 mois. L'utilisation de modèles de souris invalidées pour un gène est une démarche couramment utilisée afin d'investiguer le rôle joué par ce gène. Dans le domaine de la recherche fondamentale, les souris KO-Tau ont été notamment utilisées afin d'évaluer le rôle de Tau dans la protection de l'ADN nucléaire (Sultan *et al.*, 2011), dans la synaptotoxicité du peptide Beta-amyloïde (Roberson *et al.*, 2007, Ittner *et al.*, 2010), mais en règle générale, le phénotype de la souris KO-Tau a été peu étudié. L'objectif de ce paradigme est d'étudier le rôle de la protéine Tau dans le métabolisme périphérique en utilisant un modèle de souris invalidées pour la protéine Tau, et ce, en soumettant ces souris à un régime standard Chow et en réalisant une caractérisation métabolique.

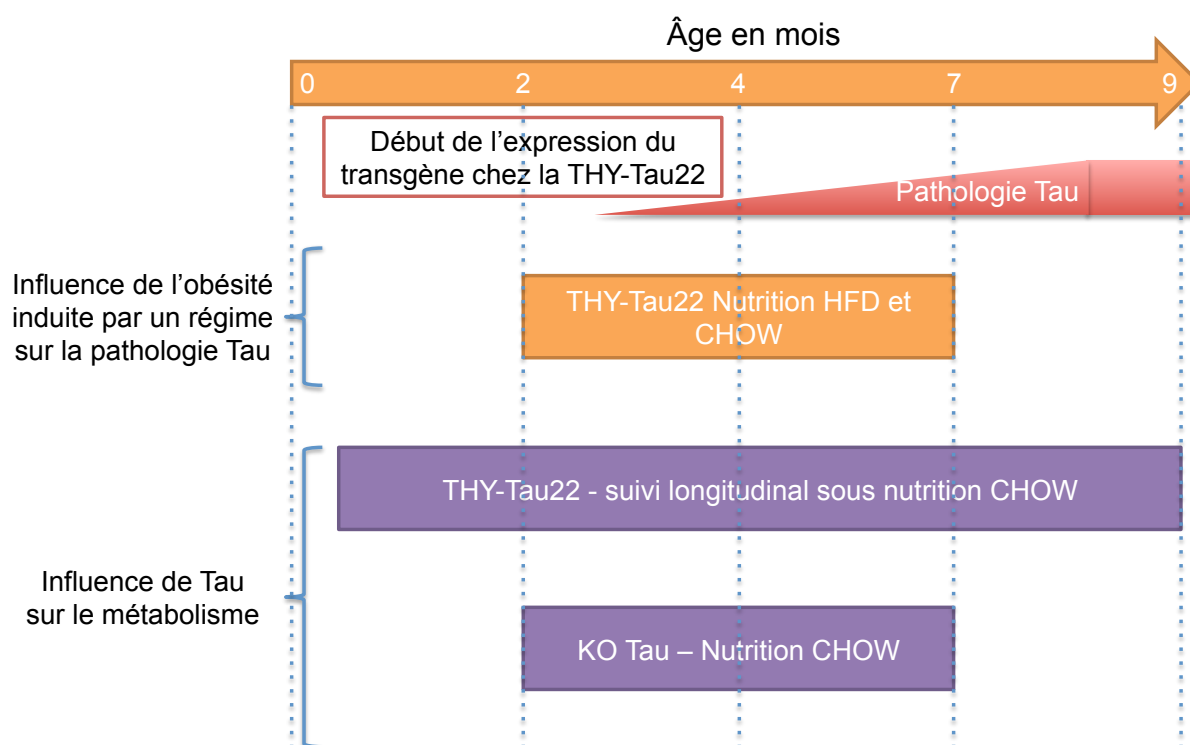


Figure 26. Paradigmes expérimentaux de nutrition réalisés pendant ce travail de thèse. La frise chronologique démarre à la naissance des animaux (0). A l'issue de chacun des protocoles, une caractérisation métabolique a été effectuée, incluant notamment un suivi longitudinal du poids corporel et de la consommation calorique, des mesures de glycémies, des dosages hormonaux, des évaluations de l'index d'insulino-résistance. Dans le cas de la souris THY-Tau22, une évaluation complète de la pathologie Tau a été effectuée.

Mesures de la glycémie. Les mesures de la glycémie chez les souris ont été réalisées après 6 heures de jeune. Une goutte de sang, obtenue après incision de la veine caudale est appliquée sur une bandelette OneTouch (Lifescan, Issy les Moulineaux, France) reliée à un glucomètre Accu-Chek Performa (Roche Diagnostics, GMBH, Allemagne). Le résultat s'affiche en milligramme de glucose par décilitre de sang.

Test de tolérance au glucose et à l'insuline. L'IPGTT permet de mesurer la capacité du système de l'homéostasie glucidique à, d'une part détecter la hausse massive de glycémie et de faire revenir la glycémie à son état de base via d'une part la sécrétion d'insuline, son action et la capture du glucose par les tissus périphériques (foie, muscles, tissus adipeux). Pendant l'ITT, l'insuline administrée artificiellement va agir au niveau des tissus cibles et provoquer une recapture de glucose. De ce fait elle

permet d'évaluer la sensibilité à l'insuline, l'inverse de l'insulinorésistance. Les tests de tolérance sont couramment utilisés pour établir l'état insulinorésistant chez les rongeurs et les humains (Muniyappa *et al.*, 2007). Après 6 heures de jeune, du D-+-glucose (1g/kg; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) ou 0,75 U/kg d'insuline rapide (Actrapid Penfill, Novo Nordisk) a été injecté(e) en intra péritonéal (IP), et des échantillons de sang ont été prélevés à la queue avant et 15, 30, 60, 90, et 120 min après l'injection de glucose ou d'insuline. La glycémie a été mesurée en utilisant un glucomètre à bandelettes Accu-Chek Performa.

Prélèvements de plasma. Pour les dosages de l'insuline, leptine, ghréline, lipides et tau plasmatique, le plasma a été récolté à jeun de 6 heures avant et pendant les différents protocoles depuis une coupure dans la veine caudale en utilisant les tubes Microvette (Sarstedt, Nümbrecht, Germany) recouverts d'EDTA. En vue des dosages de lipides, la quantité de plasma nécessaire étant plus importante, la queue des souris a été exposée au rayonnement d'une lampe rouge afin de provoquer une vasodilatation de la veine caudale. En vue du dosage de ghréline, les échantillons, aussitôt prélevés, ont été supplémentés en inhibiteurs de protéases Pefabloc SC (Sigma). Les échantillons ont ensuite été placés sur glace et centrifugé à 4000 g pendant 10 min à 4°C. Le plasma a été récupéré et aliquoté puis congelé à -20°C (excepté dosage de ghréline, -80°C).

Dosages d'hormones périphériques et lipides. L'insuline et la leptine ont été mesurées en utilisant, respectivement, le kit ELISA Rat insulin (Mercodia AB, Uppsala, Suède) et le kit enzymatique mouse/rat Leptine immunoassay kit (SPIBIO, Montigny le Bretonneux, France) d'après les instructions des fabricants. Les cholestérol HDL et total, ainsi que les triglycérides ont été mesurés par l'utilisation de kits enzymatiques prêts à l'emploi (Biomérieux, Craponne, France). Les taux de cholestérol non-HDL ont été calculés par soustraction des taux de cholestérol HDL aux taux de cholestérol total.

Calcul de l'index HOMA-IR. Le calcul de l'index HOMA-IR (homeostatic model assessment of insulin resistance) permet l'évaluation du caractère insulinorésistant d'un

organisme. Chez les rongeurs, une bonne corrélation de ce marqueur avec les tests plus universels de mesures du taux d'infusion de glucose a été mise en évidence (Muniyappa *et al.*, 2009). Le calcul de l'HOMA-IR est le suivant :

$$\frac{\text{Glycémie (mg/dL)} \times \text{Insulinémie (mU/L)}}{405}$$

Dosage de protéine Tau plasmatique. La protéine Tau humaine a été détectée dans le plasma de souris THY-Tau22 comme montré précédemment (Troquier *et al.*, 2012) en utilisant le kit ELISA Innostest hTau Ag (Innogenetics, Les Ulis, France) en suivant les recommandations du fabricant. L'anticorps de capture est l'AT120 et les anticorps de détection sont HT7 et BT2 (Schraen-Maschke & al., 2008).

Etude de l'apprentissage spatial – Le Labyrinthe de la piscine de Morris. Le labyrinthe de la piscine de Morris (Morris, 1984) permet l'évaluation de l'apprentissage et de la mémoire spatiaux des rongeurs (D'Hooge and De Deyn 2001) (Figure 27). Ce test, particulièrement sensible aux atteintes hippocampiques (Goddyn *et al.*, 2006), a été utilisé dans la caractérisation initiale du modèle (Schindowski *et al.*, 2006), montrant des altérations d'apprentissage et de mémorisation à l'âge de 3 mois, et progressivement jusqu'à 12 mois. A 7 mois, le phénotype mnésique de la THY-Tau22 n'étant pas encore à son maximum, nous permettant de pouvoir constater une éventuelle accélération du phénotype. Nous avons donc réalisé ce test dans ce paradigme THY-Tau22 2-7 mois afin d'évaluer si le régime HFD altère le phénotype mnésique déjà présent dans le modèle. Dans ce test, les animaux sont placés dans une piscine circulaire d'un mètre de diamètre remplie d'eau opaque à 21°C et doivent localiser une plate-forme cachée à 1 cm sous la surface pendant 4 jours, à raison de 4 essais par jour. Le côté aversif de la situation motive les rongeurs à trouver une issue ou un refuge. Des indices visuels sont présents autour de la piscine et permettent à la souris de s'orienter. Au fur et à mesure des 4 jours d'apprentissage, les souris apprennent à localiser la plateforme et à s'y réfugier de plus en plus rapidement. La mesure du temps ("escape latency") et de la distance parcourue ("path length") pour atteindre la plateforme à chaque essai ont été enregistrés grâce au système Ethovision

XT (Noldus). Ces mesures reflètent la capacité d'apprentissage de l'animal. Vingt quatre heures après cette phase d'apprentissage, lors d'un nouvel essai ("probe test") la plate-forme est retirée et une préférence pour l'endroit où se trouvait la plate-forme reflète la mémoire spatiale de la souris. Les souris qui présentent un thigmotactisme ou tentent d'atteindre la plate-forme par le biais de stratégies indépendantes de la mémoire sont exclues de l'analyse.

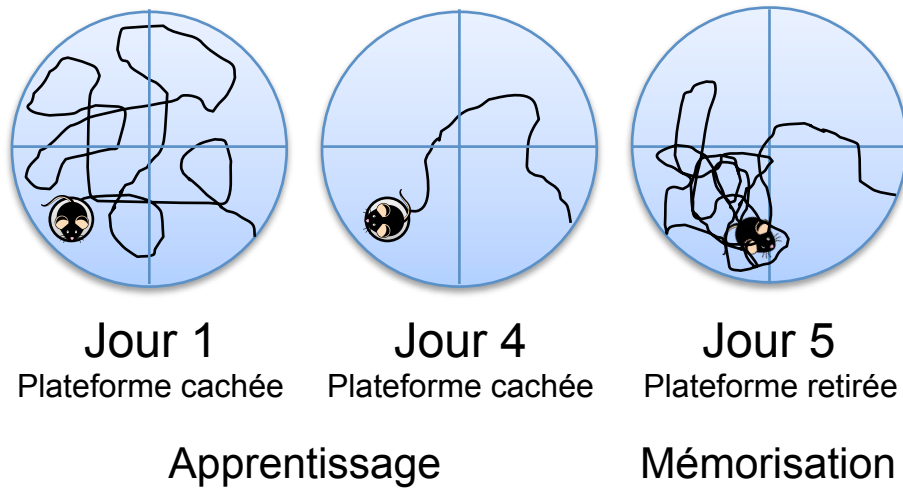


Figure 27. Schématisation de la procédure du Morris Water Maze. Le premier essai du premier jour, la souris tombe par hasard sur la plateforme. A raison de 4 essais par jour et après 4 jours d'apprentissage, la distance et le temps avant d'atteindre la plateforme diminuent, synonyme d'un apprentissage efficace. Le cinquième jour, la plateforme est retirée, et l'on mesure le temps passé dans le cadran dans lequel se trouvait la plateforme, reflet de la mémoire spatiale.

Sacrifice

Préparation des échantillons de tissus périphériques. A l'issue du protocole de nutrition les souris ont été sacrifiées par décapitation et le sang du tronc a été récupéré dans des tubes contenant de l'EDTA (Terumo EDTA-K3, Terumo), puis centrifugés à 4000 g, 10 min, 4°C. La phase supérieure contenant le plasma a été récupérée et congelée à -20°C jusqu'à utilisation. Le corps de la souris a été disséqué et le foie, les tissus adipeux épидидymal, sous cutané et brun ont été pesés et récupérés.

Préparation des échantillons de cerveau. Le cerveau a été retiré de la boîte crânienne. Une randomisation a été effectuée de façon à répartir les hémisphères cérébraux, de sorte à obtenir des paramètres métaboliques homogènes dans chaque

groupe d'analyse (immunohistochimie, transcriptomique et biochimie). Pour l'immunohistochimie, les hémisphères ont été post-fixés dans 4% de paraformaldéhyde pendant 7 jours. Les hémisphères sont ensuite incubés dans une solution de cryoconservation contenant 20% de saccharose pendant 24 heures puis finalement congelés dans l'isopentane refroidi à -30°C et conservés ensuite à -80°C jusqu'à leur utilisation. Les hémisphères restant ont été disséqués à 4°C en utilisant une matrice coronale en acrylique (Delta Microscopies, France) et les hippocampes ainsi récupérés ont été stockés à -80°C jusqu'à utilisation, soit en analyse biochimique, soit transcriptomique.

Immunohistochimie. Les coupes sagittales sériées flottantes (40µm) ont été obtenues en utilisant un cryostat (Leica Microsystems GmbH). L'immunohistochimie a été réalisée sur des séries de coupes en utilisant les anticorps primaires anti Tau phosphorylé (AT8; pSer202/205; Pierce) et anormalement phosphorylé (AP422; pSer422; Biosource). Un anticorps secondaire couplé à une peroxydase est utilisé et permet la révélation via une réaction utilisant le composé chromogène DAB. Les coupes ont ensuite été montées sur des lames puis vernies (Schindowski *et al.*, 2006). Des microphotographies ont été prises en utilisant un microscope photonique Leica. Le comptage de pixels bruns représentatif de la fixation des anticorps a été réalisé à l'aveugle sur 6 coupes d'hippocampe par souris séparées par 280 mm en ajustant le seuil, d'après la méthode de Belarbi *et al.*, 2011, en utilisant le logiciel ImageJ (Scion). Les quantifications représentent les moyennes de 4 à 5 animaux par groupe.

Analyses biochimiques.

Préparation des tissus. Les tissus ont été homogénéisés dans 200 mL de tampon contenant 10% de saccharose pour la cryopréservation, 10 mM Tris HCl pH 7,4, 800mM NaCl, 1mM EGTA et des inhibiteurs de protéase (Complete EDTA-free, Roche, France) et soniqués. Les concentrations en protéines totales des homogénats ont été déterminées par le kit BCA (Pierce, Perbio Sciences, Brebières, France).

Electrophorèse monodimensionnelle. Les extraits totaux de protéines ont ensuite été

dénaturés à 95°C dans un tampon contenant 1% lithium dodécyl sulfate comme détergent et 50mM dithiothreitol (en concentrations finales) comme réducteur (Life Technologies, Grand Island, NY) pendant 10 minutes. Ces conditions entraînent une solubilisation et une linéarisation des protéines évitant la formation de ponts disulfure, notamment, et rendant un maximum d'épitopes accessible aux anticorps. Ensuite, de 10 à 15 mg de protéines ont été chargées sur des gels de 4-12% d'acrylamide (NuPage Novex gels, Life Technologies) puis un courant électrophorétique de 200 Volts a été appliqué permettant la séparation des protéines dans le gel. Les gels contenant les protéines ont ensuite subi un transfert à 30 Volts sur membrane de nitrocellulose. Les membranes ont ensuite été incubées avec les anticorps primaires correspondants (cf. Tableau 3). Les anticorps secondaires adaptés, couplés à la peroxidase du raifort (HRP antibodies), ont ensuite été incubés sur les membranes. Le signal chimio-luminescent provenant de la réaction entre l'ECL (Amersham GE Healthcare, Buckinghamshire, United Kindom) et la peroxidase a été obtenu en utilisant le système d'aquisition LAS3000 et son logiciel (Fujifilm, Saint Quentin en Yvelines, France). ImageJ Software a servi à la quantification densitométrique des images ainsi obtenues. Les valeurs de densitométrie pour chaque protéine étudiée ont été rapportées à celles de l'actine ou de la GAPDH des mêmes membranes. Lorsqu'un anticorps ciblant une forme phosphorylée d'une protéine a été utilisé, la valeur quantifiée de densitométrie a été rapportée à celle de la protéine totale. Les rapports ainsi obtenus ont ensuite été comparés à la moyenne du groupe contrôle.

Classes	Epitope (nom commercial)	Intérêt biologique	Source
Ciblant Tau	pThr181 (AT270)	P° physiologique	Pierce
	pThr212/pSer214 (AT100)	P° pathologique, épitope conformationnel	Pierce
	pThr231 (AT180)	P° physiologique	Pierce
	pThr202/pSer205 (AT8)	P° physiologique	Pierce
	pS262	P° physiologique	Invitrogen (Life Technologies)
	pSer396	P° physiologique	Invitrogen (Life Technologies)
	pSer404	P° physiologique	Invitrogen (Life Technologies)
	pSer422	P° pathologique épitope non-conformationnel	Invitrogen (Life Technologies)
Ciblant des marqueurs cellulaires	total Tau Cter	cible Tau murin et tau humain	U837 N. L. Buée et N. Sergeant
	NeuN	marqueur nucléaire neuronal	Millipore
	synaptophysin	marqueur pré-synaptique	Millipore
	spinophilin	marqueur post-synaptique	Millipore
Ciblant des Kinases ou phosphatases de Tau	NSE	marqueur nucléaire	Enzo LifeScience
	Akt / PKB	Akt est activée en aval du récepteur à l'insuline via IRS et PI3K	Cell Signaling Technologies
	pSer473 Akt / PKB		Cell Signaling Technologies
	CaMKII	CaMKII possède un rôle important dans les mécanismes moléculaires à la base de la mémoire	Cell Signaling Technologies
	pThr286 CaMKII		Cell Signaling Technologies
	p42/44 ERK-MAPK	ERK MAPK est activée en aval du récepteur à l'insuline via la voie Grb2-Sos	Cell Signaling Technologies
	pThr286 ERK-MAPK		Cell Signaling Technologies
	GSK3 α/β	GSK3 β est inhibée en aval du récepteur à l'insuline via la voie IRS/PI3K/Akt, et est la kinase majeure de Tau	SantaCruz BioTechnologies
	pSer9 GSK3 β		Cell Signaling Technologies
	pTyr216 GSK3 β		Cell Signaling Technologies
	P38 MAPK	P38 MAPK est activée en réponse à des stress, cytokines	Cell Signaling Technologies
	pThr180/pTyr182 P38 MAPK		Cell Signaling Technologies
	PKA	PKA est activée par l'AMPc en réponse à pléthore de signaux.	Cell Signaling Technologies
	pThr197 PKA		Cell Signaling Technologies
	SAPK/JNK		Cell Signaling Technologies
	pThr183/pTyr185 SAPK/JNK	JNK et SAPK sont des MAPK activées par des stressseurs et notamment des voies de signalisation dépendantes des cytokines	Cell Signaling Technologies
	SAPK4		Cell Signaling Technologies
	SAPK3		SantaCruz BioTechnologies
Ciblant la voie de signalisation de l'insuline	CDK5	Le clivage de P35 en P25 permet l'approche de CDK5 vers ses cibles, dont fait partie Tau.	SantaCruz BioTechnologies
	p25-p35		SantaCruz BioTechnologies
	AMPK	AMPK est une kinase activée en aval du récepteur à la leptine	Cell Signaling Technologies
	pThr172 AMPK		Cell Signaling Technologies
	PP2A-C	La PP2A est la phosphatase majeure de Tau, et son activité est réduite dans les cerveaux MA.	Millipore
	pTyr307 PP2A-C		Abcam
marqueur de charge	Insulin Receptor β	Domaine transmembranaire du récepteur	Cell Signaling Technologies
	IRS-1	IRS-1 et 2 sont les protéines adaptatrices du RI et transmettent le signal insuline aux effecteurs situés en aval, et notamment à PI3K, Akt et GSK3 β . La phosphorylation en Ser612 d'IRS-1 bloque la signalisation	Cell Signaling Technologies
	pSer612 IRS-1		Cell Signaling Technologies
	IRS-2		Cell Signaling Technologies
	PI3K/P85	PI3K est une kinase située en amont de Akt et GSK3 β	Cell Signaling Technologies
	pThr458 PI3K/P85		Cell Signaling Technologies
PTP1B	PTP1B déphosphosporyle et inhibe les IRS-1 et 2	Abcam	
β -Actin	permet le contrôle de charge protéique	Sigma-Aldrich	

Tableau 3. Liste des anticorps primaires utilisés dans les analyses biochimiques et bref descriptif de leur intérêt biologique dans le cadre de cette étude.

Electrophorèse bi-dimensionnelle. Cette technique combine deux approches de séparation des protéines. La première dimension exploite les différences de point isoélectrique des protéines. En effet, la séquence primaire et les modifications post-traductionnelles déterminent leur point isoélectrique, raison pour laquelle ce pI peut différer entre 2 protéines issues d'un même gène. La première dimension s'effectue sur une bandelette constituée d'un gradient de pH. Ainsi, pendant la première dimension, les protéines vont aller s'immobiliser à l'endroit de la bandelette correspondant au pH où leur charge est neutre. La seconde dimension correspond à une électrophorèse en SDS-PAGE classique, où les protéines sont séparées en fonction de leur poids

moléculaire. (Fernandez-Gomez *et al.*, 2012). Cette technique permet l'étude de l'état d'acidité de la protéine Tau, qui résulte quasi exclusivement de son état de phosphorylation, comme l'atteste un prétraitement d'échantillons à l'aide d'une phosphatase (Figure 28.) (Bretteville *et al.*, 2009).

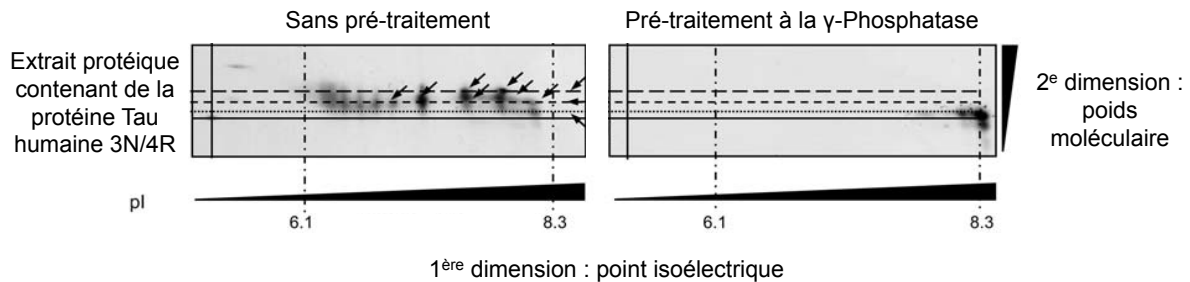


Figure 28. Electrophorèse bi-dimensionnelle contrôlée (immunoempreinte de gauche) ou pré-traitée à gamma-phosphatase (à droite), montrant l'impact de la phosphorylation sur le profil obtenu. Adapté de Bretteville *et al.*, 2009.

Pour cette technique, les homogénats de protéines ont été précipités au méthanol/chloroforme. 15 mg de protéines ont été dissoutes dans un tampon contenant 7M urée, 2M thiourée, 4% CHAPS et 0,6% pharmalytes. Les lysats ont été chargés sur des bandes de gel présentant un gradient de pH de 3 à 11 (ReadyStrip, Amersham GE) et ont subi l'électroisofocalisation dans une cuve Protean IEF (Amersham GE), conformément aux données du fabricant. Les bandelettes ont ensuite été appliquées sur un gel de polyacrylamide à 4-12% puis un courant électrophorétique a été appliqué. Le gel a ensuite été transféré sur membrane de nitrocellulose. Les membranes ainsi obtenues ont été incubées en présence d'anticorps ciblant une forme totale de la protéine Tau (anticorps TauCter) (Figure 28.).

Préparations fractions sarkosyl-solubles/insolubles. Les homogénats de protéine dans le tampon contenant 10% de saccharose, 10 mM Tris HCl pH 7,4, 800mM NaCl, 1mM EGTA et des inhibiteurs de protéase (Complete EDTA-free, Roche, France) ont été centrifugés à 12000 g pendant 10 minutes à 4°C. Les surnageants, repris et incubés 1 heure dans une solution contenant 1% de sel de N-Laurylsarkosine de sodium (Sigma) à température ambiante et sous agitation ont été centrifugés à 100 000 g pendant 1 heure à 4°C, donnant ainsi le surnageant et le culot contenant les espèces de

Tau solubles ou insolubles dans le sarkosyl, respectivement. Du LDS 2X a été ajouté au culot sec et au surnageant. Les 2 fractions ont également reçu du tampon réducteur SRA. Les échantillons ainsi préparés ont été mis à migrer en gels Novex avec un ratio insoluble:soluble de 1:12.

Dosage de l'activité des phosphatases PP2A. Les phosphatases sont impliquées dans le contrôle de la balance de phosphorylation et déphosphorylation de Tau (Buée *et al.*, 2000, Sergeant *et al.*, 2008). La PP2A est spécifiquement la phosphatase majeure de Tau et est retrouvée dérégulée dans le cerveau des patients atteints de MA (Torrent et Ferrer, 2012). Des travaux récents suggèrent l'implication des phosphatases, et plus spécifiquement de PP2A dans la phosphorylation de Tau dans un modèle de souris diabétiques (Papon *et al.*, 2012). Dans ce contexte nous avons voulu contrôler l'activité de la PP2A dans notre modèle. Les mesures d'activités de phosphatases ont été réalisées en utilisant le kit Serine/Threonine phosphatase, adapté d'après les instructions du fabricant. Brièvement, 50 mg de protéines issues des homogénats totaux d'hippocampes ont été centrifugés à 16000 g puis les surnageants ont été filtrés dans des colonnes qui retiennent 90 à 95% des phosphates endogènes. Une partie du filtrat a ensuite été incubée pendant 30 minutes en présence d'un tampon spécifique aux phosphatases PP2A (contenant 250 mM Imidazole pH 7,2, 1 mM EGTA, 0,1 % B-Mercaptoethanol, 0,5 mg/mL BSA) et d'un phosphopeptide spécifique des Serine/Threonine phosphatases 2A, 2B et 2C. Les phosphates libérés après l'action des phosphatases de l'échantillon sur les phosphopeptides réagissent avec un composé chromogénique contenant du molybdate. Des expériences contrôles dans lesquelles on omet les échantillons de protéine ou le phosphopeptide ont été réalisées. La concentration en protéines du filtrat est déterminée en utilisant un kit BCA. L'activité s'exprime alors en picogrammes de phosphates libérés par microgramme de protéines et par heure.

Analyses transcriptomiques. L'extraction des ARNs totaux d'hippocampe a été réalisée avec le kit RNeasy Lipid Tissue (Qiagen, Courtaboeuf, France) suivant les instructions du fabricant. Les ARNs ont été dosés par mesure de l'absorbance à 260 nm à l'aide du Nanodrop N-1000 Spectrophotometer (LabTech). La rétrotranscription a été effectuée à partir de 1 μ g d'ARN pour chaque échantillon avec le kit High Capacity cDNA Reverse Transcription (Applied Biosystems). Pour l'étude de l'expression des gènes par analyse de réaction de polymérisation en chaîne (RPC) en temps réel, la technologie SYBR Green (Applied Biosystems) couplée à l'utilisation de l'appareil ABI Prism 7900HT (Applied Biosystems) a été choisie. Les conditions du thermo-cycleur ont été les suivantes : 10 min à 95°C, suivi de 45 cycles de RPC à 2 étapes consistant en une étape à 95°C pendant 15 s suivie d'une étape à 60°C pendant 25 s. Les amplifications ont été faites en triplicats (n = 12-13 par groupe) et l'expression en ARNm des différents gènes a été réalisée en utilisant la méthode du $\Delta\Delta$ CT, et est rapportée au gène de référence, la cyclophiline (Liste des amorces : Tableau 4.).

Classes	Gène ciblé	amorce	séquence	indicatif ncbi
Inflammation	CCL3	sens	5' GTG GAA TCT TCC GGC TGT AG 3'	NM_011337.2
		antisens	5' TGC CCT TGC TGT TCT TCT CT 3'	
	CCL4	sens	5' GAG GGT CAG AGC CCA TTG 3'	NM_013652.2
		antisens	5' GCC CTC TCT CTC CTC TTG CT 3'	
	CCL5	sens	5' CCG AGC CAT ATG GTG AGG CAG G 3'	NM_013653.3
		antisens	5' CTC ACT GCA GCC GCC CTC TG 3'	
TNFa	sens	5' GAG GCC ATT TGG GAA CTT CT 3'	NM_013693.2	
	antisens	5' TGC CTA TGT CTC AGC CTC TTC 3'		
CD68	sens	5' CGC CAT GAA TGT CCA CTG 3'	NM_009853.1	
	antisens	5' GAC CTA CAT CAG AGC CCG AGT 3'		
TNFa	sens	5' GAG GCC ATT TGG GAA CTT CT 3'	NM_013693.2	
	antisens	5' TGC CTA TGT CTC AGC CTC TTC 3'		
TAU	Tau humaine	sens	5' CCC GGT TCC TCA GAT CGC TC 3'	NM_005910.4
		antisens	5' GTA CGG GTT GGG GGA CAG GA 3'	
Tau murine	sens	5' AGC AGG CAT CGG AGA CAC 3'	NM_001038609.1	
	antisens	5' CAT TTC CTG TCC TGT CTT TGC 3'		
Gènes de l'homéostasie lipidique	ABCA1	sens	5' ACA CCT GAC ACA CCA GCT ACA AGG C 3'	NM_013454.3
		antisens	5' TGA GTT CTT CCC ACA TGC CCT CC 3'	
	CD68	sens	5' CGC CAT GAA TGT CCA CTG 3'	NM_009696.2
		antisens	5' GAC CTA CAT CAG AGC CCG 3'	
	HMGCοAR	sens	5' GCT GAG CAG CGA CAT CAT CA 3'	NM_008255.1
		antisens	5' AGG CCA GCA ATA CCC AGA ATG 3'	
	CYP4aA1	sens	5' GCG CGC TTC AGA CTG TGT T 3'	NM_010010.1
		antisens	5' GCG CCC ATA GTC ACA TTC AG 3'	
	ApoE	sens	5' CCG ACA TGG AGG ATC TAC G 3'	NM_009696.2
		antisens	5' ACA GCT AGG CGC TTC TGC AG 3'	
	LDLR	sens	5' GGA GTC AGG AAT GCA TCG GC 3'	NM_010700.2
		antisens	5' CAG GCA GCA GGA ACG AGT TC 3'	
	NPC1	sens	5' CTT AGT GCA GGA ACT CTG TCC AGG 3'	NM_008720.2
		antisens	5' TCC ACA TCA CGG CAG GCA TTG TAC 3'	
NPC2	sens	5' AGT TTC CAT TCC ACC ACC AG 3'	NM_023409.4	
	antisens	5' CAC TCA GTC CCA GAA CAG CA 3'		
CAVEOLINE	sens	5' CCA GGG AAA CCT CCT CAG A 3'	NM_007616.4	
	antisens	5' CCG GAT GGG AAC AGT GTA GA 3'		
ABCG1	sens	5' GGGTCT GAA CTG CCC TAC CT 3'	NM_009593.2	
	antisens	5' TAC TCC CCT GAT GCC ACT TC 3'		
Gène contrôle	Cyclophiline	sens	5' TTC ACC TTC CCA AAG ACC AC 3'	NM_008907.1
		antisens	5' AGC ATA CAG GTC CTG GCA TC 3'	

Tableau 4. Liste et séquence des amorces utilisées dans les analyses de RT-qPCR.

Pour l'étude de l'expression des gènes par la méthode de transcriptomique globale, les ARN totaux de 6 souris par groupe ont été analysés. La préparation des puces microarray a été réalisée comme décrit précédemment (Opitz *et al.*, 2010). 50 ng d'ARN totaux ont été préparés avec le kit 1 couleur Low Input Quick Amp Labeling Agilent Technologies, USA. Un total de 1650 ng cRNA par échantillon a ensuite été hybridé sur les puces 8x60K SurePrint G3 Mouse (Agilent Technologies). Toutes les puces ont ensuite été lues par le scanner Agilent DNA microarray G2505C avec une résolution d'un micromètre. L'analyse des données a été réalisée avec le logiciel Agilent's Feature Extraction (FE) version 10.7.3.1.

Analyses des données et statistiques. Le logiciel GraphPad Prism (GraphPad Software, La Jolla, USA) a été utilisé pour effectuer la mise en forme et les analyses statistiques. Les résultats sont présentés en moyenne \pm écart standard à la moyenne. Les différences entre les valeurs moyennes ont été déterminées en utilisant le test T de Student. Les comparaisons multiples entre groupes sont réalisées par la méthode de l'analyse de variance (ANOVA) à un facteur répété, ou lorsqu'il s'agit d'une mesure répétée dans le temps (valable pour les suivis de poids et les tests de tolérance) par la méthode de l'analyse de variance à deux facteurs répétés, suivi d'une comparaison post-hoc de Fisher LSD. Les différences observées sont interprétées comme significatives lorsque $p < 0.05$ (* : $p < 0,05$; ** : $p < 0,005$; *** : $p < 0,001$; ns : différence non significative). Les symboles * indiquent généralement une comparaison Wild-Type vs. THY-Tau22 ou KO versus hétéro-ko ou WT sous régime standard. Les symboles ° indiquent une comparaison Chow vs. HFD du même génotype. Les symboles # se rapportent à une comparaison WT HFD vs. TAU HFD.

RESULTATS – IMPACT D'UN REGIME RICHE EN GRAISSE SUR LA PATHOLOGIE TAU DE LA MA

Un régime hypercalorique et riche en graisse a été donné aux souris de la lignée THY-Tau22.

Des souris THY-Tau22 (T ; n=21 par groupe) et leurs contrôles de portées wild-type (W ; n=21 par groupe) âgées de 2 mois ont été soumis pendant 5 mois à un régime soit contrôle (CHOW, C) soit hypercalorique et riche en gras (HFD, H). A l'âge de 2 mois le modèle THY-Tau22 ne présente qu'une pathologie Tau à peine naissante, tandis qu'à 7 mois la pathologie Tau s'est bien développée et est présente dans la CA1 de l'hippocampe.

Bien qu'à l'état basal (T0), les souris THY-Tau22 présentent un poids corporel réduit comparé aux WT (Figure 29. Tau : 20,95 g et WT : 22,88 g, $p < 0,0001$; test de Student) les souris WT et les souris TAU nourries au HFD ont développé une obésité progressive et similaire, atteignant, en pourcentages du poids corporel initial, 182 ± 5 et 174 ± 5 %, respectivement, à la fin de l'expérience (Tf, Figure 29. WH vs. WC et TH vs. TC, $p < 0,001$; WH vs. TH, $p = 0,94$ en utilisant l'ANOVA two-way). Le poids des souris à l'issue du régime est de $30,5 \pm 2$, $40,5 \pm 1$, $26,3 \pm 1,2$ et $35,3 \pm 1$ grammes chez les souris WC, WH, TC, et TH respectivement, confirmant par ailleurs l'existence d'une différence de poids entre les génotypes (***) : $p < 0,001$ WC vs. TC, Test T de Student) et révélant une obésité bien inférieure en grammes chez les TH comparé aux WH, que l'on pourrait qualifier de surpoids (### : $p < 0,001$ WH vs. TH, ANOVA one-way).

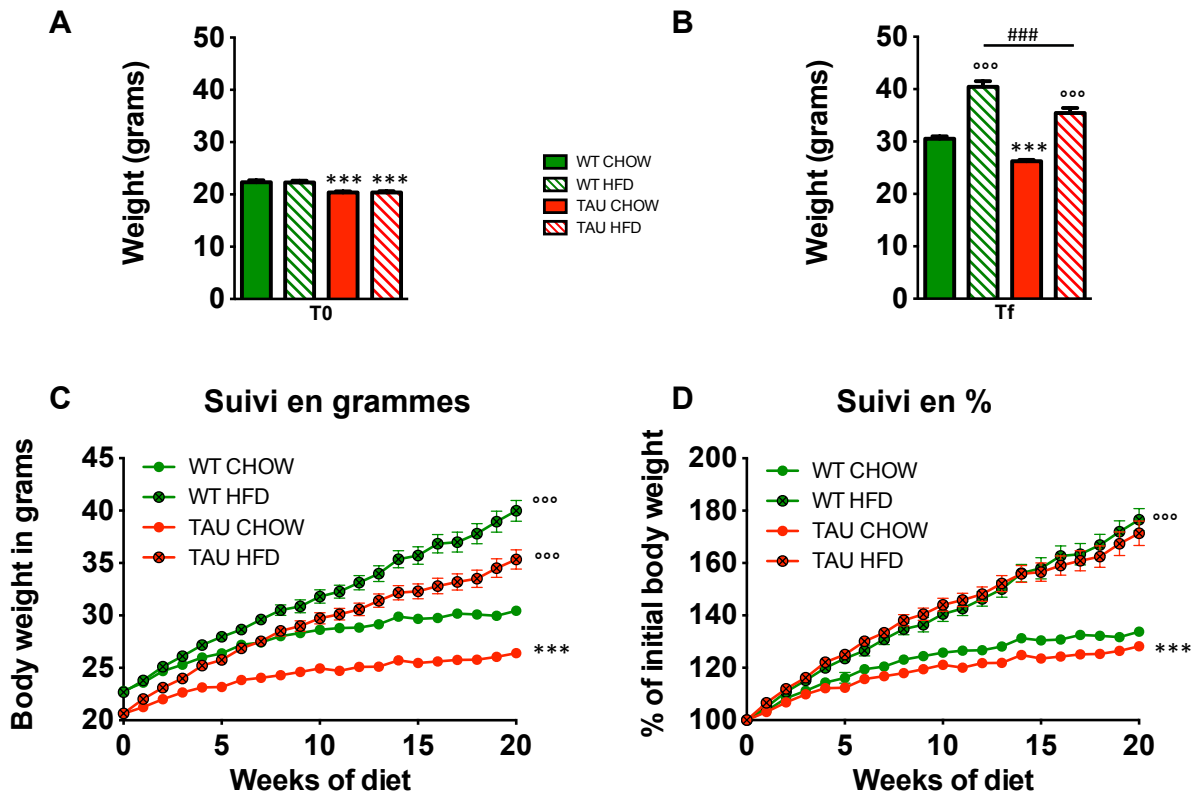


Figure 29. Mesures de poids au temps initial (T0) et final (Tf) du régime HFD indiquant l'établissement progressif d'une obésité chez les WH et un surpoids chez les TH. On peut noter la différence de poids corporel initial : la souris THY-Tau22 est généralement plus maigre, mais l'élévation de poids en pourcentage est similaire aux WT. A l'issue du régime l'obésité de la souris TH est cependant bien inférieure en grammes à celle de la souris WH. Statistiques : *** : $p < 0,001$ WC vs. TC en Test T de Student. °°° : $p < 0,001$ HFD vs. CHOW respectif et ### : $p < 0,001$ WH vs. TH en ANOVA-two-way pour les suivis de poids sur la durée, et one-way pour les comparaisons sur 4 groupes. $n=20-21$ par groupe.

Nous avons ensuite vérifié que l'obésité dans notre modèle s'accompagne des motifs métaboliques typiques telle une accumulation de graisse au niveau des tissus adipeux, d'une hyperleptinémie et d'une hyperlipidémie. Après 20 semaines de régime, nous avons mesuré les paramètres métaboliques typiques de l'obésité. Ainsi les souris WH et TH ont présenté des augmentations similaires en masses de tissus adipeux blanc (sous-cutané et viscéral), ainsi qu'en triglycérides, cholestérol total, HDL-cholestérol et non-HDL cholestérol et en leptine circulante, (Figure 30).

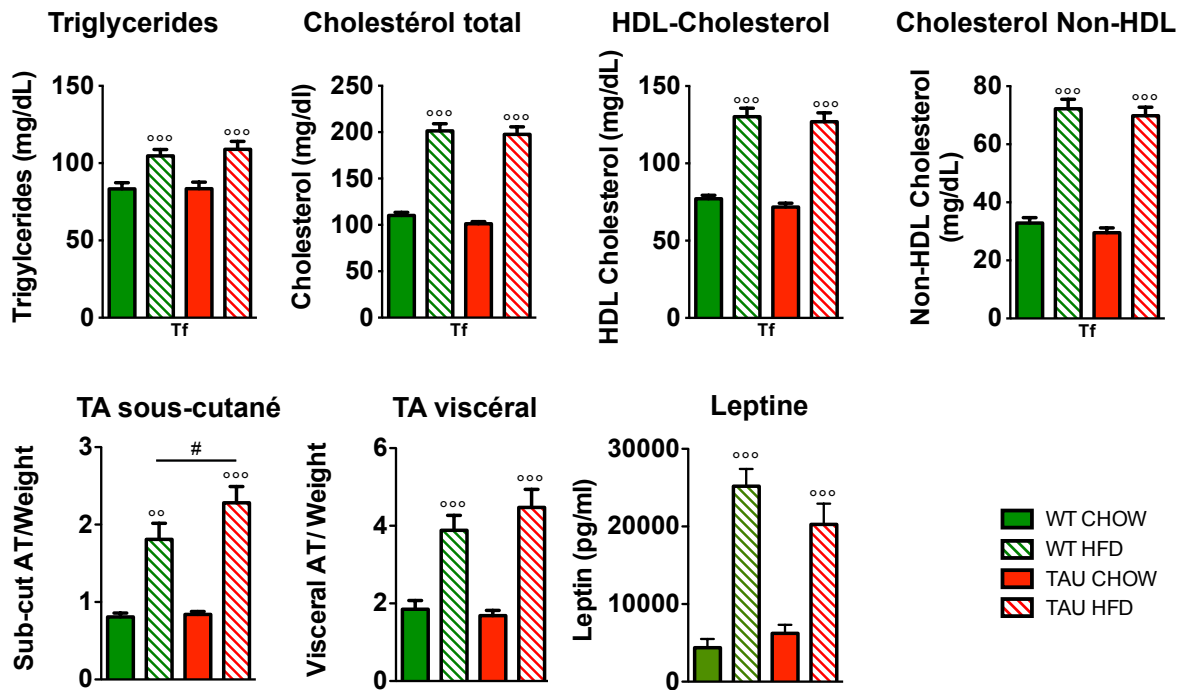


Figure 30. Le régime HFD a induit efficacement une augmentation des paramètres métaboliques reflétant une adiposité. Statistiques : °°° : $p < 0,001$, °° : $p < 0,01$ HFD vs. CHOW respectif et # : $p < 0,05$ WH vs. TH en ANOVA one-way. $n = 20-21$ par groupe.

Le régime HFD a conduit à une augmentation importante de la glycémie et de l'insulinémie chez les souris WT et THY-Tau22. Cependant, alors que la glycémie et l'insulinémie sont restées similaires entre les souris WC et TC (Figure 31), ces taux plasmatiques se sont trouvés réduits chez les souris TH comparés aux souris WH (glucose : WH : 239 ± 8 vs. TH : 207 ± 5 mg/dL, $p < 0.001$; insuline: WH : 1.8 ± 0.2 vs. TH : 1.4 ± 0.2 mg/L, $p < 0.05$ en utilisant l'ANOVA one-way). Conséquemment, l'index de résistance à l'insuline HOMA-IR s'est trouvé significativement augmenté par le régime HFD (WC vs. WH et TC vs. TH, $p < 0,001$, Test T de Student), mais s'est trouvé plus faible dans le groupe TH comparé au groupe WH (WH vs. TH, $p < 0,01$, Test T de Student). De la même façon, les souris WC et TC ont présenté une tolérance au glucose ($p = 0,44$) et à l'insuline ($p = 0,15$) similaires lors des tests de tolérance au glucose et à l'insuline, respectivement (Figure 31). Le régime HFD a affecté profondément et de façon similaire les groupes de souris nourries au HFD ($p < 0.001$ vs. leurs groupes Chow ; WH vs. TH, $p = 0.11$ en utilisant l'ANOVA two-way). Cependant, de façon surprenante, alors que les souris WH ont présenté une moindre diminution de

la glycémie après injection d'insuline comparé aux souris WC ($p < 0.001$), les souris TH ne l'ont pas fait ($p = 0.20$ vs. TC; $p = 0.004$ vs. WH en utilisant l'ANOVA two-way). La réduction de l'index HOMA-IR chez les TH comparé aux WH va dans le même sens. Ainsi, ces données suggèrent qu'au contraire des souris WH, les souris TH n'ont pas développé d'insulinorésistance périphérique à l'issue du régime (Figure 31). Cela est compatible avec les données de poids corporel (Figure 29) qui suggèrent l'existence d'une résistance à l'obésité induite par régime chez la souris THY-Tau22.

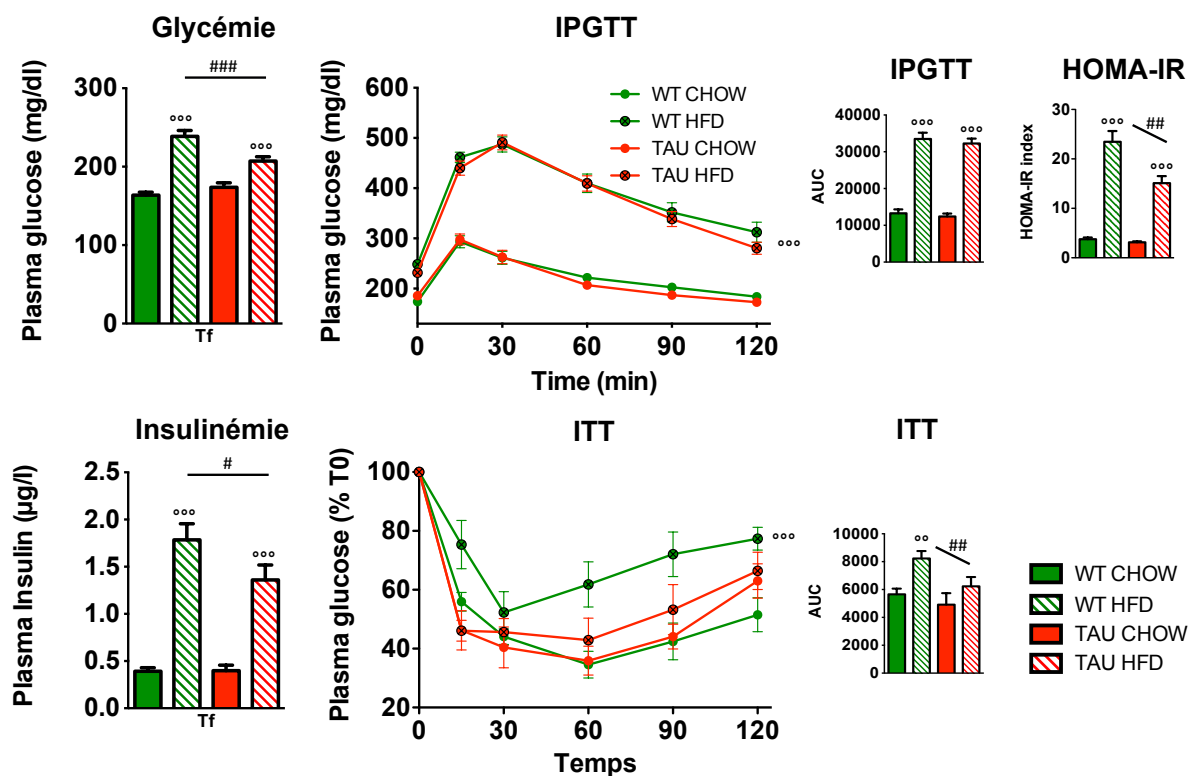


Figure 31. Le régime HFD a affecté de façon différente l'homéostasie glucidique chez les souris THY-Tau22 comparé aux souris WT soumises au régime HFD. La glycémie, l'insulinémie, l'intolérance au glucose et l'index HOMA-IR ont été augmentés par le HFD chez les WT comme chez les THY-Tau22. Cependant la tolérance à l'insuline n'a pas été touchée chez le groupe TH alors que chez le groupe WH elle s'est bien installée. La glycémie, l'insulinémie, l'index HOMA-IR se sont également trouvés significativement réduits chez les TH comparés aux WH, suggérant la présence d'une moindre insulinorésistance chez les TH comparés aux WH. Statistiques : ° : $p < 0,05$, °° : $p < 0,01$, °°° : $p < 0,001$ HFD vs. CHOW respectif et # : $p < 0,05$, ## : $p < 0,01$, ### : $p < 0,001$ en ANOVA-two-way pour les tests de tolérance, et one-way pour les histogrammes sur 4 groupes. $n = 20-21$ par groupe.

Effets du régime HFD sur l'expression hippocampique de marqueurs inflammatoires.

Des preuves existent que le régime HFD promeut l'inflammation hippocampique chez des animaux WT (Jeon *et al.*, 2012; Pistell *et al.*, 2010). Des études récentes sur le modèle THY-Tau22 ont mis en évidence la présence d'une neuro-inflammation hippocampique chez ces souris (Belarbi *et al.*, 2011; Laurent *et al.*, 2011, 2013), avec, à l'âge de 7 mois, une surexpression au niveau ARN et protéine de marqueurs inflammatoires de type cytokine (TNF α), chimiokines (CCL3, CCL4, CCL5), marqueur microglial (CD68), astrocytaire (GFAP) et lymphocytaire (CD3). Il a été supposé que les processus neuro-inflammatoires peuvent potentialiser la pathologie Tau (Lee *et al.*, 2010; Roe *et al.*, 2011; Bhaskar *et al.*, 2012). Nous avons donc évalué, par la méthode de PCR quantitative, l'expression en ARN de plusieurs de ces marqueurs. Aucun des marqueurs étudiés (CD68, Ccl3, Ccl4, Ccl5, TNF α , CD3) ne s'est retrouvé modifié par le régime HFD (Figure 32). De façon similaire, au cours de l'analyse transcriptomique globale aucun autre marqueur inflammatoire ne s'est retrouvé surexprimé chez les TH comparé aux TC (Tableau 5).

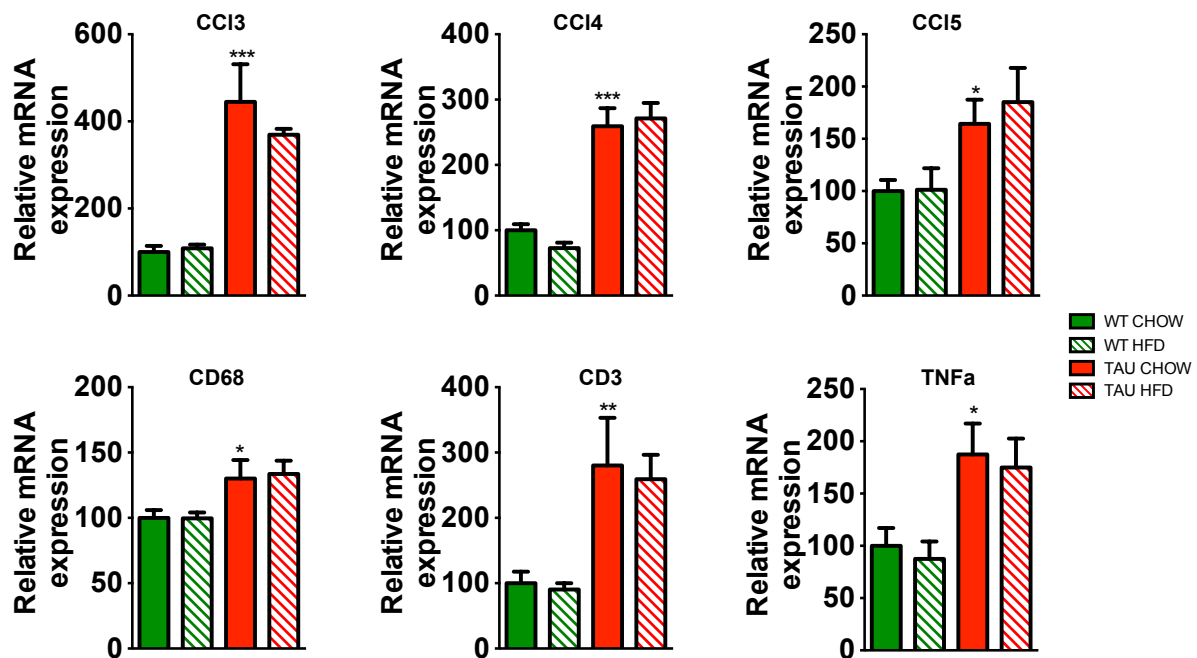


Figure 32. 5 mois de régime HFD n'a pas engendré d'aggravation de l'inflammation hippocampique. Bien qu'une inflammation hippocampique soit retrouvée chez la souris THY-Tau22 comparé aux WT, aucun des transcrits de chimiokines, microglie, astrocyte ni lymphocyte étudiés ne s'est retrouvé augmenté par le HFD. Statistiques : * : $p < 0,05$, ** : $p < 0,01$, *** : $p < 0,001$ WC vs. TC en Test T de Student. $n = 10$ à 11 par groupe.

GeneSymbol	Description	FC
Nkd2	Mus musculus naked cuticle 2 homolog (Drosophila) (Nkd2), mRNA [NM_028186]	1,5012598
Crtac1	Mus musculus cartilage acidic protein 1 (Crtac1), mRNA [NM_145123]	1,4041501
Ak4	Mus musculus adenylate kinase 4 (Ak4), nuclear gene encoding mitochondrial protein, transcript variant 1, mRNA [NM_001177602]	1,3677881
Ctu2	Mus musculus cytosolic thioridylase subunit 2 homolog (S. pombe) (Ctu2), mRNA [NM_153775]	1,2940979
Adora2b	Mus musculus adenosine A2b receptor (Adora2b), mRNA [NM_007413]	1,2866851
Gm2936	PREDICTED: Mus musculus hypothetical protein LOC100040737 (LOC100040737), mRNA [XM_001475163]	-1,2549485
Cc2d2a	Mus musculus coiled-coil and C2 domain containing 2A (Cc2d2a), mRNA [NM_172274]	-1,2555668
Usp40	Mus musculus ubiquitin specific peptidase 40 (Usp40), mRNA [NM_001033291]	-1,2575179
Gm3912	PREDICTED: Mus musculus similar to 2810047C21Rik protein (LOC100042577), mRNA [XM_001478744]	-1,2578809
Gm2251	PREDICTED: Mus musculus similar to gag protein, transcript variant 1 (LOC100039464), mRNA [XM_001472850]	-1,2660606
B230206F22Rik	Mus musculus RIKEN cDNA B230206F22 gene (B230206F22Rik), transcript variant 2, non-coding RNA [NR_028381]	-1,2667127
Cdkl3	Mus musculus cyclin-dependent kinase-like 3 (Cdkl3), transcript variant 2, mRNA [NM_153785]	-1,2688532
Ncrna00085	Mus musculus 0 day neonate cerebellum cDNA, RIKEN full-length enriched library, clone:C230078D19	-1,2740141
Lyst	Mus musculus lysosomal trafficking regulator (Lyst), mRNA [NM_010748]	-1,2745421
	germ cell-less homolog 1 (Drosophila) Gene [Source:MGI (curated);Acc:MGI:1345156] [ENSMUST00000113679]	-1,2750583
	lincRNA:chr9:20313342-20323517 reverse strand	-1,2889498
LOC544818	PREDICTED: Mus musculus hypothetical LOC544818 (LOC544818), mRNA [XM_618937]	-1,3160388
Atf7	Mus musculus activating transcription factor 7 (Atf7), mRNA [NM_146065]	-1,3229647
E330037G11Rik	Mus musculus 2 days pregnant adult female ovary	-1,3416157
Ccny	Mus musculus cyclin Y (Ccny), mRNA [NM_026484]	-1,3441503
9030601B04Rik	Mus musculus adult male colon cDNA, RIKEN full-length enriched library, clone:9030601B04	-1,3604703
Prpf38b	Mus musculus PRP38 pre-mRNA processing factor 38 (yeast) domain containing B (Prpf38b), mRNA [NM_025845]	-1,3686782
	lincRNA:chr9:20313342-20323517 reverse strand	-1,3793203
A130040M12Rik	Mus musculus RIKEN cDNA A130040M12 gene (A130040M12Rik), non-coding RNA [NR_002860]	-1,3993338
	lincRNA:chr15:61984389-62102500 forward strand	-1,4021196
Zfpm2	Mus musculus zinc finger protein, multitype 2 (Zfpm2), mRNA [NM_011766]	-1,4119205
Ptn	Mus musculus pleiotrophin (Ptn), mRNA [NM_008973]	-1,430645
Gm3565	PREDICTED: Mus musculus similar to Ac2-008 (LOC100041886), misc RNA [XR_033328]	-1,4509069
LOC676101	PREDICTED: Mus musculus similar to Hmgb1 protein (LOC676101), misc RNA [XR_031492]	-1,5156058
	nuclear factor, erythroid derived 2, like 3 Gene [Source:MGI Symbol;Acc:MGI:1339958] [ENSMUST00000061507]	-1,537408
	S-adenosylhomocysteine hydrolase-like 2 Gene [Source:MGI (curated);Acc:MGI:1921590] [ENSMUST00000101611]	-1,5583806
D730040F13Rik	RIKEN cDNA D730040F13 gene Gene [Source:MGI Symbol;Acc:MGI:2445107] [ENSMUST00000107609]	-1,5596193
Gm5473	PREDICTED: Mus musculus predicted gene, EG432959 (EG432959), mRNA [XM_484474]	-1,5845684
Gm6115	PREDICTED: Mus musculus predicted gene, EG619937 (EG619937), mRNA [XM_884320]	-1,6824303
Gm3160	PREDICTED: Mus musculus similar to high-mobility group box 1 (LOC100045714), mRNA [XM_001475214]	-1,6947726
Gm3829	PREDICTED: Mus musculus similar to high-mobility group box 1 (LOC100042404), misc RNA [XR_033680]	-1,7049968
Hmg111	Mus musculus high-mobility group (nonhistone chromosomal) protein 1-like 1 (Hmg111), mRNA [NM_001111282]	-1,716234
Gm6115	PREDICTED: Mus musculus predicted gene, EG619937 (EG619937), mRNA [XM_884320]	-1,7171178
Gm5396	PREDICTED: Mus musculus predicted gene, EG385454 (EG385454), mRNA [XM_358238]	-1,7236854
Gm8423	PREDICTED: Mus musculus similar to High mobility group box 1 (LOC667019), misc RNA [XR_030685]	-1,724056
LOC100048350	PREDICTED: Mus musculus similar to high-mobility group box 1 (LOC100048350), misc RNA [XR_034517]	-1,7269719
Gm8831	PREDICTED: Mus musculus similar to hCG26831 (LOC667819), misc RNA [XR_033747]	-1,7270911
LOC674635	PREDICTED: Mus musculus similar to hCG26831 (LOC674635), misc RNA [XR_032450]	-1,739498
Gm8132	PREDICTED: Mus musculus similar to Ac2-008 (LOC666491), misc RNA [XR_034623]	-1,7477757
Gm8119	PREDICTED: Mus musculus similar to Ac2-008 (LOC666460), misc RNA [XR_031886]	-1,749816
Gm4383	PREDICTED: Mus musculus similar to high mobility group box 1 (LOC100046892), misc RNA [XR_033584]	-1,7511026
Gm3148	PREDICTED: Mus musculus similar to high-mobility group box 1 (LOC100045223), misc RNA [XR_031404]	-1,7511207
Gm3243	PREDICTED: Mus musculus similar to high-mobility group box 1 (LOC100041270), misc RNA [XR_032546]	-1,7519842
Gm8277	PREDICTED: Mus musculus similar to high-mobility group box 1 (LOC666758), misc RNA [XR_030963]	-1,755444
Gm14473	PREDICTED: Mus musculus similar to High mobility group box 1 (LOC668982), misc RNA [XR_002281]	-1,7555578
Gm6791	PREDICTED: Mus musculus similar to Ac2-008 (LOC627808), misc RNA [XR_033223]	-1,7566112
Gm7870	PREDICTED: Mus musculus similar to high mobility group box 1 (LOC677488), misc RNA [XR_034609]	-1,7673098
Gm9370	PREDICTED: Mus musculus similar to high-mobility group box 1 (LOC668806), misc RNA [XR_033535]	-1,7701384
Gm2459	PREDICTED: Mus musculus similar to Hmgb1 protein (LOC100039851), mRNA [XM_001473665]	-1,7839956
Gm7822	PREDICTED: Mus musculus similar to Ac2-008 (LOC665851), misc RNA [XR_033056]	-1,7841549
EG626095	PREDICTED: Mus musculus similar to high-mobility group box 1 (LOC634880), mRNA [XM_909743]	-1,7852939
Gm12261	PREDICTED: Mus musculus similar to high mobility group box 1 (LOC668157), misc RNA [XR_032580]	-1,7912022
Gm14473	PREDICTED: Mus musculus similar to High mobility group box 1 (LOC668982), misc RNA [XR_002281]	-1,7979168
Gm7909	PREDICTED: Mus musculus similar to high mobility group protein (LOC666055), misc RNA [XR_032555]	-1,8036835
Gm5176	Mus musculus predicted gene 5176 (Gm5176), non-coding RNA [NR_033603]	-1,8073344
LOC674543	PREDICTED: Mus musculus similar to High mobility group box 1 (LOC674543), misc RNA [XR_033362]	-1,8314773
Gm7422	PREDICTED: Mus musculus similar to Hmgb1 protein (LOC664952), misc RNA [XR_030624]	-1,8400391
LOC676101	PREDICTED: Mus musculus similar to Hmgb1 protein (LOC676101), misc RNA [XR_031492]	-1,846305
Hmg111	Mus musculus high-mobility group (nonhistone chromosomal) protein 1-like 1 (Hmg111), mRNA [NM_001111282]	-1,8516343
Gm8554	PREDICTED: Mus musculus similar to high-mobility group box 1 (LOC667280), misc RNA [XR_031765]	-1,891277

Tableau 5. Comparaison du profil d'expression d'ARNm chez les souris TH comparé aux souris TC obtenu en analyse transcriptomique globale. Les gènes ou loci présentés sont ceux qui sont significativement différemment exprimés. Le "fold change" minimum retenu est de 1,25 en positif et en négatif, et aucune ségrégation en terme de classes de gènes retenus n'a pu être mise en évidence.

Le régime HFD aggrave l'apprentissage spatial des souris THY-Tau22.

Le labyrinthe de la piscine de Morris permet d'évaluer la capacité pour une souris à se repérer dans l'espace, puis à mémoriser et retenir la position d'une plateforme. Les paramètres évalués permettent d'identifier si une éventuelle différence observée est

liée à une performance motrice inférieure (vitesse de nage inférieure), ou à un réel déficit mnésique. La souris THY-Tau22 présente des altérations d'apprentissage et de mémorisation qui ont été mis en évidence par l'utilisation de ce test (Schindowski *et al.*, 2006). Dans notre expérience, tandis que la vitesse de nage (vélocité) ne s'est pas trouvée différente entre les groupes ($p > 0,05$), les souris TC ont mis significativement plus de temps pour atteindre la plateforme (escape latency) et ont parcouru significativement plus de distance que les souris WC ($p = 0.0013$ en utilisant l'ANOVA two-way) (Figure 33). Alors que le HFD n'a pas exercé d'influence significative chez les souris WT ($p = 0.96$), le régime a accru ces paramètres chez les souris TH (TC vs. TH, temps pour trouver la plateforme $p = 0.037$ en utilisant l'ANOVA two-way). L'aire sous la courbe confirme ces données (** : $p < 0,01$ WC vs. TC ; $p < 0,05$ TC vs. TH en utilisant l'ANOVA one-way). Ainsi, l'apprentissage spatial a donc été significativement altéré chez les souris TH comparés aux souris WH ($p < 0.001$). Le probe test, qui mesure l'index de mémorisation, 24 heures après le dernier test, montre que les souris WC passent plus de temps dans le cadran cible ($p < 0,01$, premier histogramme) que dans les autres cadrans (moyenne du temps passé dans les autres cadrans, deuxième histogramme). Les souris WH présentent le même profil ($p < 0,01$). En revanche les souris TC s'approchent du facteur chance. Les souris TH montrent un profil similaire aux TC, et il est difficile de statuer sur leur capacité de mémorisation puisque le profil des TC ressemblé déjà à un profil généré par le hasard de rencontrer la plateforme (Figure 33).

En conclusion le régime HFD a engendré une altération des performances mnésiques d'apprentissage spatial chez les souris THY-Tau22, mais pas chez les WT.

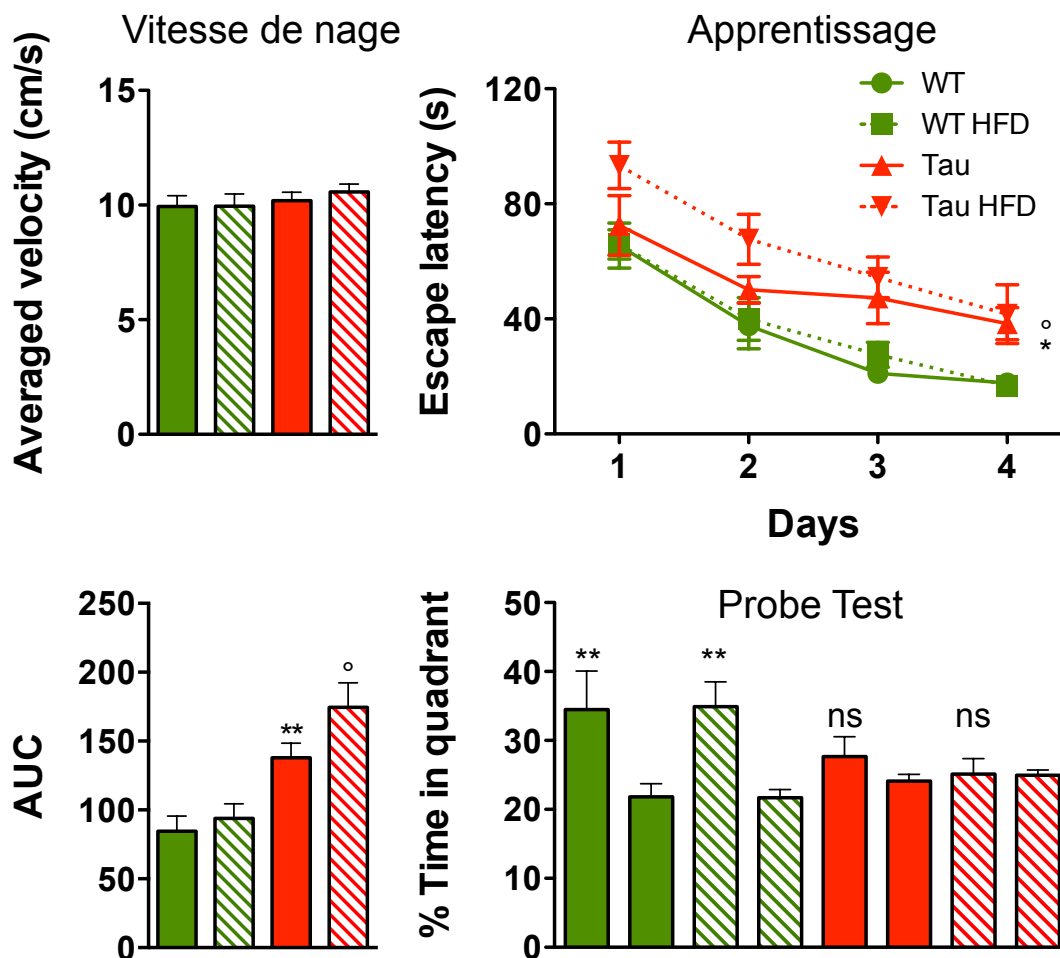


Figure 33. 5 mois de HFD engendrent une altération des performances mnésiques d'apprentissage spatial mis en évidence dans le test de la piscine de Morris. Tandis que la vitesse de nage n'est pas altérée, le temps de parcours pour atteindre la plateforme (escape latency) est significativement différent entre les souris TC et TH. (Apprentissage : ° : $p < 0,05$ TC vs. TH, * : $p < 0,05$ WC vs. TC en utilisant l'ANOVA two-way, Aire sous la courbe : ** : $p < 0,01$ WC vs. TC ; ° : $p < 0,05$ TC vs. TH en utilisant l'ANOVA one-way, probe Test : ** : $p < 0,01$ cadran cible vs. autre cadran du groupe respectif). $n = 10$ à 11 par groupe.

Le régime HFD potentialise la phosphorylation de Tau chez la souris THY-Tau22.

Puisque il existe un nombre important de sites de phosphorylation sur la protéine Tau (>80 ; Sergeant *et al.*, 2008), nous avons dans un premier temps réalisé une analyse en électrophorèse bidimensionnelle. Par immunoempreinte dirigée contre une forme totale de la protéine Tau (Anticorps Tau Cter) nous avons pu mettre en évidence dans le groupe TH comparé au groupe TC un déplacement significatif des isovariants de

Tau depuis des isovariants basiques jusqu'à des isovariants acides, compatible avec une augmentation de la phosphorylation (Figure 34.).

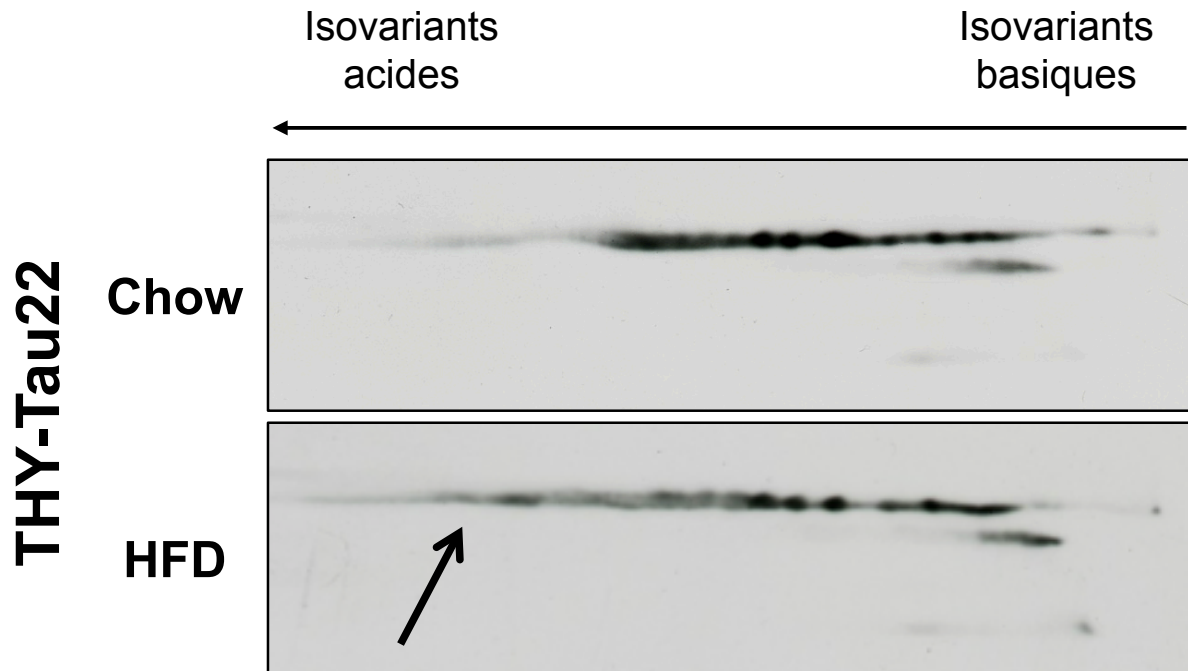


Figure 34. L'analyse en électrophorèse bi-dimensionnelle indique une acidification des isovariants de protéine Tau chez les souris THY-Tau22 nourries par le HFD comparés à celles nourries par le régime standard, suggérant une augmentation des formes phosphorylées de Tau. $n=5$ à 6 par pool de protéines.

L'évaluation en électrophorèse mono-dimensionnelle suivie d'immunoempreintes ciblant plusieurs épitopes de tau phosphorylés a montré que le régime HFD n'a pas induit d'augmentation globale de la phosphorylation de Tau. Au contraire, le régime a promu l'augmentation de phosphorylation sur des sites spécifiques. Ainsi, alors que la phosphorylation est demeurée stable aux sites Thr181, Ser212/214 (AT100), Thr231, Ser262 et Ser396 de Tau, la phosphorylation en Ser214 et Ser404 ainsi que la phosphorylation dite pathologique en Ser422 ont été significativement augmentées, atteignant respectivement $182\pm35\%$, $167\pm17\%$ et $151\pm17\%$ du groupe TC ($p=0.037$, $p=0.0028$ and $p=0.018$ vs. TC en utilisant le test T de Student) (Figure 35). Les fragments protéolytiques de Tau n'ont pas été modifiés chez les groupes HFD (Trunc. Tau, Figure 35.)

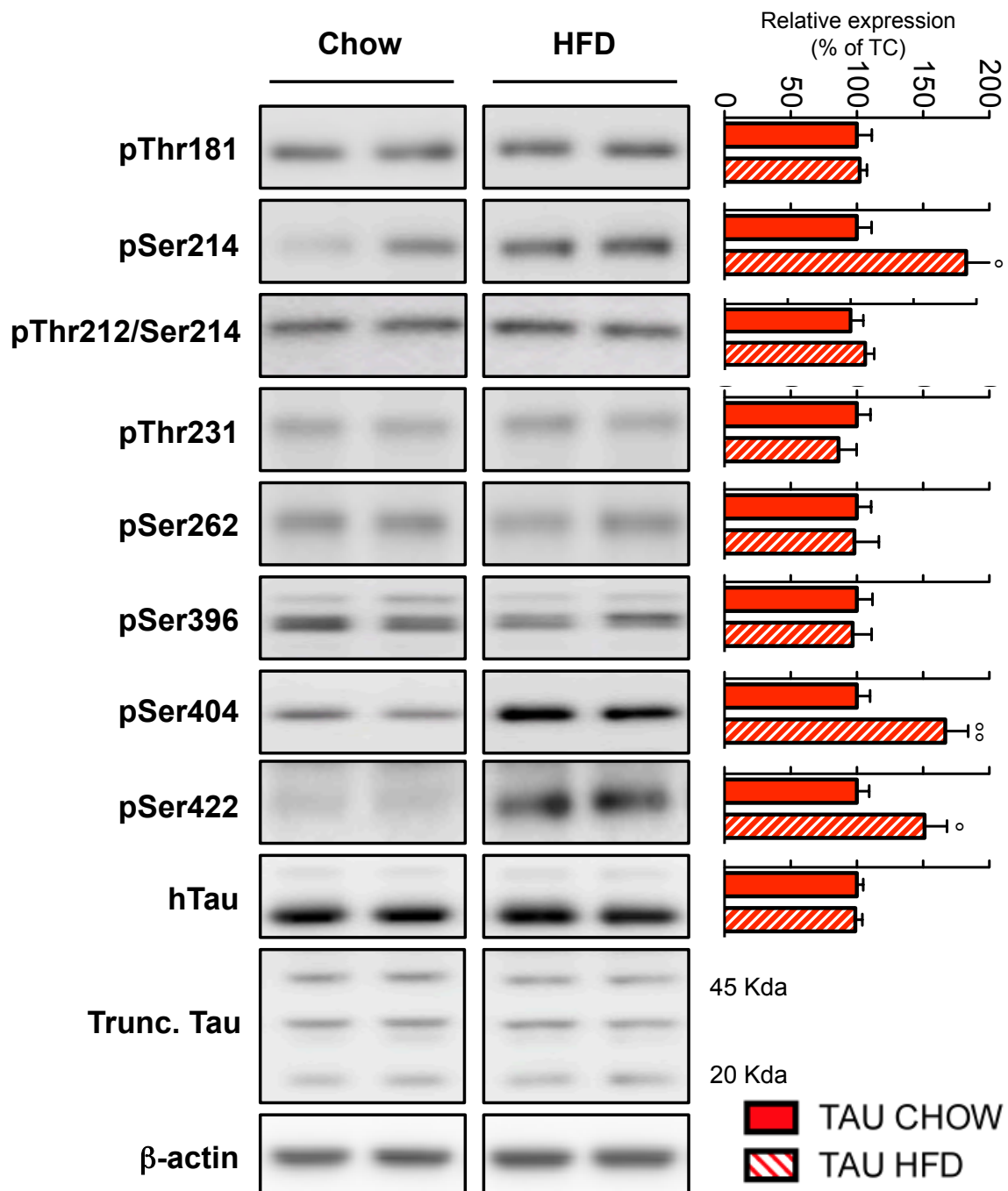


Figure 35. Analyse de la phosphorylation de Tau par électrophorèse SDS-PAGE chez les souris TC et TH en utilisant les anticorps ciblant des sites physiologiques (pThr181, pSer214, pThr231, pSer262, pSer396, pSer404) et pathologiques (pThr212/Ser214, pSer422) de Tau. Une augmentation significative de la phosphorylation aux épitopes Ser214, Ser404 et Ser422 a eu lieu chez les souris TH. Ceci a eu lieu en l'absence de modifications de la protéine Tau humaine totale (anticorps TauCter) ni en modifications de la troncation de Tau. La quantité de protéine Tau murine chez la souris THY-Tau22 n'a pas été quantifiée. La quantification des phospho-épitopes a été faite en rapport à la quantité de protéine Tau totale. La quantification de tau totale (hTau), elle, a été rapportée à la quantité d'actine. Les résultats de ces quantifications

(histogrammes de droite) sont exprimés en pourcentages des niveaux des souris TC \pm SEM. ° : $p < 0,05$, °° : $p < 0,01$ en utilisant le test T de Student. $n = 5$ à 7 par groupe.

Les analyses d'immunohistochimie ont confirmé ces données. La phosphorylation a été significativement augmentée chez les souris TH comparé aux souris TC aux épitopes pSer202/Thr205 (AT8) et pSer422 (respectivement $190 \pm 35\%$ du groupe TC, $p = 0.021$ et $179 \pm 33\%$ du groupe TC, $p = 0.039$, en utilisant le test T de Student) (Figure 36.)

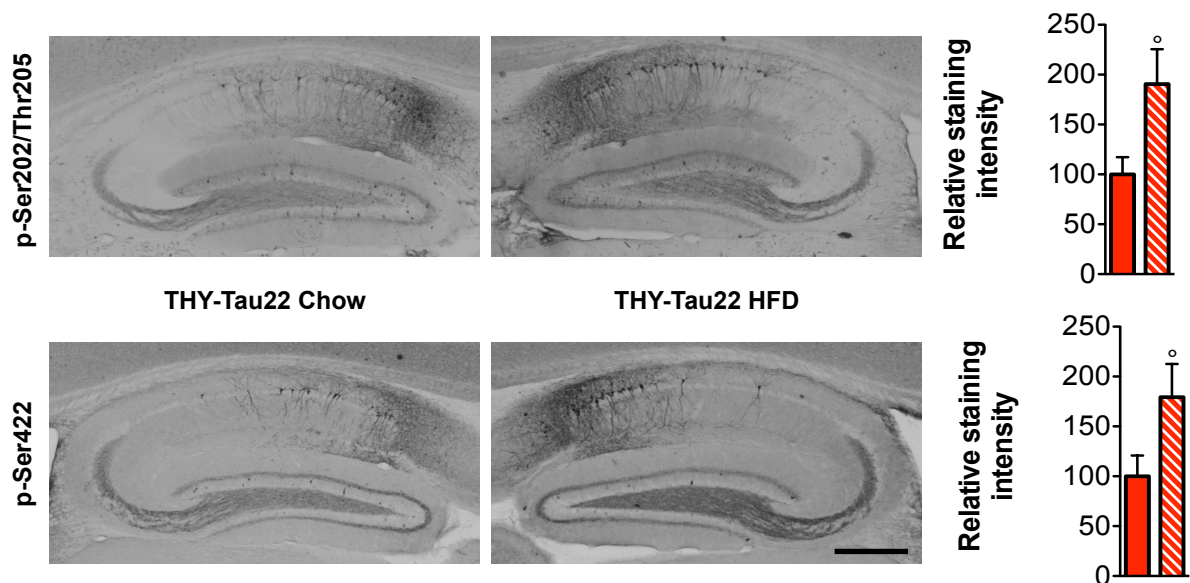


Figure 36. L'immunohistochimie chez la souris THY-Tau22 nourrie 5 mois au régime HFD présente davantage de marquage aux épitopes pSer202/Thr205 (AT8, photos du dessus) et pSer422 (photos du bas). Barre d'échelle = 500 μ m. A droite, histogrammes représentant les valeurs moyennes quantifiées \pm SEM en aveugle de 6 coupes d'hippocampes par souris et 4-5 souris par groupe. ° : $p < 0,05$, en utilisant le test T de Student

De façon intéressante, les animaux WH n'ont pas présenté d'augmentation de la phosphorylation de Tau murine comparé au groupe WC, mais plutôt une augmentation de l'expression protéique totale de la Tau murine, et également une augmentation de l'expression transcriptionnelle de Tau (Figure 37.).

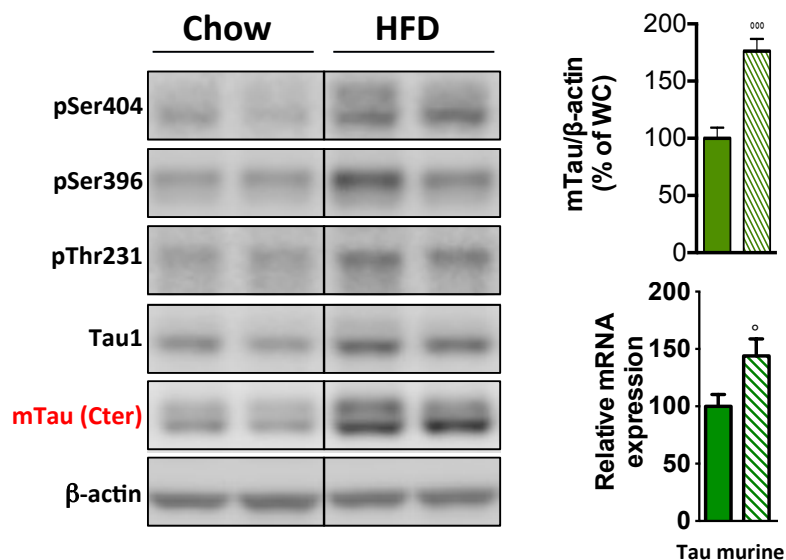


Figure 37. Profil d'expression de Tau chez les souris WH comparées aux souris WC. Une augmentation de l'expression protéique de la Tau murine (mTau), endogène, a été mise en évidence (anticorps TauCter), ainsi qu'une augmentation en qPCR du transcrite ciblant les ARNm du gène Tau murin. Nous n'avons pas observé de développement de la phosphorylation chez les souris WH comparé à l'expression totale de Tau. L'apparente augmentation des épitopes phosphorylés de Tau est due à l'augmentation de l'expression de la protéine Tau totale, induisant par ce biais une augmentation de l'immunoréactivité pour tous les épitopes de Tau. ° : $p < 0,05$, °°° : $p < 0,001$ en utilisant le test T de Student. $n = 5$ à 7 par groupe.

De façon à étudier l'agrégation et l'oligomérisation de Tau, un fractionnement biochimique a été réalisé, et les fractions solubles ou insolubles de Tau ont été analysées. Chez les groupes Tau, le HFD n'a pas modifié les formes sarkosyl-insolubles de Tau et les fractions sarkosyl solubles n'ont pas révélé de modifications des oligomères de protéines Tau (Figure 38.).

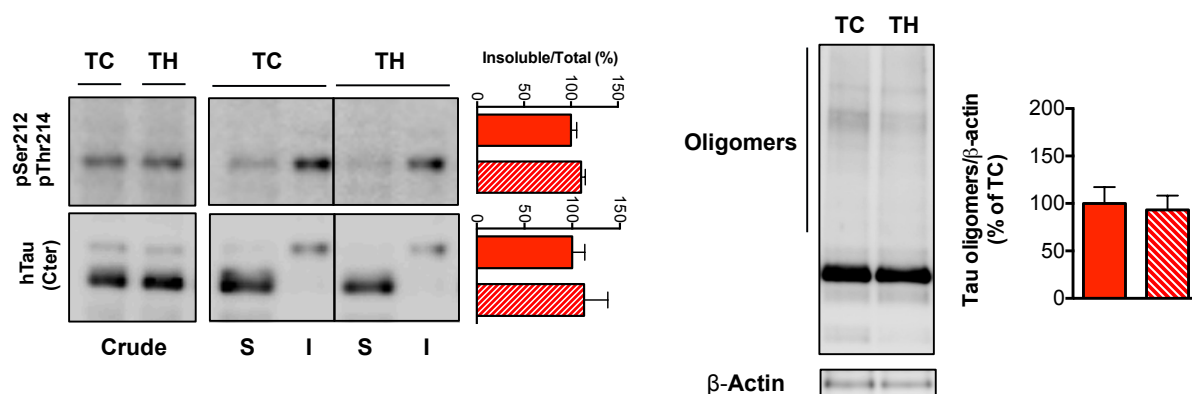
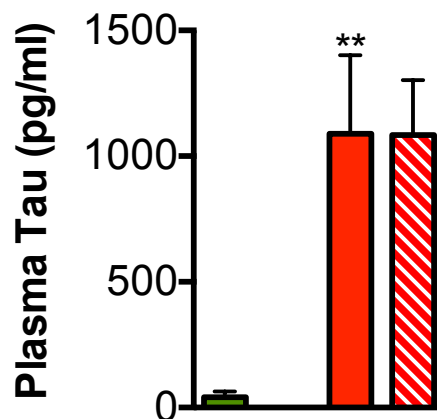


Figure 38. Le régime HFD n'a pas eu d'effets sur les fractions solubles (S) ou insolubles (I) de Tau chez la souris THY-Tau22. Western blots de gauche, résultats du

fractionnement sarkosyl soluble / insoluble puis révélé à l'aide d'anticorps ciblant la protéine Tau anormalement phosphorylée et mal conformée (photos du dessus, anticorps AT100, pThr212/pSer214). La bande observée sur la photographie pThr212/pSer214 correspond à la bande supérieure visualisée grâce à l'anticorps TauCter (photographie du bas). La quantité d'oligomères de Tau, issues d'un fractionnement dépourvu de tampon réducteur et révélé par un anticorps ciblant les formes totales de Tau (TauCter) montre l'absence de modifications par le régime HFD chez les THY-Tau22. Les histogrammes indiquent, pour le fractionnement soluble insoluble la quantification de Tau dans la fraction insoluble rapportée à la quantité totale de Tau, et pour les oligomères le rapport à la quantité de Beta actine (n=4 par groupe).

Enfin, de façon similaire au travail de thèse de Laetitia Troquier (Troquier *et al.*, 2012) nous avons détecté de la protéine Tau humaine dans le plasma des souris TC (1089.3±312.7 pg/mL) qui n'a pas été modifiée par le régime HFD (1083.7±218.6 pg/mL; p=0.98 Test T de Student) (Figure 39).



*Figure 39. La quantité de protéine Tau humaine détectée dans le plasma des souris THY-Tau22 n'a pas été modifiée par le régime HFD. ** : p<0,01 TC vs. WC, test T de Student.*

Puisque nos données indiquent que le régime HFD mène à une altération de l'apprentissage chez les TH et que cela s'accompagne d'une augmentation de la phosphorylation de la protéine Tau humaine, au regard des données de la littérature indiquant le potentiel neurotoxique des espèces de Tau phosphorylées (Steinhilb *et al.*, 2007; Nishimura *et al.*, 2004; Khurana *et al.*, 2006 ; Xu *et al.*, 2010), nous avons vérifié si ces altérations pourraient être corrélées à des modifications structurales ou cellulaires hippocampiques.

Nous n'avons pas observé chez ces souris de modifications ni de l'épaisseur de la CA1 (données non présentées ici), ni de l'expression de marqueurs neuronaux (NeuN et NSE) et de marqueurs synaptiques (Synaptophysine et spinophiline) (Figure 40.).

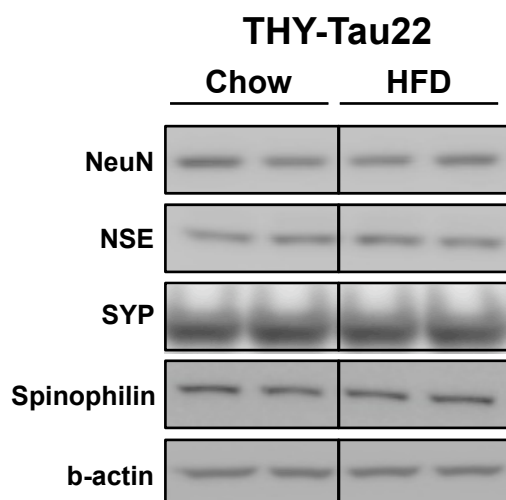


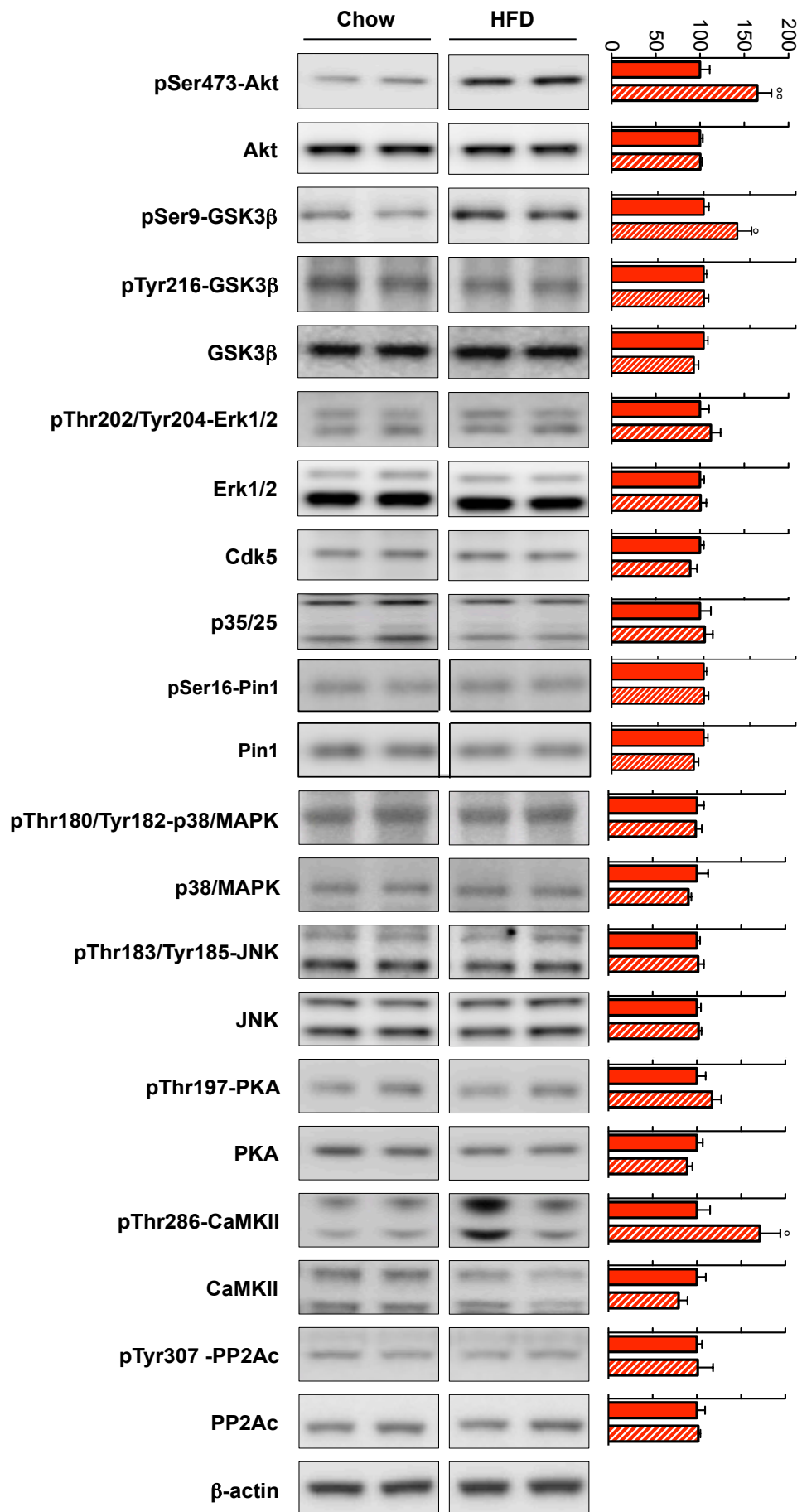
Figure 40. Aucun des marqueurs nucléaire (NeuN), cytosolique (NSE), présynaptique (SYP, synaptophysine), et postsynaptique (spinophiline) n'ont été modifiés par le régime HFD chez les THY-Tau22, supportant l'absence de mort neuronale ou de perte synaptique chez les souris TH. n=5 à 7 par groupe.

Les effets du régime HFD sur les kinases et phosphatases de Tau.

La phosphorylation de Tau est sous le contrôle de la balance de l'activité de ses kinases et phosphatases. Plus de 30 kinases différentes capables de phosphoryler Tau ont été recensées (Sergeant *et al.*, 2008). Parmi celles-ci nous avons étudié les principales, incluant celles régulées par la voie de signalisation de l'insuline. Le régime HFD n'a pas altéré l'expression des formes totales des différentes kinases étudiées dans l'hippocampe des souris THY-Tau22.

La prolyl-isomérase Pin1 n'a pas été modifiée. Le ratio p35/p25, représentatif d'une activité modifiée de la kinase Cdk5 n'a pas été modifié par le régime HFD chez les souris TH. L'épitope Tyr216 de la GSK3 β n'a pas été modifié par le HFD, alors que la phosphorylation sur son épitope inactivateur Ser9 s'est retrouvé significativement augmenté (136 \pm 15% du groupe TC, p=0.05). Le régime HFD a également mené à une augmentation significative chez les TH de la phosphorylation des épitopes Ser473 de Akt et Thr286 de CaMKII, atteignant, respectivement, 165 \pm 16 (p=0.006) et 171 \pm 23% (p=0.028) du groupe TC (Figure 41.).

Figure 41. (cf. page suivante). Impact du régime HFD sur les kinases et phosphatases de Tau chez les souris THY-Tau22. L'analyse par électrophorèse SDS-PAGE en utilisant des anticorps ciblant les kinases et phosphatases majeures de Tau révèle une activation de Akt et CaMKII (via phosphorylation en Ser473 et Thr286, respectivement) et une inhibition de GSK3 β (via phosphorylation en Ser9), et ce, en l'absence de changements dans l'expression des formes totales. Les histogrammes sur la droite représentent les moyennes des valeurs quantifiées en pourcentages du groupe TC, les phospho-épitopes étant rapportés aux formes totales, et les formes totales à l'actine. °p<0.05, °°p<0.01 vs. TC en utilisant le test T de Student. (n=6-7/groupe).



Nous avons ensuite évalué l'état d'activation de la phosphatase PP2A. En effet, dans des extraits de cerveaux de patients atteints de MA, l'expression (Sontag *et al.*, 2004) et l'activité (Gong *et al.*, 1995) de la phosphatase PP2A se sont trouvées réduites. Nous n'avons pas observé de modifications significatives de l'activité de PP2A, la phosphatase majeure de Tau, dans le groupe TH comparé au groupe TC (TC : 94 ± 23 vs. TH : 119 ± 8 pmol de phosphate par heure par mg de protéine; $p=0.34$, test T de Student; $n=4$ /groupe, datas non présentées ici). Par ailleurs, l'expression et la phosphorylation de la sous-unité catalytique de PP2A n'ont pas été affectées par le HFD chez les souris THY-Tau22 (Figure 41.).

La nutrition HFD a augmenté la signalisation de l'insuline dans l'hippocampe des souris THY-Tau22.

Il a souvent été rapporté qu'une augmentation de la phosphorylation de Tau s'est produite dans des conditions expérimentales reproduisant une résistance à l'insuline centrale (Schubert *et al.*, 2003, 2004; Deng *et al.*, 2009; Grünblatt *et al.*, 2007). De façon intéressante, nos données indiquent que la signalisation à l'insuline est augmentée dans l'hippocampe des souris TH. En effet, en plus d'une augmentation de la phosphorylation de Akt en Ser473 et GSK3 β en Ser9, nous avons mis en évidence une augmentation de l'expression d'IRS1 ($155 \pm 12\%$ du groupe TC; $p=0.0076$, test T de Student) ainsi qu'une tendance à la diminution de son épitope inhibiteur Ser612 ($76 \pm 7\%$ du groupe TC, $p=0.09$). Ceci a été associé avec une augmentation modérée de la phosphorylation de la sous-unité p85 de la PI3K en Thr458 ($133 \pm 12\%$ du groupe TC, $p=0.08$, test T de Student) (Figure 42.).

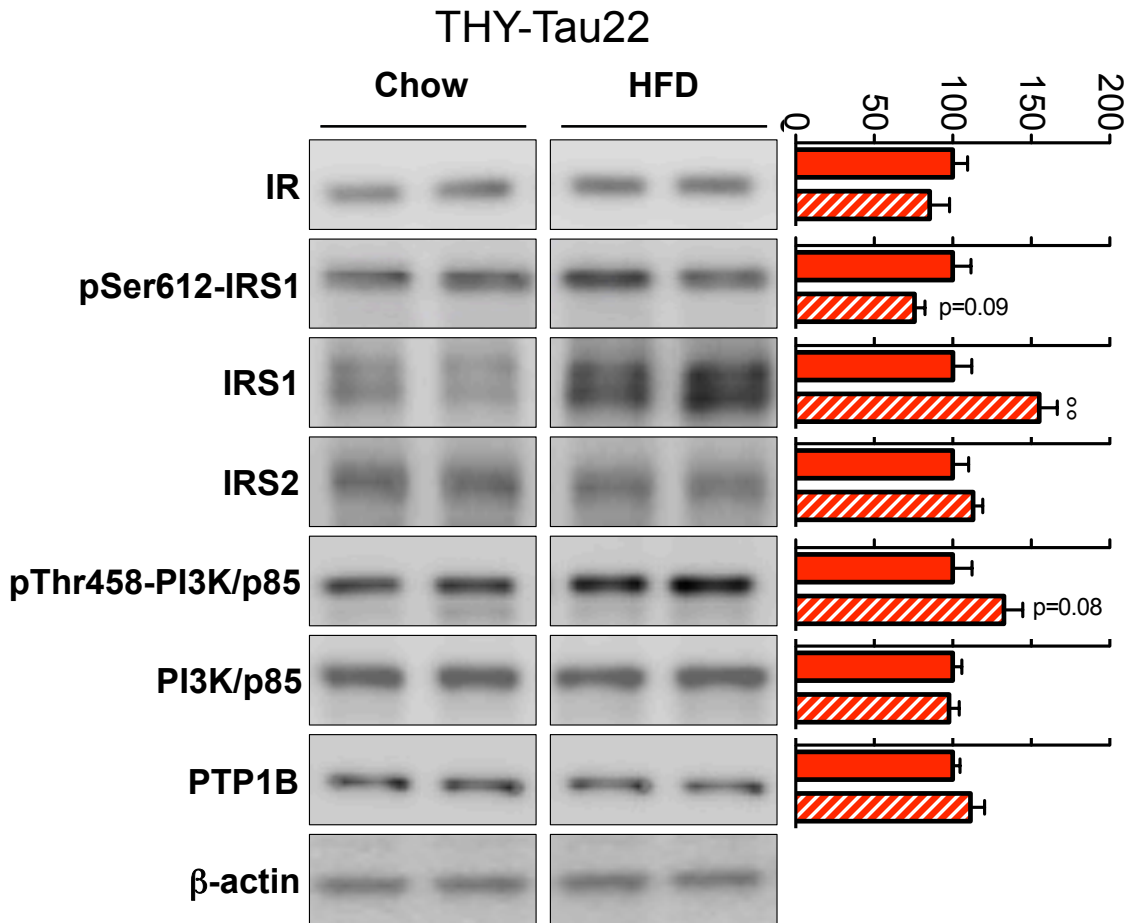


Figure 42. Activation de la voie de signalisation de l'insuline dans l'hippocampe des souris THY-Tau22 HFD. Une activation de la protéine adaptatrice IRS1, illustrée par la diminution de sa forme inactive (diminution de phosphorylation de son épitope pSer612 -quantification du phospho-épitope rapporté à la forme totale d'IRS1) et une activation de la sous unité PI3K-P85 (tendance à l'augmentation de sa phosphorylation activatrice Thr458, bien que non significative, $p=0,08$). Les phospho-épitopes ont été quantifiés en rapport à leur forme totale, et les formes totales en rapport à la β -actine. Les Résultats sont exprimés sous forme de pourcentages de moyennes \pm écart standard à la moyenne des animaux TC. ° $p<0,05$, °° $p<0,01$ vs. TC en utilisant le test T de Student ($n=6-7$ /groupe).

Profil d'expression des marqueurs du cholestérol

L'hypercholestérolémie est associée à un risque plus élevé de MA (Kivipelto *et al.*, 2001, 2002, 2005). Il a par ailleurs été mis en évidence qu'une hypercholestérolémie pouvait aggraver la pathologie Tau (Boimel *et al.*, 2009). Récemment, dans une étude sur la THY-Tau22 au sein de notre équipe ont été mises en évidence les conséquences protectrices de l'exercice physique sur la pathologie Tau et l'index de mémorisation

spatiale (Belarbi *et al.*, 2011). Ces effets bénéfiques se sont produits corrélativement à une surexpression des transporteurs lysosomiaux du cholestérol NPC1 et NPC2, dont les mutations causent des tauopathies (Klunemann *et al.*, 2002 ; Yu *et al.*, 2005). Dans ce contexte nous avons vérifié l'expression hippocampique en ARNm de ces marqueurs et également d'autres impliqués dans la synthèse et le transport du cholestérol cérébral. Aucun d'entre eux ne s'est montré modifié ni en regard du génotype, ni en regard du groupe expérimental (Figure 43).

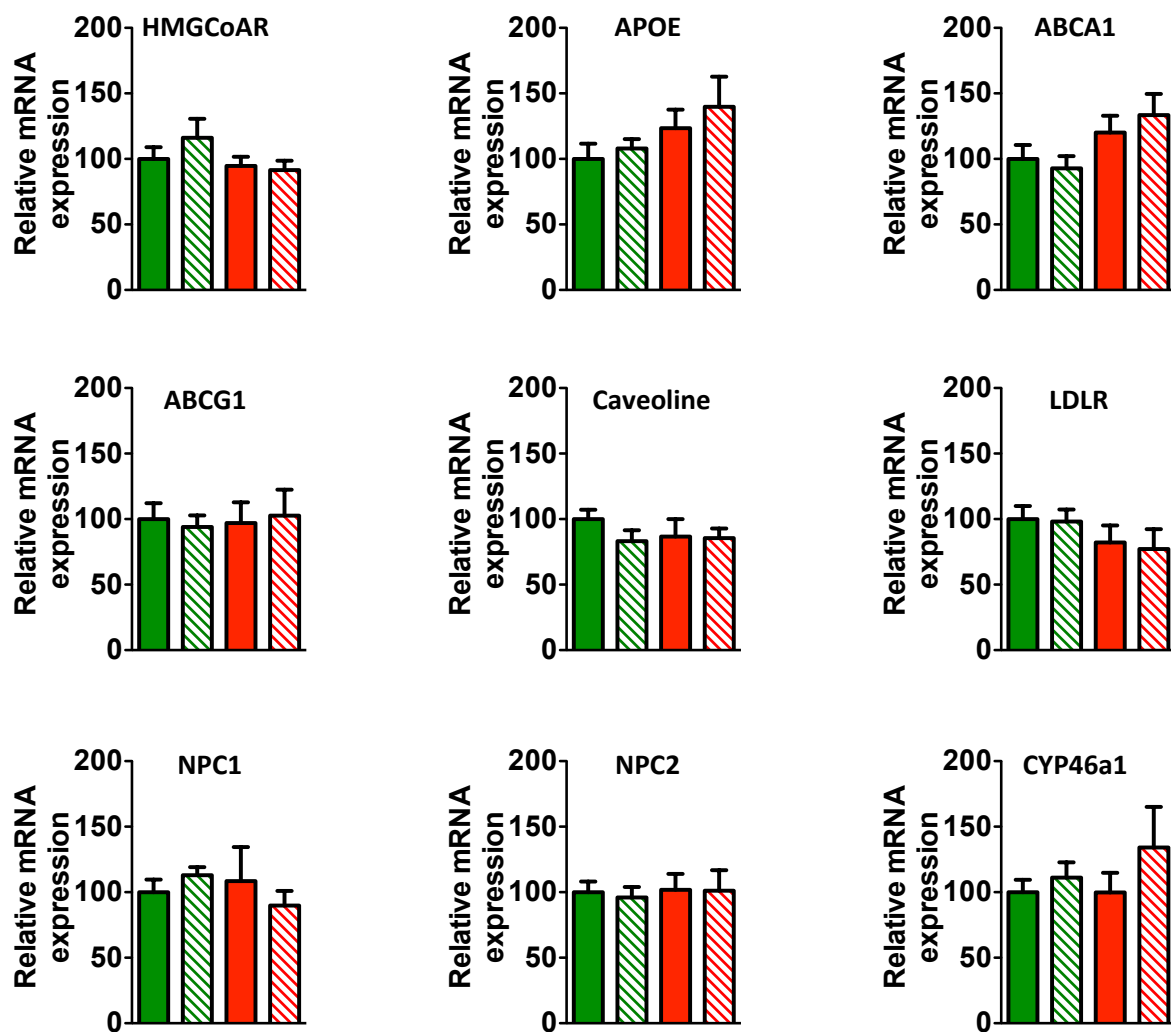


Figure 43. Expression en ARNm de marqueurs du transport (ABCA1, APOE, ABCG1, Caveoline, LDLR, NPC1, NPC2) et de la synthèse (HMGCoA-R, CYP46A1) du cholestérol inchangée dans ce paradigme nutrition.

DISCUSSION PARTIE 1 – IMPACT D'UN REGIME RICHE EN GRAISSE SUR LA PATHOLOGIE TAU DE LA MA

Dans un modèle de souris transgénique reproduisant la pathologie Tau de la maladie d'Alzheimer, nous montrons pour la première fois que le développement précoce d'une obésité induite par un régime aggrave à la fois l'apprentissage spatial et la phosphorylation de Tau à un âge plus avancé, et ce, indépendamment d'une insulino-résistance.

Alors que le régime HFD n'a eu d'effets ni sur la phosphorylation de la protéine Tau endogène murine chez les souris WT (Figure 37) ni sur leur apprentissage et mémoire spatiaux, l'obésité induite par régime (DIO) a potentialisé l'hyperphosphorylation de Tau et aggravé la perturbation de la mémoire pré-existante chez les THY-Tau22. Nous avons cependant mis en évidence une augmentation de l'expression de la protéine Tau murine chez les souris WT, à la fois au niveau transcriptionnel que traductionnel. Ce phénomène a déjà été mis en évidence dans un modèle de diabète génétique chez le rat, (Jung *et al.*, 2011) et une identification approfondie des isoformes impliqués devra être conduite afin d'appréhender son caractère pathogénique potentiel. Chez la THY-Tau22, alors que la nutrition HFD n'a pas amplifié l'agrégation de Tau (Figure 38), nous avons pu mettre en évidence une augmentation de la phosphorylation aux épitopes physiologiques pSer202/Thr205, pSer214 et pSer404 mais également à l'épitope pSer422 pathologique chez les THY-Tau22. Au vu du nombre de sites de phosphorylation potentiels existant sur Tau (>80; Sergeant *et al.*, 2008), et d'après le déplacement majeur des isovariants observé en électrophorèse bidimensionnelle (Figure 34), nous supposons que d'autres épitopes ont été phosphorylés dans l'hippocampe des souris THY-Tau22 nourries au HFD. L'hyperphosphorylation de Tau a été régulièrement associée à des altérations cognitives dans plusieurs démences et modèles transgéniques (Bierer *et al.*, 1995; Rosenmann *et al.*, 2008; Van der Jeugd *et al.*, 2011) mais également associée avec des perturbations de la mémoire spatiale dans divers modèles (LeFreche *et al.*, 2012 ; Polydoro *et al.*, 2009 ; Kimura *et al.*, 2007). Ceci suggère que les altérations cognitives sont dues à l'augmentation de la

phosphorylation sur des épitopes spécifiques. Dans notre modèle, nous n'avons pas observé de changements de l'état d'agrégation de Tau, comme l'atteste les ratios de fractions sarkosyl solubles et insolubles. Ceci est en accord avec les découvertes récentes de l'équipe de Karen Ashe qui indique que des altérations cognitives peuvent se produire en l'absence d'agrégation de tau (Santacruz *et al.*, 2005). Nous avons également exclu une possible intervention de mort cellulaire ou synaptique à notre modèle puisqu'aucun des marqueurs neuronaux ou synaptiques ne se sont montrés modifiés par le régime HFD.

Dans l'obésité, l'inflammation et le cholestérol peuvent jouer un rôle dans la phosphorylation de Tau ou dans les performances mnésiques. Chez l'homme, l'inflammation dans l'obésité augmente le risque de démence (Yaffe *et al.*, 2004). On sait qu'un régime HFD est capable d'induire de l'inflammation hippocampique et des troubles de la mémoire chez des souris (Pistell *et al.*, 2010 ; Jeon *et al.*, 2012). De plus, des études montrent qu'une inflammation centrale peut causer une hausse de la phosphorylation de Tau (Bhaskar *et al.*, 2010; Lee *et al.*, 2010). Cependant nos données excluent la participation de l'inflammation au phénotype pathologique de nos souris THY-Tau22 HFD. En effet, alors que nous avons pu confirmer la présence d'une inflammation hippocampique chez la souris THY-Tau22 en conditions de régime standard, comme précédemment observé dans le modèle (Belarbi *et al.*, 2011 ; Laurent *et al.*, 2011, 2013) celle-ci ne s'est pas vue aggravée par le HFD. De plus, la MAPK P38, kinase à l'interface de l'inflammation et de Tau (Hensley *et al.*, 1999) n'est pas activée dans notre étude. Enfin, l'analyse transcriptomique globale ne révèle pas de modifications en ce sens.

L'hyperlipidémie est un facteur de risque de démence chez l'homme (Kivipelto *et al.*, 2002, 2005). Les taux augmentés de cholestérol et TG observés chez les souris nourries au HFD pourraient ainsi participer aux effets délétères rencontrés. Un régime riche en cholestérol augmente la phosphorylation de Tau en pSer202/Thr205 chez un modèle de souris reproduisant la pathologie Tau de la MA (Glöckner *et al.*, 2011). De plus, les statines, médicaments utilisés pour réduire les taux de cholestérol, diminuent la quantité de DNF lorsqu'utilisés chez une souris mimant la pathologie Tau de type

MA (Boimel *et al.*, 2009). Il semblerait cependant que les taux de cholestérol nécessaires pour impacter la pathologie Tau soient, dans notre modèle, en deçà des quantités suffisantes (Glöckner *et al.*, 2011). Il en est de même pour les taux de triglycérides, seulement légèrement augmentés chez nos souris. Chez la souris THY-Tau22, l'exercice physique volontaire améliore la mémoire spatiale et réduit la phosphorylation de Tau (Belarbi *et al.*, 2011). Selon les auteurs de cette étude, l'amélioration serait consécutive à une augmentation de l'expression des transporteurs lysosomiaux du cholestérol, NPC1 et NPC2, dont les mutations mènent à la maladie de Niemann-Pick, qui est une tauopathie. Nous avons évalué le taux d'expression de ces deux transcrits et il n'est pas changé par le régime HFD (données non présentées ici).

L'obésité est caractérisée par une élévation des taux de leptine périphériques, mais aussi par une diminution du transport de la leptine vers le parenchyme et de son action centrale, signature de la leptinorésistance (Morley et Banks, 2010). Le récepteur à la leptine, Ob-Rb signale en aval via AMPK, kinase de Tau (Greco *et al.*, 2012), et des modèles de souris mutées pour ce récepteur (souris db/db, Bhumsoo *et al.*, 2009) présentent une hyperphosphorylation de Tau. Ainsi, puisque nos souris THY-Tau22 obèses présentent des niveaux élevés de leptine, nous avons contrôlé le niveau d'expression d'AMPK et son niveau d'activation. Ils n'ont pas été modifiés par le régime HFD (données non présentées ici), excluant la participation de la leptine au phénotype présent chez nos souris THY-Tau22 HFD.

La phosphorylation de Tau est sous le contrôle des phosphatases, essentiellement la PP2A (Torrent et Ferrer, 2012), et de nombreuses kinases (>30; Sergeant *et al.*, 2008 ; Hanger *et al.*, 2009 ; Martin *et al.*, 2011). Une augmentation de la phosphorylation, telle qu'observée dans notre étude, peut provenir d'une dérégulation de l'équilibre de l'action des kinases et phosphatases chez les souris TH. Nos données excluent un rôle des phosphatases PP2A, puisque leur activité, état de phosphorylation et niveau d'expression est resté stable chez les TH. Ceci est cependant compatible avec la notion qu'une inhibition de l'activité des phosphatases résulte plutôt en une augmentation généralisée sur bon nombre d'épitopes (Liu *et al.*, 2005) comme cela a été observé dans plusieurs études sur des rongeurs (Planel *et al.*, 2004, 2007 ; Papon *et al.*, 2012).

En fait, nous avons observé une hausse de l'activation de Akt et CaMKII chez les souris THY-Tau22 nourries au HFD comparé à leurs homologues CHOW. Des preuves indiquent qu'une phosphorylation de Tau en Ser214 peut être régulée par Akt (Kyoung Pyo *et al.*, 2004; Griffin *et al.*, 2005; Ksiezak-Reding *et al.* 2003, Figure 15, sites de phosphorylation), et que cette kinase activée est retrouvée associée à la présence de marquage AT8 (pSer202/Thr205) en respect avec le développement spatio-temporel de la DNF dans les cerveaux MA (Pei *et al.*, 2003). La phosphorylation de Akt et de sa cible GSK3 β Ser9 a été également observée lors d'un paradigme d'anesthésies répétées chez la souris ayant occasionné des déficits cognitifs (Le Freche *et al.*, 2012). D'autre part, une augmentation de l'activité de la CaMKII pourrait contribuer à l'hyperphosphorylation de Tau sur les résidus Ser202/Thr205, Ser214, Ser404 et Ser422 à travers des interactions directes ou en suivant des processus séquentiels d'activation et d'amorçage de la phosphorylation de Tau par d'autres kinases (Yoshimura *et al.*, 2003; Singh *et al.*, 2007; Wang *et al.*, 2007), sans requérir forcément de suractivation de ces dernières (Singh *et al.*, 2007).

L'inactivation de la kinase GSK3 β que nous observons dans notre modèle peut sembler contre-intuitive vis à vis de l'augmentation de phosphorylation sur plusieurs épitopes, y compris des cibles de cette dernière (Ser202/205, Ser214 et Ser404). Il faut noter, cependant, que plusieurs modèles expérimentaux de désordres métaboliques rapportent également une inactivation de la GSK3 β en parallèle d'une hyperphosphorylation de Tau (Planel *et al.*, 2007 ; Collino *et al.*, 2009 ; Killick *et al.*, 2009 ; Tong *et al.*, 2010 ; Papon *et al.*, 2012), réduisant ainsi l'importance de cette kinase dans ce type de paradigme.

La résistance périphérique à l'insuline est une condition capable de promouvoir la résistance à l'insuline dans le cerveau (Mielke *et al.*, 2005; Moroz *et al.*, 2008; Pratchayasakul *et al.*, 2011). Le concept selon lequel la résistance centrale à l'insuline provoque ou participe aux évènements pathophysiologiques sous-jacents à la MA est retrouvé abondamment dans la littérature (Talbot *et al.*, 2012, de la Monte, 2012). Par exemple, une hyperphosphorylation de Tau est retrouvée dans des modèles inactivés pour les éléments centraux de la voie de signalisation de l'insuline (Schubert *et al.*,

2003, 2004) ou dans le cerveau de rats traités à la STZ (Deng *et al.*, 2009). Curieusement, nos données indiquent, au contraire des souris WT, que les THY-Tau22 nourries au HFD ne développent pas d'insulino-résistance périphérique (comme l'atteste l'ITT) (les mécanismes sous-jacents à cette différence de réponse métabolique font l'objet de la seconde partie de ce travail de thèse). De façon intéressante, nos données indiquent que la signalisation à l'insuline est activée dans l'hippocampe des souris THY-Tau22 HFD comme l'atteste l'augmentation de phosphorylation des kinases Akt en Ser473, GSK3 β en Ser9 et PI3K-p85 en Thr458, épitopes qui ne bougent pas chez les souris WT nourries au HFD, et une diminution de la phosphorylation inactivatrice en Ser612 de la protéine adaptatrice IRS-1, signature de son activation.

En conclusion, ces données démontrent que l'obésité induite par un régime aggrave la pathologie Tau de façon indépendante d'une insulino-résistance périphérique et centrale. Ceci est en opposition avec les données actuelles de la littérature, qui associent insulino-résistance centrale, promue par exemple par une délétion du récepteur à l'insuline (Schubert *et al.*, 2004) ou de sa protéine adaptatrice IRS2 (Schubert *et al.*, 2003) ou bien par injection de STZ intra-cérébroventriculaire (Deng *et al.*, 2009), avec l'hyperphosphorylation de Tau. Cependant, alors que ces modèles reproduisent un état insulino-résistant du cerveau retrouvé chez les patients atteints de MA (Talbot *et al.*, 2012; de la Monte, 2012), aucun ne présente un profil homogène d'hyperphosphorylation de Tau et de déséquilibre des kinases et phosphatases (Schubert *et al.*, 2004; Deng *et al.*, 2009; Schubert *et al.*, 2003; Killick *et al.*, 2009), et aucun d'entre eux ne reproduit le profil de Tau et de kinases observé chez la souris THY-Tau22 nourrie par le HFD. En conclusion, cette première partie de mon travail de thèse soutient que le développement précoce d'une obésité induite par un régime riche en graisse accentue à un âge avancé la pathologie Tau et les altérations de mémoire associées. Une telle détérioration apparaît dissociée d'une insulino-résistance.

RESULTATS PARTIE II – ETUDE DE L'INFLUENCE DE TAU SUR LE METABOLISME

Ainsi démontré dans la première partie de ce travail, au contraire des souris WT, une obésité induite par un régime HFD aggrave la pathologie Tau de la MA dans le modèle de souris THY-Tau22, et ce, indépendamment du développement d'une insulino-résistance périphérique et centrale. Curieusement, chez les souris WT, le régime HFD a, au contraire induit une résistance périphérique à l'insuline. Au cours de la caractérisation métabolique des souris WT et Tau, à 2 et à 7 mois nous avons pu constater l'existence de plusieurs différences de métabolisme basal ou soumis à un régime HFD. Tout d'abord, nous avons constaté, à l'âge de 2 mois, que les souris THY-Tau22 présentent un poids corporel inférieur à celui des souris WT, différence qui s'accroît jusqu'à l'âge de 7 mois (Figure 29.). Soumis au régime HFD, ces différences continuent d'exister. Nous avons également pu observer, sous régime HFD, une hyperglycémie et une hyperinsulinémie moins prononcées que chez les WT, et par connexion, un HOMA-IR inférieur (Figure 31.), suggérant que le métabolisme de la souris THY-Tau22 soit davantage prompt à encaisser les conséquences métaboliques d'une obésité. Nous avons ainsi entrepris dans un premier temps, de caractériser de façon plus approfondie le phénotype métabolique des souris THY-Tau22 en le mesurant aux souris WT, et ce, au cours d'un suivi longitudinal de 0 à 9 mois en conditions de régime standard, pour ce qui est de la mesure de leur prise alimentaire et poids corporel, et d'un suivi à 2 âges, à 7 et à 9-10 mois pour ce qui est des autres paramètres métaboliques étudiés. Dans un second temps, nous avons cherché à contrôler le phénotype de la souris KO-Tau, afin de le confronter à celui de la souris THY-Tau22.

Avant propos : tout au long de ces résultats les souris WT sont systématiquement représentées en vert, les THY-Tau22 en rouge, les hétérozygotes knock-out en jaune et les homozygotes knock-out de Tau en violet. La légende ne sera mentionnée qu'une fois pour éviter d'alourdir les figures. Les statistiques de suivis en fonction du temps sont faites en ANOVA two-way, celles d'histogrammes contenant 3

groupes ou plus sont réalisées en utilisant l'ANOVA one-way. Lorsque mentionnées significatives, ces analyses reflètent des différences globales entre les génotypes, et non des comparaisons deux à deux. Dans les résultats qui sont présentés ici, les analyses en ANOVA two-way sont toujours significatives au regard du paramètre temps, raison pour laquelle les valeurs de p indiquées représentent toujours les différences entre génotypes. Lorsque 2 groupes seulement sont comparés les analyses sont faites grâce au test T de Student.

Les souris THY-Tau22 prennent moins de poids que leurs contrôles de portées WT.

Un suivi longitudinal du poids et de la prise alimentaire a été réalisé chez des souris mâles THY-Tau22 (T ; n=12 par groupe) et leurs contrôles de portées wild-type (W ; n=12 par groupe) de l'âge de 8 jours jusqu'à l'âge de 9 mois, sous régime standard, CHOW. Ces souris sont issues de portées normalisées à la naissance. Ainsi, chaque femelle s'est vue attribuer 3 souris WT et 3 souris Tau, afin de prévenir d'éventuelles différences liées à la nutrition périnatale. Le sevrage et le sexage a été réalisé à l'âge de 3 semaines où les souris ont été regroupées par cages de 3 de génotypes identiques. Seuls les résultats chez les mâles sont représentés ici. Les premières pesées, réalisées de l'âge de 8 jours jusqu'à l'âge de 42 jours indiquent un poids similaire (à P8, WT : 3,7±0,2g, Tau : 3,6±0,2g ; à P42, WT : 17,7±0,5g, Tau : 17,1±0,3g, ns, Test T de Student). En revanche, à P60, c'est à dire à l'âge de 2 mois, une différence significative commence à s'installer (WT : 21,3 ±0,4 g, Tau : 20,3±0,3 g ; p=0,032, Test T de Student), et perdure pendant toute la durée du suivi (p<0,0001, en utilisant l'ANOVA two-way) (Figure 44) confirmant les résultats obtenus dans la première partie de ce travail. Ceci a lieu sans modification de la dimension ou de la température corporelles des souris (Figure 44, taille du corps, de la queue, mesures de températures statistiquement identiques.) Entre l'âge de 3 mois et de 9 mois, un suivi de la prise alimentaire a été réalisé. Chaque cage constitue une unité métabolique (de ce fait, n=4 par groupe pour les données incluant des mesures de prise alimentaire). Pendant la durée du suivi, les souris THY-Tau22 mangent significativement moins en terme de quantité de croquettes que les souris WT (Figure 44.) avec une consommation journalière moyenne de 3,6±0,04 g et 4±0,05 g, respectivement. D'autres mesures de ces paramètres ont été réalisées dans plusieurs lots de souris THY-Tau22 issus de l'élevage local, et ces caractéristiques ont toujours été observées. La quantification de

la quantité de prise de lait maternel chez le souriceau requiert des techniques assez lourdes basées sur l'injection d'eau tritiée aux mères. Ces mesures n'ont pas été réalisées, cependant dès l'âge de 2 mois la prise alimentaire est déjà significativement réduite (données non présentées ici) et le timing de l'initiation de cette différence n'est pas connu. En revanche le ratio de prise alimentaire relative au poids corporel est identique sur la durée totale du suivi ($0,33\pm 0,05$ et $0,34\pm 0,05$ kilocalories par gramme de poids corporel, données non présentées ici). Il paraît difficile de diagnostiquer si la prise alimentaire réduite est le fruit d'un poids corporel inférieur ou si celle-ci en est la cause.

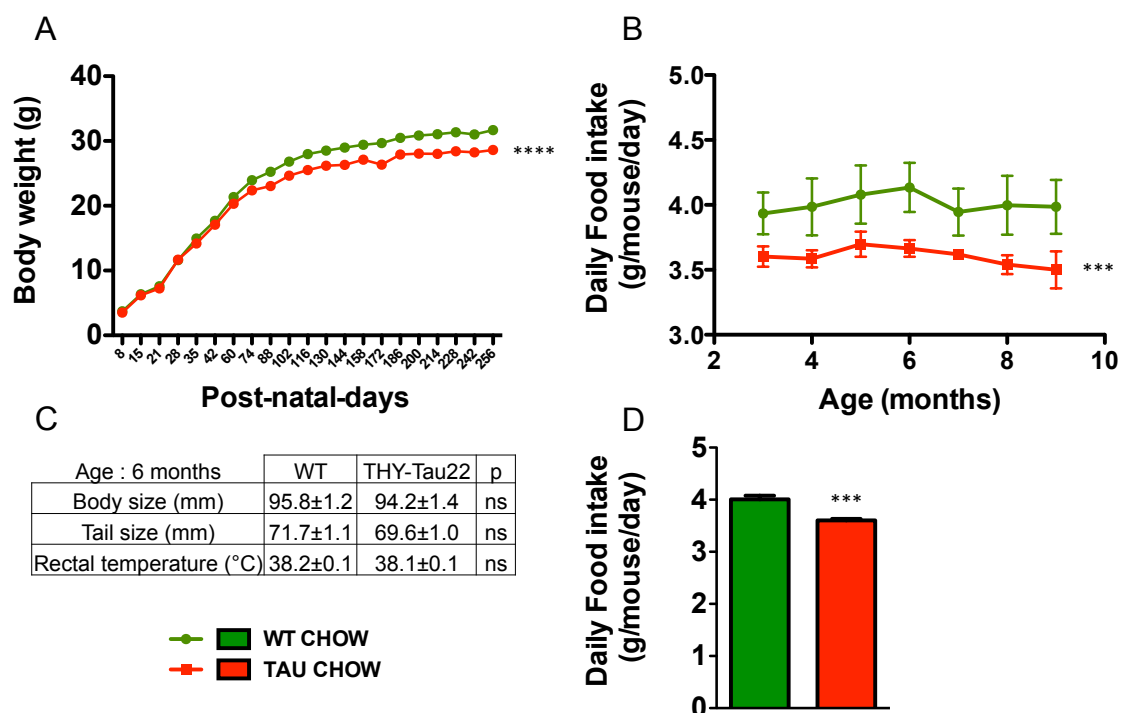


Figure 44. Les souris THY-Tau22 développent avec l'âge un poids inférieur aux souris WT (A) et présentent une prise alimentaire réduite mais proportionnelle à leur poids réduit (B, D) sans modifications des mesures des dimensions du corps (C). Suivi longitudinal du poids corporel (A) ainsi que de la prise alimentaire (B : suivi, D : moyenne sur l'ensemble du protocole) de la souris THY-Tau22 jusqu'à l'âge de 9 mois. A et B : **** : $p < 0,0001$, *** : $p < 0,001$, ANOVA-two way ; D : *** : $p < 0,001$ Test T de Student.

Les mesures directes et indirectes de l'adiposité des souris à l'âge de 7 et 9 mois indiquent un phénotype maigre chez les THY-Tau22 comparé aux WT.

Nous avons ensuite évalué, au sacrifice, la teneur en tissus adipeux de nos souris afin de déterminer si les différences de poids corporel proviennent d'un phénotype maigre. Les tissus adipeux viscéraux et sous-cutanés ont été pesés au cours des sacrifices de souris de 7 et de 9 mois et rapportés au poids corporel de la souris. Alors qu'à l'âge de 7 mois, ni les ratios de tissus adipeux sous-cutané et viscéral ne sont différents entre les WT et les THY-Tau22, nos données indiquent qu'à 9 mois, le ratio de poids relatif de tissus adipeux viscéraux (épididymal) est inférieur chez la THY-Tau22 comparé à la souris WT (1,86±0,06 et 2,75±0,42 g/100g, $p < 0,05$ en utilisant le Test T de Student). Le dosage de la leptine circulante suit les données issues des tissus adipeux, puisqu'à 7 mois, aucune différence de leptinémie n'est notée chez nos souris. En revanche, à l'âge de 9 mois les souris THY-Tau22 présentent une leptinémie inférieure, même si non significative ($p = 0,0509$ en utilisant le test T de Student) (Figure 45.).

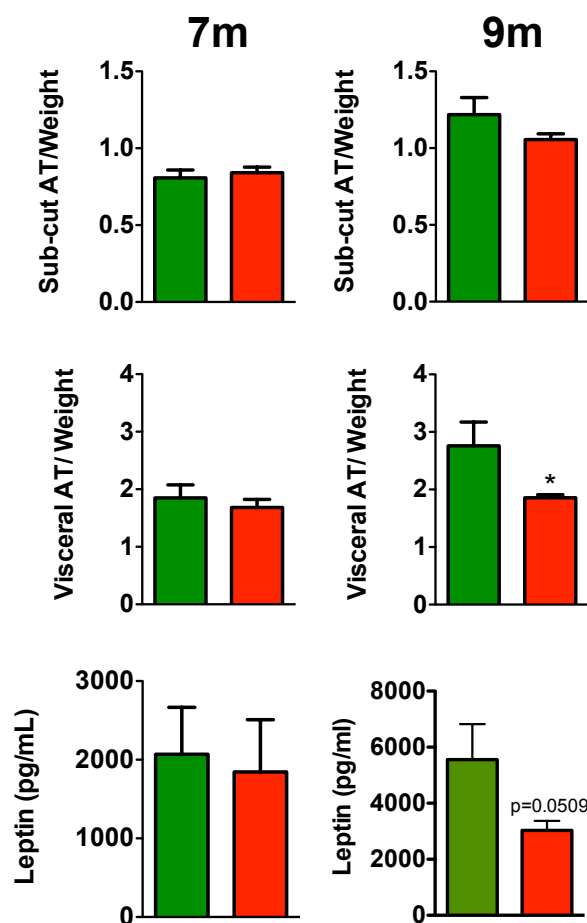


Figure 45. Mesures directes (ratios de tissus) et indirectes (mesures de leptine) de l'adiposité des souris THY-Tau22 et WT. Poids des tissus adipeux sous-cutané

(graphes du haut) et viscéral (milieu) rapportés au poids corporel des souris. Valeurs exprimées en moyennes de grammes de tissus / 100 grammes de poids corporel +/- l'écart standard à la moyenne. Les dosages de Leptine rapportent, à 9 mois, une tendance non significative à la baisse chez les THY-Tau22. (: $p < 0,05$, Test T de Student, $n=7$ à 11 / groupe).*

Evolution de la lipidémie chez la souris THY-Tau22.

Des mesures de quantité de lipides ont réalisés chez les souris de 7 et 9 mois, et indiquent, de façon similaire aux mesures d'adiposité, une magnification des différences avec l'âge. Tandis qu'à 7 mois, seul le cholestérol total est significativement réduit, à 9 mois, les TG, cholestérol total, HDL et non-HDL sont significativement plus faibles chez les THY-Tau22 par rapport aux WT (* : $p < 0,05$, *** : $p < 0,001$, test T de Student) (Figure 46).

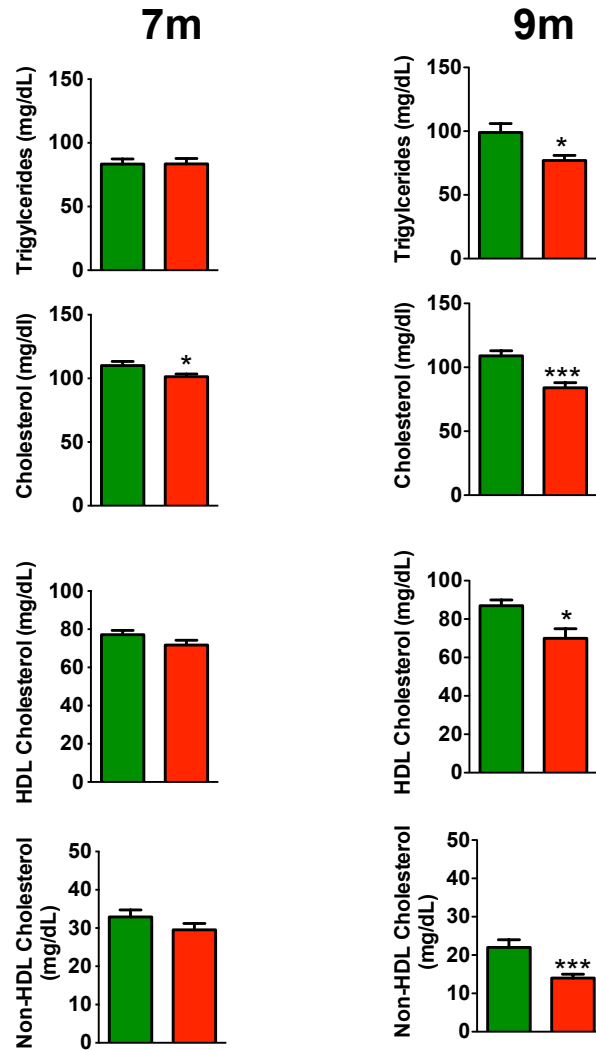


Figure 46. Profil lipidique des souris THY-Tau22 à 7 et 9 mois. A l'instar du profil d'adiposité, les différences de quantités circulantes de lipides chez les souris THY-Tau22 reproduisent un profil similaire. A l'âge de 7 mois seul le cholestérol total est montré significativement réduit, alors qu'à 9 mois nous observons une réduction de la quantité de TG, Cholestérol total, HDL et non-HDL. Résultats exprimés sous forme de moyennes +/- écart standard à la moyenne. * : $p < 0,05$, *** : $p < 0,001$, test T de Student.

Expression transcriptionnelle des peptides hypothalamiques chez la THY-Tau22.

L'identification des mécanismes menant à ces différences basales est rendue difficile par le fait qu'un grand nombre d'acteurs cellulaires et moléculaires participent à la régulation de la prise alimentaire et du poids corporel (Rankinen *et al.*, 2006 ; Stanley *et al.*, 2005). Une hypothèse que nous avons formulée serait que ces différences proviennent d'une dérégulation des transcrits des peptides orexigènes et anorexigènes

de l'hypothalamus. Lors du sacrifice de nos souris, nous avons prélevé l'hypothalamus entier, duquel nous avons extrait les ARNm dans le but de réaliser des analyses transcriptomiques par qPCR. Nous avons porté notre choix sur un panel de médiateurs impliqués dans les mécanismes canoniques de la régulation de la prise alimentaire par l'hypothalamus. Ainsi avons nous regardé l'expression des peptides orexigènes (stimulant l'appétit) NPY et anorexigènes (suppresseur d'appétit) POMC et CART. Nous avons également contrôlé l'expression des récepteurs MC3R et MC4R, qui interviennent dans le contrôle de l'homéostasie énergétique chez les rongeurs (Yeo *et al.*, 2000) et dont les mutations causent une forme d'obésité monogénique chez l'homme (Farooqi et O'Rahilly). Aucun transcrit ne s'est trouvé significativement différent entre les WT et les THY-Tau22 à 9 mois. Nous avons également contrôlé l'expression de ces marqueurs à l'âge de 7 mois, et de façon identique, aucun marqueur ne s'est montré exprimé différemment (données non présentées ici). En complément, nous avons vérifié l'état de l'expression de la protéine Tau humaine (le transgène) dans l'hypothalamus en le comparant à celle rencontrée dans l'hippocampe. L'ARNm de Tau n'y est représenté à qu'à hauteur de 1% de celle hippocampique (Figure 47.).

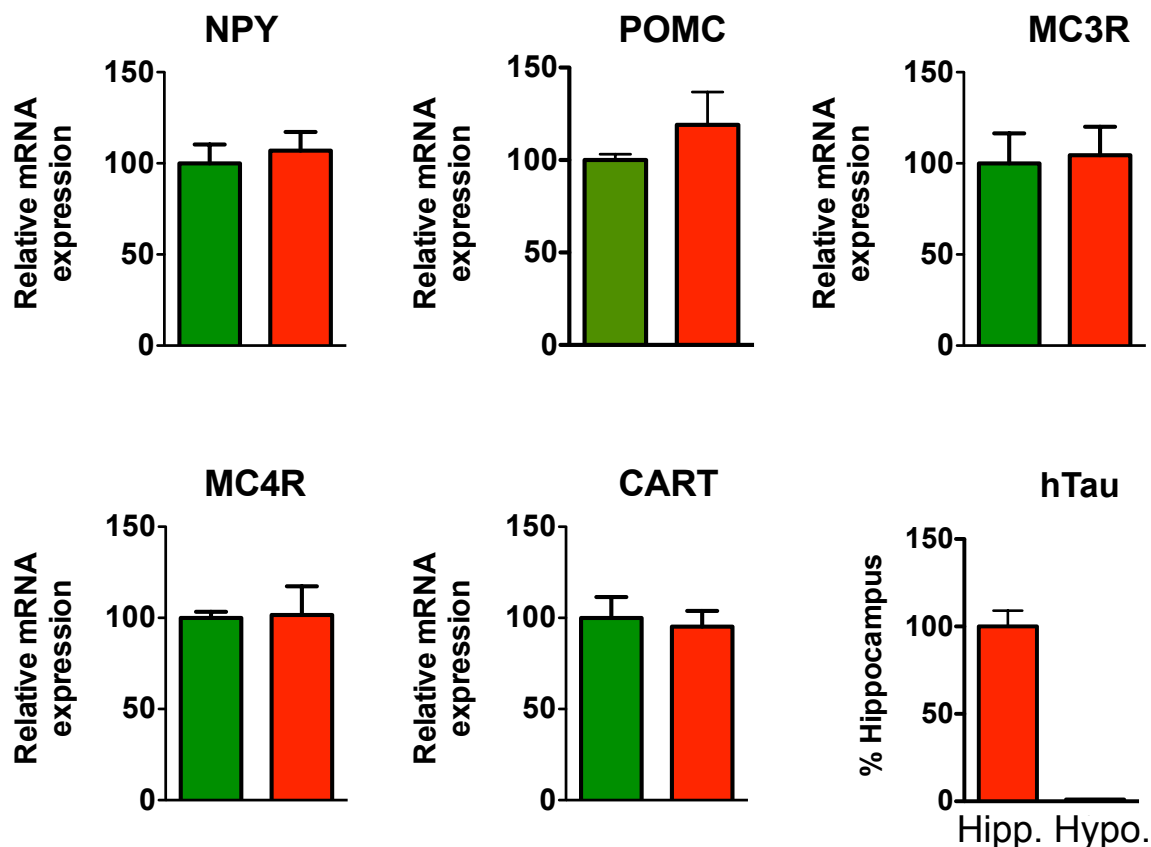


Figure 47. Profil d'expression à 9 mois de transcrits impliqués dans la régulation de la prise alimentaire (NPY, peptide orexigène ; POMC et CART, peptides anorexigènes) et dans la régulation de l'homéostasie énergétique (MC3R et MC4R) dans l'hypothalamus des souris THY-Tau22 comparé aux souris WT. L'expression du transgène de Tau humain muté a également été mesuré et comparé à l'intensité d'expression de Tau dans l'hippocampe de souris THY-Tau22 uniquement. Le transgène est très faiblement exprimé dans l'hypothalamus des souris Tau.

Caractérisation de l'homéostasie glucidique des souris THY-Tau22 et leurs contrôles WT.

Lors de la première partie de ce travail nous avons mis en évidence, sous épreuve HFD, une moins grande insulino-résistance des souris THY-Tau22. Nous avons émis l'hypothèse que le modèle Tau pourrait présenter des différences au niveau du métabolisme glucidique. La glycémie est la même chez les 2 génotypes aux deux âges, et, alors qu'à 7 mois l'insulinémie est la même chez les Tau et les WT, elle apparaît réduite chez les Tau, même si cette baisse n'est pas significative ($p=0,08$, Test T de Student). De même, l'index de résistance à l'insuline HOMA-IR s'est révélé diminué,

mais non significativement ($p=0,16$ à 7 mois, $p=0,1$ à 9 mois, Test T de Student) (Figure 48.)

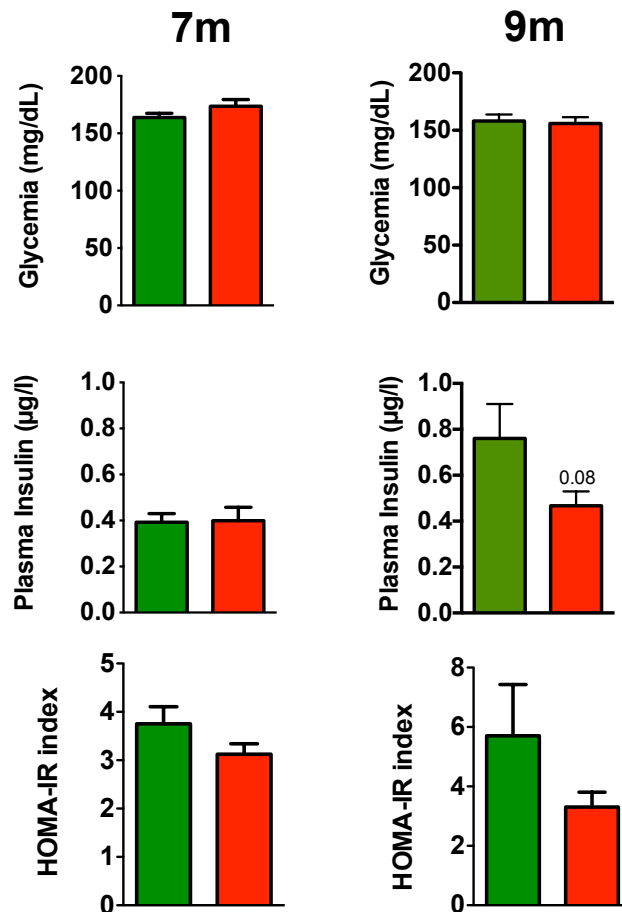


Figure 48. Mesures basales de l'homéostasie glucidique à jeun de 6 heures des souris THY-Tau22 comparées à celles de leurs contrôles de portées WT, à l'âge de 7 et 9 mois. Quand la glycémie des souris Tau demeure similaire à celle des WT, l'insulinémie est observée à la baisse à l'âge de 9 mois ($p=0,08$ en utilisant le test T de Student, tendance non significative). L'index HOMA-IR est également réduit, mais de façon non-significative.

Ces données indiquent l'existence potentielle d'une insulino-sensibilité, cependant celle-ci peine à être mise en évidence avec ces simples mesures de glycémie et d'insulinémie. Afin de magnifier une éventuelle différence dans la régulation de cette homéostasie nous avons soumis nos souris à des tests de tolérance au glucose et à l'insuline. Ces tests permettent d'évaluer la capacité du système à répondre à ces deux stimuli (Figure 49.).

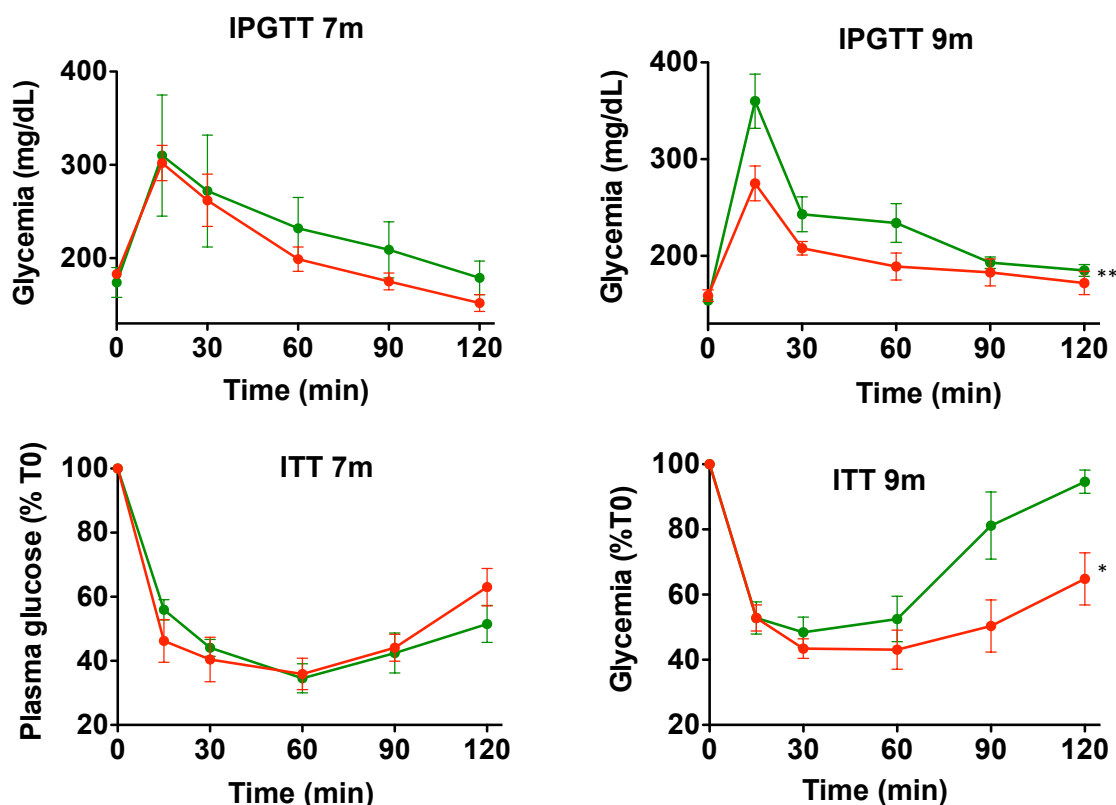


Figure 49. Evaluation de la tolérance au glucose (IPGTT, en haut) et à l'insuline (ITT, en bas) chez les souris THY-Tau22 (en rouge) comparé aux souris WT (en vert), à l'âge de 7 mois (à gauche) et 9 mois (à droite). A 7 mois, les souris THY-Tau22 ne présentent pas de modification de la sensibilité à l'insuline alors que la tolérance au glucose est légèrement inférieure (tendance non significative : $p=0,058$, ANOVA two-way). Cependant, à 9 mois les THY-Tau22 présentent une meilleure tolérance au glucose, et d'autre part une meilleure sensibilité à l'insuline. Les valeurs sont exprimées sous la forme de moyennes +/- écart standard à la moyenne. * : $p<0,05$; ** : $p<0,01$, en utilisant l'ANOVA two-way.

Nous mettons en évidence que les souris THY-Tau22 de 7 mois présentent des signes discrets d'une possible sensibilité accrue à l'insuline et une meilleure tolérance au glucose, mais à l'âge de 9 mois les différences prennent plus d'ampleur puisque les THY-Tau22 présentent une réduction de la réponse au glucose (Figure 49) (** : $p<0,01$, en utilisant l'ANOVA two-way) et une augmentation de la réponse à l'insuline (* : $p<0,05$, ANOVA two-way), comme l'atteste une plus forte et plus longue hypoglycémie induite par l'injection d'insuline. Deux heures après l'injection d'insuline, alors que les souris WT ont retrouvé leur glycémie initiale, les souris THY-

Tau22 n'ont récupéré que 60% de leur glycémie initiale, suggérant une forte insulinosensibilité de ces souris à l'âge de 9-10 mois.

Meilleure sensibilité centrale à l'insuline des souris THY-Tau22 de 7 mois

Lors de la première partie nous avons noté chez les souris THY-Tau22 nourries au HFD la présence d'une activation de la voie de signalisation de l'insuline centrale, avec augmentation des formes phosphorylées d'Akt, de PI3K, de GSK3beta et diminution de la phosphorylation de l'épitope inhibiteur Ser612 de IRS1 contrairement aux souris WT HFD. Nous avons donc évalué le profil par immuno-empreinte de ces marqueurs dans l'hippocampe de souris THY-Tau22, en les confrontant cette fois aux souris WT (Figure 50.). Les résultats indiquent une augmentation de l'expression des formes totales d'IRS1 et 2. L'expression de ces marqueurs ainsi que celle du récepteur à l'insuline ont également été contrôlés par analyses en qPCR et ne montrent pas de différences à ce niveau (données non-présentées ici).

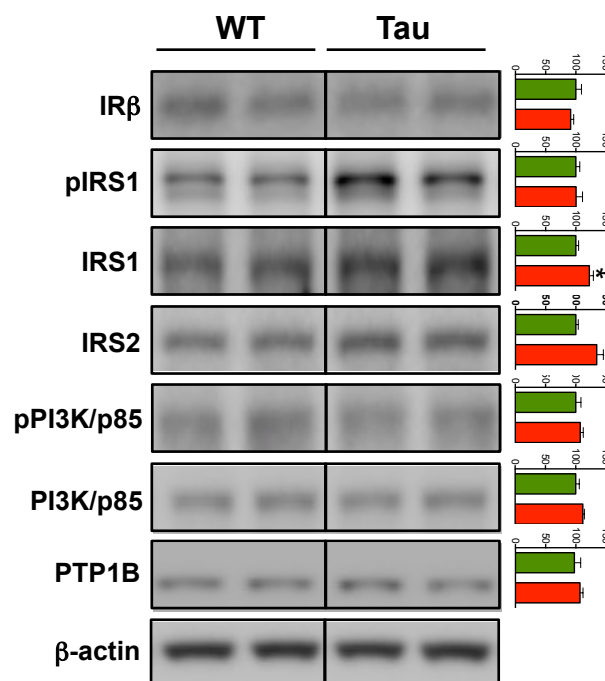


Figure 50. Signalisation de l'insuline dans l'hippocampe des souris THY-Tau22 de 7 mois comparée aux souris WT. Les formes totales des protéines IRS1 et IRS2 sont davantage exprimées chez les THY-Tau22. Les phospho-épitoques ont été quantifiés en rapport à leur forme totale, et les formes totales en rapport à la Beta actine. Les

*Résultats sont exprimés sous forme de pourcentages de moyennes \pm écart standard à la moyenne des animaux TC. * $p < 0.05$ en utilisant le test T de Student ($n=6-7$ /groupe).*

De plus, à l'âge de 9 mois cette fois-ci, l'épitope phosphorylé en Ser612 de l'IRS1 s'est révélé augmenté significativement chez la THY-Tau22 par rapport à la souris WT (données non présentée ici : $100 \pm 4,2 \%$ vs. $75,11 \pm 3,25 \%$, $p < 0,01$ en utilisant le test T de Student). Suggérant que la souris THY-Tau22 présente une sensibilité non-seulement périphérique à l'insuline mais également une meilleure sensibilité centrale.

Les résultats présentés ci-dessus nous indiquent l'existence d'un phénotype métabolique chez la souris THY-Tau22, avec des différences qui s'accroissent au cours du vieillissement. Une critique potentielle pourrait être faite de ce travail. Le modèle de souris THY-Tau22 est en effet le résultat de l'insertion d'une dizaine de copies du gène Tau humain muté (Schindowski *et al.*, 2006). L'insertion de ces copies a été réalisée au hasard dans un chromosome de la souris et il n'est donc pas impossible que les différences que nous observons puissent être liées à un artefact, et ne provenant donc pas d'une caractéristique spécifique liée à Tau ou à sa pathologie. Afin d'éviter ce type de critique nous avons cherché à reproduire une observation métabolique dans un autre modèle murin. Au sein du laboratoire nous possédons une autre lignée de souris reproduisant la pathologie Tau de la MA. Il s'agit de la lignée THY-Tau30 qui surexprime le même transgène que la THY-Tau22. Cette lignée présente, tout comme bon nombre de modèles reproduisant la pathologie Tau de la MA, une pathologie Tau dans la moëlle épinière et donc peine à se mouvoir, pouvant perturber la capacité de prise alimentaire. Au contraire de reproduire ces expériences dans un modèle de souris Tau, nous avons choisi de le faire chez un modèle de souris Knock-out pour Tau (KO), afin de caractériser les conséquences de l'absence de Tau dans ces paradigmes. Nous avons également utilisé les souris hétérozygotes (hétéro-ko), c'est à dire possédant 1 seule copie de la protéine Tau murine.

Evolution du poids et de la prise alimentaire des souris KO-Tau, hétéro-ko et de leurs contrôles de portée WT de 1,5 à 6,5 mois.

Un suivi longitudinal du poids et de la prise alimentaire sous régime CHOW a été réalisé chez des souris males KO-Tau (KO ; n=4 par groupe), des souris hétéro-ko (hétéro-ko ; n=9 par groupe) et leurs contrôles de portée wild-type (WT ; n=6 par groupe) de l'âge de 5,5 semaines jusqu'à l'âge de 6,5 mois, sous régime standard, CHOW. Les premières pesées, réalisées de l'âge de 5,5 semaines indiquent un poids similaire (à P38, WT : 19,48 +/- 0,65 g, hétéro-ko : 19,05 +/- 0,51 g, KO : 19,24 +/- 0,56 g ; ns, Test T de Student). En revanche une différence s'installe pendant toute la durée du suivi ($p < 0,001$, en utilisant l'ANOVA two-way) (Figure 51.), si bien qu'à l'âge de 6,5 mois, des différences importantes existent (WT 27,77 +/- 0,83 g, Hétéro : 29,81 +/- 0,79 g, KO : 31,56 +/- 0,75 g; $p = 0,0296$, ANOVA one-way), Ceci a lieu sans modification de la dimension ou de la température corporelles des souris (Figure 51.), éléments pouvant éventuellement expliquer les différences observées. Entre l'âge de 2 mois et de 6,5 mois, un suivi de la prise alimentaire a été réalisé. Chaque cage constitue une unité métabolique (de ce fait, n=2 à 3 par groupe). Pendant la durée du suivi, les souris KO mangent significativement plus en terme de quantité de croquettes que les souris hétéro-ko, et elles-mêmes plus que les WT ($p < 0,001$ pendant le suivi, ANOVA two-way, Figure 51.) avec une consommation journalière moyenne de 3,38 +/- 0,1 g, 3,7 +/- 0,05 g et 3,93 +/- 0,05 respectivement (Figure 51.) ($p < 0,001$ en utilisant l'ANOVA one-way).

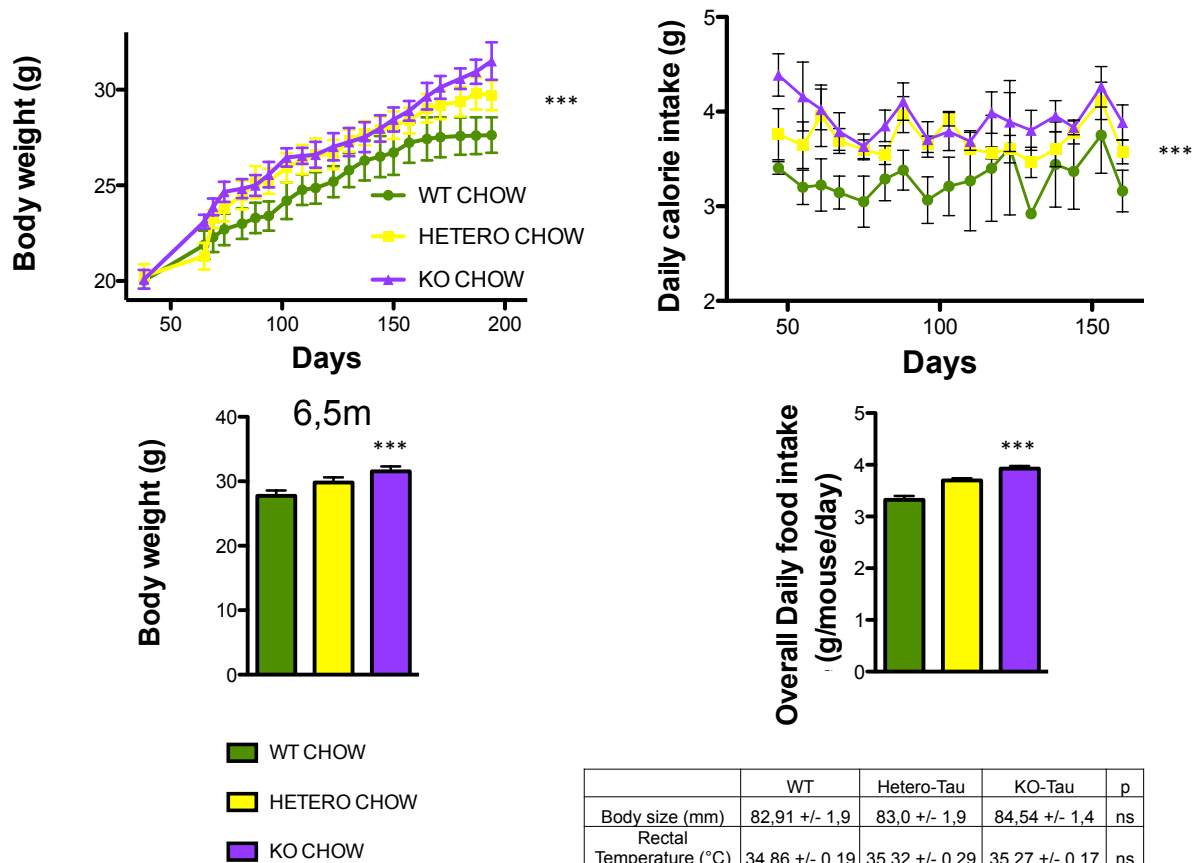


Figure 51. La délétion d'une ou de deux copies de Tau a un effet sur le poids corporel et la prise alimentaire. Les souris KO-Tau et les hétéro-ko développent avec l'âge un poids corporel supérieur aux souris WT et présentent une hyperphagie sans modifications des mesures des dimensions du corps ni de leur température. Les valeurs sont exprimées sous la forme de moyennes +/- écart standard à la moyenne. Pour les suivis : *** : $p < 0,001$, ANOVA two-way ; pour les histogrammes : *** : $p < 0,001$ ANOVA one-way.

Mesures directes et indirectes de l'adiposité des souris KO, hétéro-ko et WT, à l'âge de 6,5 mois.

Nous avons effectué, de façon similaire au protocole sur les souris THY-Tau22 l'évaluation de l'adiposité des souris WT, hétéro-ko et KO (Figure 52). De façon logique, les ratios de tissus adipeux se sont montrés fortement augmentés chez les souris KO comparé aux souris WT et hétéro (** $p < 0,01$ et *** $p < 0,001$ en ANOVA one-way). Les souris KO, et dans une moindre mesure les hétéro-ko présentent une hyperleptinémie supérieure à celle des souris WT (*** $p < 0,001$ en ANOVA one-way).

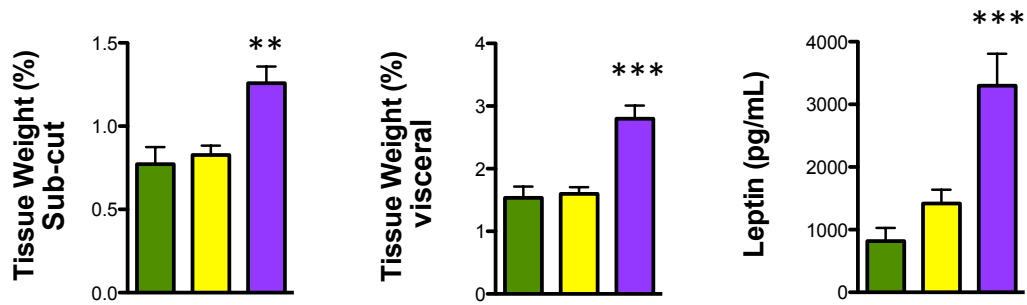


Figure 52. L'adiposité des souris KO à 6,5 mois est bien supérieure à celle des hétéro et des WT. Les mesures de ratio de tissus adipeux n'indiquent, cependant, pas de différence notable entre les WT et les hétéro-ko. La leptinémie est très augmentée chez les souris KO comparé aux hétéro-ko, elle-même supérieure à celle des souris WT. Les valeurs sont exprimées sous la forme de moyennes +/- écart standard à la moyenne. ** $p < 0,01$ et *** $p < 0,001$ en ANOVA one-way.

Caractérisation du profil lipidique des souris KO, hétéro-ko et WT.

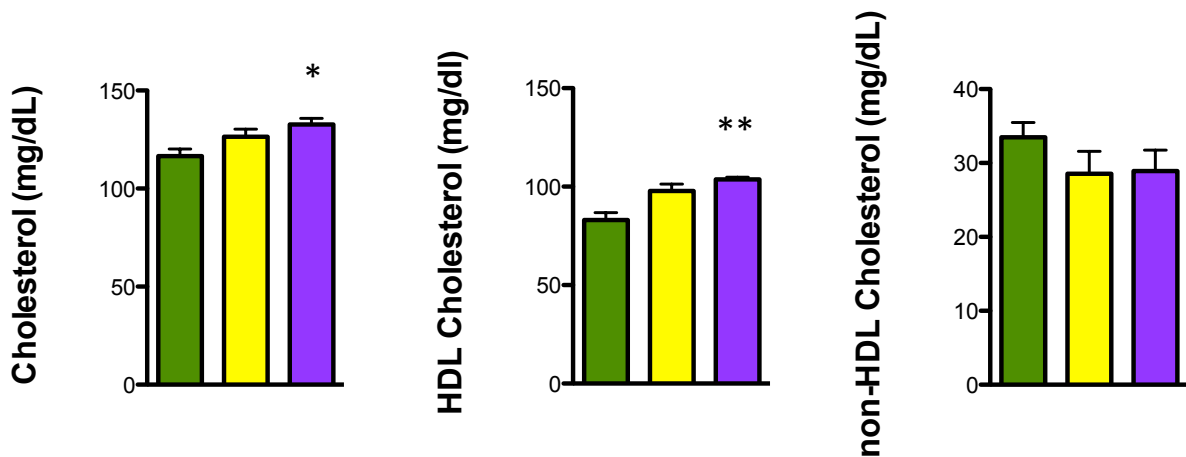


Figure 53. Concentrations plasmatiques de cholestérol des souris KO, hétéro-ko et WT. Les taux de cholestérol et d'HDL cholestérol sont significativement augmentés par la délétion d'une ou de deux copies du gène tau murin. Les valeurs sont exprimées sous la forme de moyennes +/- écart standard à la moyenne. * $p < 0,05$ et ** $p < 0,01$ en ANOVA one-way.

Alors que l'adiposité semblait peu modifiée chez les souris hétéro-ko, nous observons des taux de cholestérol et de cholestérol HDL significativement augmentés chez les hétéro-ko et chez les KO comparés aux WT (*: $p < 0,05$, ** : $p < 0,01$ en utilisant l'ANOVA one-way). En revanche les taux de cholestérol non HDL se sont révélés inchangés (Figure 53.). Ces dernières valeurs étant obtenues en effectuant une simple soustraction entre cholestérol total et HDL cholestérol on comprend l'absence de

différences. Une éventuelle différence pourrait être obtenue en analysant davantage d'animaux.

Caractérisation de l'homéostasie glucidique des souris KO, hétéro-ko et WT.

Ensuite, de façon similaire au protocole THY-Tau22 nous avons évalué, à 2, 4 et 6,5 mois au cours du suivi, les concentrations plasmatiques en glucose, insuline et l'index HOMA-IR chez les souris KO, hétéro-ko et WT (Figure 54.). Là encore nous observons une évolution de ces paramètres au cours du temps, et plus précisément, dès 4 mois la glycémie des souris KO est significativement supérieure à celle des autres génotypes ($p < 0,05$, en utilisant l'ANOVA one-way), l'insulinémie, bien qu'augmentée ne l'est pas significativement à cet âge. L'index HOMA-IR étant le résultat d'une opération arithmétique entre glycémie et insulinémie est logiquement en hausse ($p = 0,074$, tendance non significative en ANOVA one-way). En revanche, à l'âge de 6,5 mois, la glycémie, l'insulinémie et l'index HOMA-IR sont significativement supérieurs chez les souris KO. Encore une fois, les hétéro-ko présentent un phénotype intermédiaire entre KO et WT sur certains paramètres (glycémie, insulinémie et HOMA-IR à 4 mois, glycémie à 6,5 mois) mais pas sur tous. Ces résultats semblent suggérer que le phénotype observé ici s'acquière avec le temps chez les souris KO, et en moindre mesure chez les hétéro-ko.

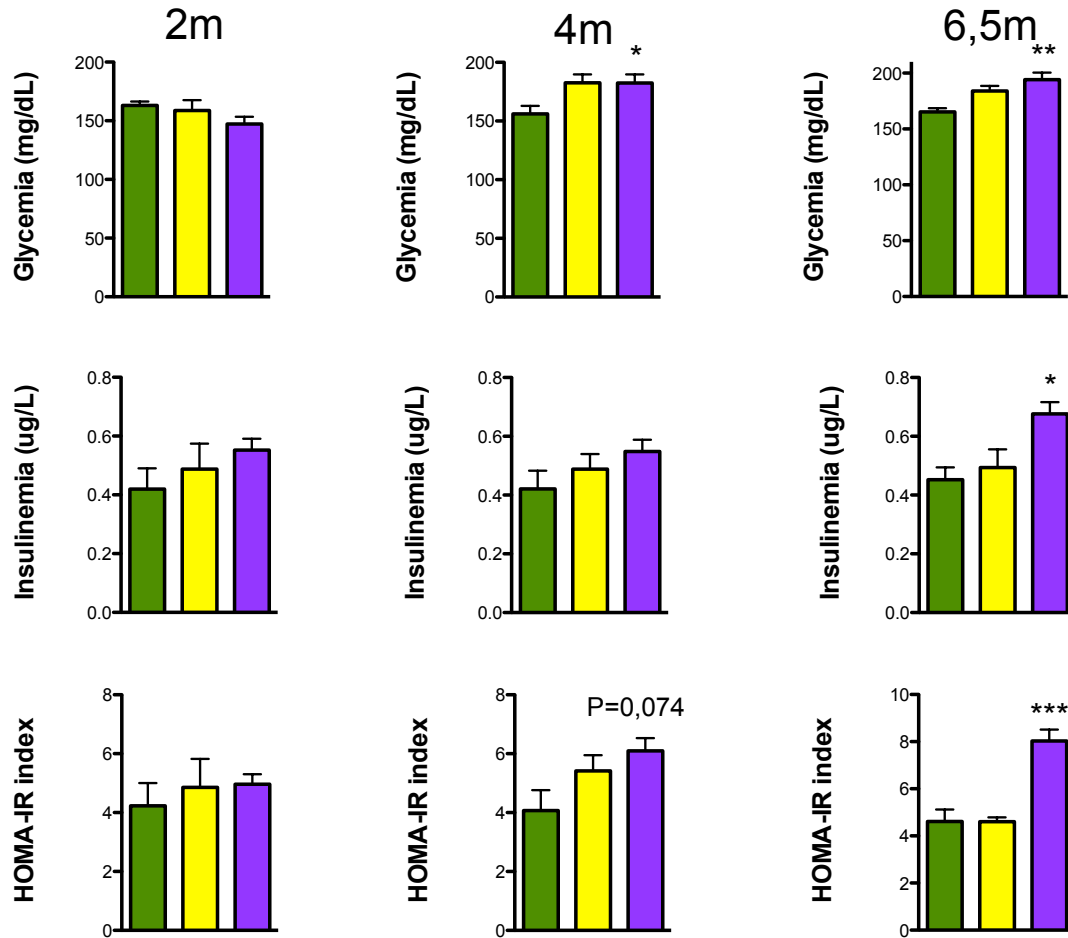


Figure 54. Profil glucidique, insulinémique et index HOMA-IR chez les souris KO, hétéro-ko et WT. Entre 2 mois et 6,5 mois s'installent des différences qui deviennent significatives dès 4 mois concernant la glycémie, et à partir de 6,5 mois pour chacun des paramètres étudiés, suggérant le caractère acquis de ce phénotype.

Au vu des résultats obtenus concernant les paramètres basaux de l'homéostasie glucidique, c'est logiquement que nous constatons les profils fortement insulino-résistants et gluco-intolérants des souris KO-Tau (Figure 55.). Comme observé précédemment, les souris hétéro-ko présentent un phénotype à l'intermédiaire entre les KO et les WT, et cela est notamment bien illustré par le test de tolérance au glucose à 6,5 mois (Figure 55.).

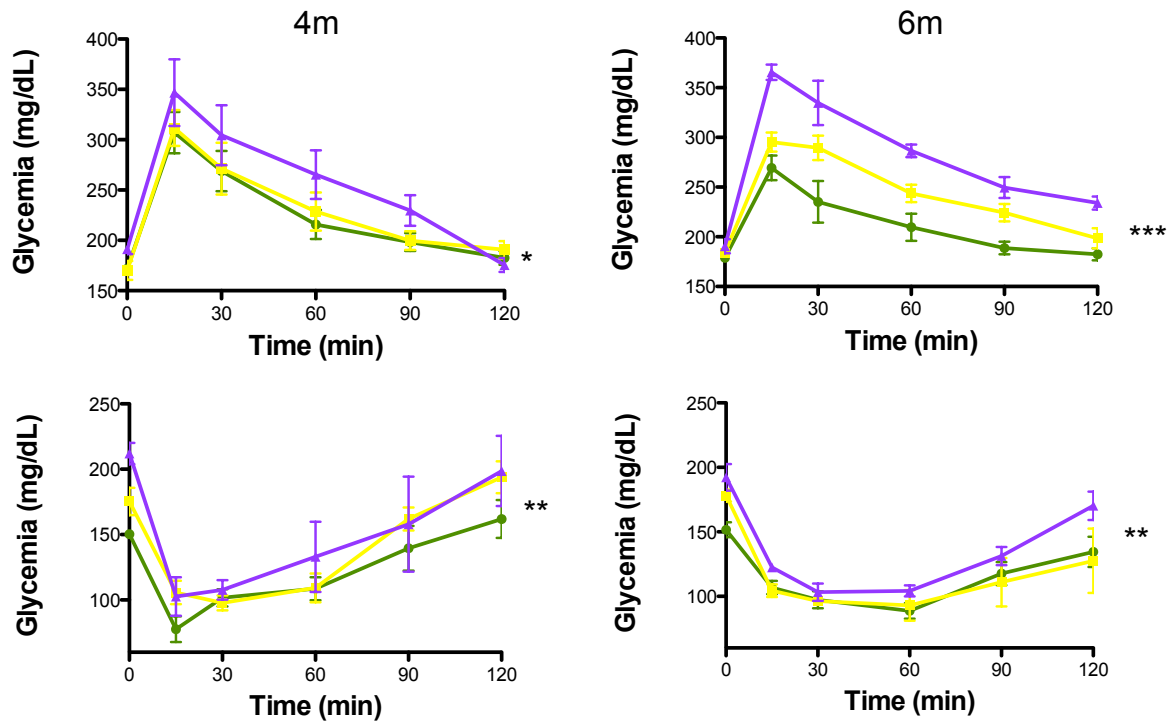


Figure 55. Tolérance au glucose et à l'insuline à 4 et à 6,5 m chez les souris KO, hétéro-ko et WT. Mises à l'épreuve par l'IPGTT et l'IIT, les souris KO dévoilent une légère intolérance au glucose dès 4 mois, qui devient massive à 6,5 mois. La tolérance à l'insuline elle aussi est altérée chez les KO, mais moins chez les hétéro-ko. * : $p < 0,05$, ** : $p < 0,01$, *** : $p < 0,001$, en utilisant l'ANOVA two-way.

DISCUSSION PARTIE 2 – ETUDE DE L'INFLUENCE DE TAU SUR LE METABOLISME

Dans la MA, la protéine Tau est hyper et anormalement phosphorylée. Cette phosphorylation excessive et aberrante détache Tau des MT, et ainsi Tau ne peut plus accomplir sa tâche en tant que protéine stabilisatrice des MT. Cette particularité est nommée perte de fonction physiologique de Tau, et s'accompagne dans un premier temps d'une augmentation de la quantité de protéines Tau libres, qui inéluctablement vont former des agrégats considérés toxiques menant à la formation de DNF. Cet aspect est appelé gain de fonction toxique de Tau. Cependant la notion selon laquelle les agrégats de protéine Tau sont des réservoirs permettant de stocker un excès de protéines potentiellement pathologiques commence à émerger (Santacruz et al., 2005 ; de Calignon et al., 2010). De nombreux partenaires de la protéine Tau ont été identifiés (Mandelkow et al., 2012). Les conséquences que la pathologie affectant la protéine Tau pourraient avoir sur les fonctions non canoniques de Tau demeurent peu connues. Dans le champ de recherche sur la pathologie amyloïde a été mis en évidence le rôle potentiel joué par cette pathologie dans l'émergence d'un phénotype de type obèse, hyperphagique (Takeda et al., 2010 ; Adebakin et al., 2012 ; Kohjima et al., 2010). Aucune étude n'a toutefois mentionné une quelconque interaction en ce sens concernant la pathologie Tau. Nous mettons en évidence pour la première fois l'existence potentielle d'une fonction de la protéine Tau au niveau central ayant des répercussions dans la régulation du métabolisme énergétique périphérique.

Au cours de la première partie de ce travail de thèse nous avons mis en évidence qu'une obésité, induite de façon physiologique par un régime riche en graisse a eu des conséquences délétères sur l'apprentissage spatial dans le modèle de souris THY-Tau22. Curieusement, alors que chez les souris wild-type le régime riche en graisse a induit une obésité et ses altérations attendues en terme de métabolisme glucidique, à savoir une insulino-résistance et une gluco-intolérance, les souris THY-Tau22 nourries

au régime HFD n'ont pas développé de résistance à l'insuline massive périphérique et centrale.

Suite à ces observations préliminaires nous avons donc cherché à étudier de façon plus complète le métabolisme du modèle de souris THY-Tau22 c'est à dire surexprimant abondamment de la protéine Tau humaine et en le confrontant à celui des souris inactivées pour une ou deux copies du gène Tau murin. Nous confirmons, dans un premier temps que les souris THY-Tau22 à partir de 2 mois présentent un poids corporel réduit comparé à leurs contrôles de portées. De façon intéressante les souris hétéro-ko, et KO pèsent plus lourd que leurs contrôles de portées, également à partir de 2 mois, suggérant que la présence ou l'absence de Tau puisse jouer comme facteur amaigrissant ou obésifiant, respectivement. Nous avons également mis en évidence le même type de parallélisme vis à vis d'un certain nombre de paramètres métaboliques. Les souris THY-Tau22 présentent, de fait, une hypophagie tandis que les knock-out sont hyperphagiques. La souris THY-Tau22 présente une adiposité réduite et une hypolipidémie alors que les KO ont davantage de tissus adipeux et sont hypercholestérolémiques. Enfin, mais pas des moindres, les THY-Tau22 sont insulino-sensibles et tolérantes au glucose alors que les KO sont tout le contraire. Il faut noter que ces différences sont maximales aux âges avancés des protocoles (9 mois chez la THY-Tau22, 6,5 mois chez la KO), indices nous suggérant que ces particularités métaboliques puissent avoir comme origine une cause impliquant un mécanisme d'acquisition lié au vieillissement ou à l'évolution de ces modèles. Une première conclusion que l'on peut tirer de ces différences est que le phénotype métabolique de la souris THY-Tau22 n'est pas causé par un artéfact lié à une éventuelle insertion aléatoire dans un locus sensible.

Les premières expériences de caractérisation du modèle THY-Tau22 ont indiqué l'absence d'expression du transgène dans les organes périphériques, y compris les organes impliqués dans la régulation du métabolisme énergétique (Schindowski et al., 2006). Ceci a été également redémontré au sein du laboratoire au cours du travail de Thèse de Cyril Laurent. Au niveau physiologique, la protéine Tau endogène est exprimée quasi exclusivement au niveau du système nerveux central. Ainsi, la délétion

simple ou double de Tau observée dans les modèles hétéro-ko et KO de Tau ne sera ressentie qu'au niveau central. Le phénotype métabolique périphérique des souris KO ou hétéro-ko ne peut ainsi résulter que d'une perte de fonction de Tau au niveau central, tandis que la surexpression de Tau au niveau central, tel que celle ayant lieu chez la THY-Tau22, aura des conséquences opposées, excluant ainsi que l'origine des altérations métaboliques puisse provenir d'un effet impliquant l'expression périphérique du transgène.

Le phénotype métabolique du modèle murin THY-Tau22 n'étant pas lié à un problème périphérique, nous avons émis l'hypothèse d'un dysfonctionnement relatif aux peptides impliqués dans la régulation de la prise alimentaire et de l'homéostasie énergétique. L'étude transcriptionnelle de plusieurs de ces peptides sur des homogénats totaux d'hypothalamus nous indique l'absence de modifications de nature à expliquer les différences en terme de prise alimentaire chez les THY-Tau22. Il faut noter, en outre, que le transgène Tau humain n'est exprimé dans l'hypothalamus qu'à hauteur de 1% du niveau retrouvé dans l'hippocampe, renforçant l'idée que les différences observées ne prennent pas origine dans cette structure. Par ailleurs, une étude transcriptionnelle de ces peptides doit être menée chez les souris KO-Tau afin d'exclure un rôle causal de ces peptides dans ce modèle-ci.

Lors de la première partie de ce travail nous avons remarqué, outre l'insulino-sensibilité périphérique notable des souris THY-Tau22 lorsque soumises au régime HFD, la présence d'une activation de la voie de signalisation de l'insuline centrale, à l'opposé des souris WT HFD. Nous avons donc évalué le profil de ces marqueurs dans l'hippocampe de souris THY-Tau22, en les confrontant cette fois aux souris WT.

Nous mettons en évidence la présence d'une insulino-sensibilité centrale dans l'hippocampe des souris THY-Tau22 de 7 mois. Cette notion a par ailleurs été corroborée par Elodie Marciniak, doctorante de première année au laboratoire, qui a testé la sensibilité à l'insuline des tranches d'hippocampe de souris THY-Tau22 et WT. L'application d'insuline dans le bain est un paradigme connu pour induire une baisse des potentiels de champ. Ici, la réponse des souris THY-Tau22 indique la présence

d'une forte insulino-sensibilité à l'insuline dans l'hippocampe.

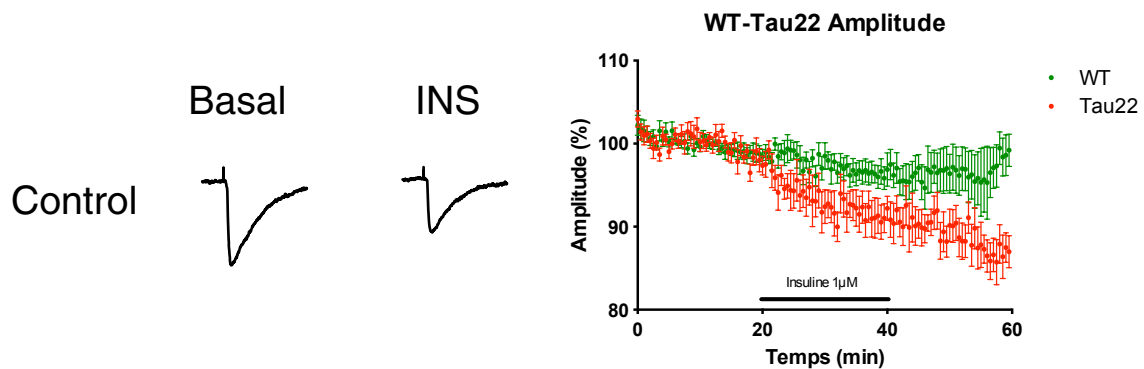


Figure 56. Sensibilité centrale à l'insuline obtenue par étude électrophysiologique en potentiel de champ sur des tranches d'hippocampes de souris THY-Tau22 et WT. Une adjonction d'insuline sur tranches d'hippocampe induit une phosphorylation sur des résidus tyrosine de la sous unité GluR2 du récepteur AMPA, évènement initial dans l'endocytose de ces récepteurs, causant une forme de dépression à long-terme (à gauche, Ahmadian et al., 2004). La réponse suite à l'ajout d'insuline dans le bain est fortement potentialisée chez la souris THY-Tau22 comparé aux WT (à droite), soutenant l'existence d'une insulino-sensibilité centrale importante chez la THY-Tau22. Tiré du travail de Elodie Marciniak.

L'ensemble de ces données sur la souris THY-Tau22 fait écho à une étude de caractérisation d'un modèle transgénique murin, la souris NIRKO (knock-out pour le récepteur à l'insuline neuronal). Cette souris, qui présente donc une forte insulino-résistance centrale obtenue par délétion du récepteur à l'insuline, développe progressivement une obésité en parallèle d'une hyperphagie accompagnée d'une élévation des marqueurs de l'adiposité, dont une quantité de tissus adipeux viscéral, une leptinémie et une lipidémie augmentées (Brüning et al., 2000, Koch et al., 2008). Il est intéressant de noter que la délétion du RI spécifiquement au sein des neurones à POMC et AgRP ne reproduit pas le phénotype plus obèse de ces souris. De plus, lorsque le récepteur à l'insuline est supprimé au niveau périphérique uniquement le phénotype qui en résulte est beaucoup moins sévère que celui issu d'une suppression sur cerveau entier (Koch et al., 2008). Le groupe de Jens Brüning postule ainsi que le récepteur à l'insuline central et ses éléments de signalisation gouverneraient la régulation de l'homéostasie glucidique. Une résistance à l'insuline périphérique est également présente chez ces animaux NIRKO. Ce type de résultat a été également

rapporté chez la souris IRS2-KO (Hashimoto et al., 2007). Enfin, les souris NIRKO sont particulièrement sensibles à un régime riche en graisse, qui potentialise ces caractéristiques. Les souris THY-Tau22, lorsque soumises à un régime riche en graisse présentent quant à elles une potentialisation de leur sensibilité centrale à l'insuline. Cela s'est produit tout en maintenant stable la quantité de protéine Tau soluble dans l'hippocampe, inchangée dans nos expériences HFD. De plus, la teneur en oligomères de protéines Tau est restée la même au cours du paradigme de nutrition HFD, indiquant l'absence de formation d'agrégats solubles ou non de protéines Tau. Ces données suggèrent que la protéine Tau soluble soit capable, d'une façon pour le moment inconnue, d'interférer avec une cible impliquée dans le métabolisme.

Nous formulons ainsi l'hypothèse suivante : la protéine Tau humaine mutée et surexprimée dans le cerveau des souris THY-Tau22, via une fonction biologique de Tau qui nous est inconnue, va établir progressivement une hypersensibilité centrale à l'insuline. Cette sensibilité accrue à l'insuline va se traduire au niveau périphérique par une insulinémie à la baisse, ainsi qu'à une meilleure tolérance au glucose et à l'insuline. Par ailleurs cette augmentation de la sensibilité à l'insuline qui s'opère dans le cerveau pourrait augmenter l'efficacité d'action de l'insuline en tant qu'hormone anorexigène. Chez la souris KO-Tau, et dans une moindre mesure chez la souris hétéro-ko Tau, la réduction d'expression de Tau se fait ressentir à l'inverse de la souris THY-Tau22 (Tableau 6), donc dans le même sens que les souris reproduisant une résistance centrale à l'insuline induite par délétion génétique du RI ou de IRS2.

Paramètre	THY-Tau22 (9 mois)	KO-Tau (7 mois)
Poids	-	+
Prise alimentaire (en absolu)	-	+
Tissu adipeux sous cutané	=	+
Tissu adipeux viscéral	-	+
Leptine	-	+
Résistance périphérique à l'insuline	-	+
Intolérance au glucose	-	+
Insuline	-	+
Glycémie	=	+
Index HOMA-IR	-	+
Cholestérol total	-	+
Cholestérol HDL	-	+
Cholestérol non-HDL	-	=

Tableau 6. Comparaison phénotypique des THY-Tau22 et des KO-Tau. Sur l'ensemble des paramètres testés le phénotype des THY-Tau22 est le miroir des KO-Tau.

L'identification de la cible d'action de Tau sur le métabolisme reste cependant à définir. Parmi les partenaires de Tau identifiés ayant un rôle dans le métabolisme nous pouvons citer la protéine d'ancrage 14-3-3, connue pour se lier à Tau (Chun et al. 2004 ; Hashiguchi et al. 2000 ; Sluchanko et al. 2009). Cette protéine intervient dans de nombreux processus, et notamment dans la médiation des actions de la voie de signalisation de l'insuline. 14-3-3 est par exemple capable de se lier à IRS2 (Chen et al., 2011). Les fonctions précises de cette protéine restent cependant floues. Il a été montré que les niveaux de protéine 14-3-3 extraits de fractions de microtubules n'étaient pas modifiés chez des souris KO-Tau comparés à des souris WT, suggérant qu'une faible fraction de Tau se lie vraiment à ces protéines.

Un certain nombre d'autres candidats sont connus pour se lier à Tau et faire partie de la voie de signalisation de l'insuline, parmi lesquels le récepteur à l'insuline (Kadowaki et al., 1985) et la PI3K (Reynolds et al., 2008). L'identification du facteur précisément impliqué dans ce phénotype devra faire l'objet d'investigations plus poussées.

De façon intéressante, ces particularités expérimentales ne sont pas complètement déconnectées de la pathologie humaine. Une perte de poids précède et est souvent annonciatrice d'une démence de type MA (Nourashémi et Vellas, 2008 ; Gillette-Guyonnet et al., 2000). Omoto et collaborateurs rapportent en outre le cas d'une patiente atteinte d'une forme rare de démence frontotemporale ayant subi une perte subite de prise alimentaire et de poids (Omoto et al., 2012).

En conclusion l'ensemble de la deuxième partie de ce travail de thèse décrit pour la première fois l'existence d'une fonction jusqu'alors inconnue de la protéine Tau dans la régulation du métabolisme énergétique. Le lieu et les modalités d'action de Tau dans cette fonction restent à élucider, et le décryptage des mécanismes gouvernant cette fonction nouvellement identifiée est cruciale pour une meilleure compréhension des mécanismes fondamentaux de la physiopathologie de la MA.

CONCLUSIONS GENERALES

- Un surpoids induit par un régime riche en graisse et ses complications métaboliques associées altèrent l'apprentissage spatial chez la souris THY-Tau22, modèle de souris reproduisant la pathologie Tau de la MA.
- La détérioration des capacités cognitives a lieu de façon concomitante à une suractivation des kinases Akt et Calmodulin Kinase de type 2, capables de phosphoryler Tau dans l'hippocampe sur plusieurs épitopes physiologiques pSer202/Thr205, Ser214, Ser404 et pathologique pSer422.
- Nos résultats montrent que l'aggravation de la pathologie Tau et de ses conséquences s'est produite indépendamment de l'établissement d'une insulino-résistance périphérique et centrale, au contraire du consensus généralement véhiculé dans la littérature.
- L'absence d'altérations majeures de l'homéostasie glucidique sous épreuve de régime riche en graisse est accompagnée de la présence d'un phénotype métabolique plus général, avec une maigreur et une sensibilité à l'insuline périphérique et centrale préservées chez les THY-Tau22.
- Le phénotype métabolique des souris KO-Tau, inverse en tous points à celui des THY-Tau22 exclut la possibilité d'un phénotype artéfactuel.
- Les résultats de ce travail de thèse mettent en évidence l'existence d'une fonction de Tau pour le moment inconnue, dont l'action au niveau central aurait des conséquences sur le métabolisme périphérique.

BIBLIOGRAPHIE

A

- Aamodt, E J, and R C Williams. 1984. Microtubule-associated proteins connect microtubules and neurofilaments in vitro. *Biochemistry* 23(25): 6023–6031.
- Adebakin, Adedolapo, Jenna Bradley, Sarah Gümüşgöz, Elizabeth J Waters, and Catherine B Lawrence. 2012. Impaired Satiation and Increased Feeding Behaviour in the Triple-Transgenic Alzheimer's Disease Mouse Model” ed. Silvana Gaetani. *PloS one* 7(10): e45179.
- Ahima, R S, D Prabakaran, C Mantzoros, D Qu, B Lowell, E Maratos-Flier, and J S Flier. 1996. Role of leptin in the neuroendocrine response to fasting. *Nature* 382(6588): 250–252.
- Ahmed, Zeshan, Karen M Doherty, Laura Silveira-Moriyama, Rina Bandopadhyay, Tammarny Lashley, Adamantios Mamais, Geshanthi Hondhamuni, Selina Wray, Jia Newcombe, Sean S O'Sullivan, Stephen Wroe, Rohan de Silva, Janice L Holton, Andrew J Lees, and Tamas Revesz. 2011. Globular glial tauopathies (GGT) presenting with motor neuron disease or frontotemporal dementia: an emerging group of 4-repeat tauopathies. *Acta neuropathologica* 122(4): 415–428.
- Air, Ellen L, Stephen C Benoit, Deborah J Clegg, Randy J Seeley, and Stephen C Woods. 2002. Insulin and leptin combine additively to reduce food intake and body weight in rats. *Endocrinology* 143(6): 2449–2452.
- Akiyama, H, S Barger, S Barnum, B Bradt, J Bauer, G M Cole, N R Cooper, P Eikelenboom, M Emmerling, B L Fiebich, C E Finch, S Frautschy, W S Griffin, H Hampel, M Hull, G Landreth, L Lue, R Mrak, I R Mackenzie, P L McGeer, M K O'Banion, J Pachter, G Pasinetti, C Plata-Salaman, J Rogers, R Rydel, Y Shen, W Streit, R Strohmeyer, I Tooyoma, F L Van Muiswinkel, R Veerhuis, D Walker, S Webster, B Wegrzyniak, G Wenk, and T Wyss-Coray. 2000. Inflammation and Alzheimer's disease. *NBA* 21(3): 383–421.
- Akiyama, H, T Arai, H Kondo, E Tanno, C Haga, and K Ikeda. 2000. Cell mediators of inflammation in the Alzheimer disease brain. *Alzheimer Disease & Associated Disorders* 14 Suppl 1: S47–53.
- Alonso, A C, I Grundke-Iqbal, and K Iqbal. 1996. Alzheimer's disease hyperphosphorylated tau sequesters normal tau into tangles of filaments and disassembles microtubules. *Nature medicine* 2(7): 783–787.
- 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. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 91(12): 5562–5566.
- Alzheimer, A. 1907. Über eine eigenartige Erkrankung der Hirnrinde *Allgemeine Zeitschrift für Psychiatrie*.

- Anderson, J P, Y Chen, K S Kim, and N K Robakis. 1992. An alternative secretase cleavage produces soluble Alzheimer amyloid precursor protein containing a potentially amyloidogenic sequence. *Journal of Neurochemistry* 59(6): 2328–2331.
- Andreadis, A, W M Brown, and K S Kosik. 1992. Structure and novel exons of the human tau gene. *Biochemistry* 31(43): 10626–10633.
- Anstey, Kaarin J, Chwee von Sanden, Agus Salim, and Richard O'Kearney. 2007. Smoking as a risk factor for dementia and cognitive decline: a meta-analysis of prospective studies. *American journal of epidemiology* 166(4): 367–378.
- Araki, E, M A Lipes, M E Patti, J C Bruning, B Haag, R S Johnson, and C R Kahn. 1994. Alternative pathway of insulin signalling in mice with targeted disruption of the IRS-1 gene. *Nature* 372(6502): 186–190.
- Atti, Anna Rita, Katie Palmer, Stefano Volpato, Bengt Winblad, Diana De Ronchi, and Laura Fratiglioni. 2008. Late-life body mass index and dementia incidence: nine-year follow-up data from the Kungsholmen Project. *Journal of the American Geriatrics Society* 56(1): 111–116.

B

- Banks, W A, J B Jaspan, and A J Kastin. 1997. Selective, physiological transport of insulin across the blood-brain barrier: novel demonstration by species-specific radioimmunoassays. *Peptides* 18(8): 1257–1262.
- Banks, William A. 2004. The source of cerebral insulin. *European Journal of Pharmacology* 490(1-3): 5–12.
- Bard, F, C Cannon, R Barbour, R L Burke, D Games, H Grajeda, T Guido, K Hu, J Huang, K Johnson-Wood, K Khan, D Kholodenko, M Lee, I Lieberburg, R Motter, M Nguyen, F Soriano, N Vasquez, K Weiss, B Welch, P Seubert, D Schenk, and T Yednock. 2000. Peripherally administered antibodies against amyloid beta-peptide enter the central nervous system and reduce pathology in a mouse model of Alzheimer disease. *Nature medicine* 6(8): 916–919.
- Barrett-Connor, E, S L Edelstein, J Corey-Bloom, and W C Wiederholt. 1996. Weight loss precedes dementia in community-dwelling older adults. *Journal of the American Geriatrics Society* 44(10): 1147–1152.
- Belarbi, Karim, Sylvie Burnouf, Francisco-Jose Fernandez-Gomez, Cyril Laurent, Sophie Lestavel, Martin Figeac, Audrey Sultan, Laetitia Troquier, Antoine Leboucher, Raphaëlle Caillierez, Marie-Eve Grosjean, Dominique Demeyer, Hélène Obriot, Ingrid Brion, Bérangère Barbot, Marie-Christine Galas, Bart Staels, Sandrine Humez, Nicolas Sergeant, Susanna Schraen-Maschke, Anne Muhr-Tailleux, Malika Hamdane, Luc Buée, and David Blum. 2011. Beneficial effects of exercise in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease-like Tau pathology *Neurobiology of disease* 43(2): 486–494.
- Benoit, Stephen C, Ellen L Air, Lique M Coolen, Richelle Strauss, Alana Jackman, Deborah J Clegg, Randy J Seeley, and Stephen C Woods. 2002. The catabolic action of insulin in the brain is mediated by melanocortins. *Journal of Neuroscience* 22(20): 9048–9052.

- Bertram, Lars, and Rudolph E Tanzi. 2005. The genetic epidemiology of neurodegenerative disease. *Journal of Clinical Investigation* 115(6): 1449–1457.
- Bhaskar, Kiran, Megan Konerth, Olga N Kokiko-Cochran, Astrid Cardona, Richard M Ransohoff, and Bruce T Lamb. 2010. Regulation of Tau Pathology by the Microglial Fractalkine Receptor *Neuron* 68(1): 19–31.
- Bierer, L M, P R Hof, D P Purohit, L Carlin, J Schmeidler, K L Davis, and D P Perl. 1995. Neocortical neurofibrillary tangles correlate with dementia severity in Alzheimer's disease. *Archives of neurology* 52(1): 81–88.
- Boimel, Moran, Nikolaos Grigoriadis, Athanassios Loubopoulos, Olga Touloumi, David Rosenmann, Oded Abramsky, and Hanna Rosenmann. 2009. Statins reduce the neurofibrillary tangle burden in a mouse model of tauopathy. *Journal of neuropathology and experimental neurology* 68(3): 314–325.
- Braak, H, and E Braak. 1991. Neuropathological staging of Alzheimer-related changes. *Acta neuropathologica* 82(4): 239–259.
- Bramblett, G T, M Goedert, R Jakes, S E Merrick, J Q Trojanowski, and V M Lee. 1993. Abnormal tau phosphorylation at Ser396 in Alzheimer's disease recapitulates development and contributes to reduced microtubule binding. *Neuron* 10(6): 1089–1099.
- Brands, Augustina M A, Geert Jan Biessels, Edward H F de Haan, L Jaap Kappelle, and Roy P C Kessels. 2005. The effects of type 1 diabetes on cognitive performance: a meta-analysis. *Diabetes care* 28(3): 726–735.
- Brandt, R, J Léger, and G Lee. 1995. Interaction of tau with the neural plasma membrane mediated by tau's amino-terminal projection domain. *The Journal of cell biology* 131(5): 1327–1340.
- Brion, J P, A M Couck, E Passareiro, and J Flament-Durand. 1985. Neurofibrillary tangles of Alzheimer's disease: an immunohistochemical study. *Journal of submicroscopic cytology* 17(1): 89–96.
- Bruning, J C. 2000. Role of Brain Insulin Receptor in Control of Body Weight and Reproduction *Science* 289(5487): 2122–2125.
- Buée, L, T Bussière, V Buée-Scherrer, A Delacourte, and P R Hof. 2000. Tau protein isoforms, phosphorylation and role in neurodegenerative disorders. *Brain research. Brain research reviews* 33(1): 95–130.
- Burks, D J, J Font de Mora, M Schubert, D J Withers, M G Myers, H H Towery, S L Altamuro, C L Flint, and M F White. 2000. IRS-2 pathways integrate female reproduction and energy homeostasis. *Nature* 407(6802): 377–382.
- Burnouf, Sylvie, Alberto Martire, Maxime Derisbourg, Cyril Laurent, Karim Belarbi, Antoine Leboucher, Francisco-Jose Fernandez-Gomez, Laetitia Troquier, Sabiha Eddarkaoui, Marie-Eve Grosjean, Dominique Demeyer, Anne Muhr-Tailleux, Alain Buisson, Nicolas Sergeant, Malika Hamdane, Sandrine Humez, Patrizia Popoli, Luc Buée, and David Blum. 2012. NMDA receptor dysfunction contributes to impaired BDNF-induced facilitation of hippocampal synaptic transmission in a Tau transgenic model *Aging Cell*:

n/a–n/a.

Burnouf, Sylvie, Karim Belarbi, Laetitia Troquier, Maxime Derisbourg, Dominique Demeyer, Antoine Leboucher, Cyril Laurent, Malika Hamdane, Luc Buée, and David Blum. 2012. Hippocampal BDNF expression in a tau transgenic mouse model. *Current Alzheimer research* 9(4): 406–410.

Butner, K A, and M W Kirschner. 1991. Tau protein binds to microtubules through a flexible array of distributed weak sites. *The Journal of cell biology* 115(3): 717–730.

C

Cameron, Brent, and Gary E Landreth. 2010. Inflammation, microglia, and Alzheimer's disease. *Neurobiology of disease* 37(3): 503–509.

Cao, D, H Lu, T L Lewis, and L Li. 2007. Intake of Sucrose-sweetened Water Induces Insulin Resistance and Exacerbates Memory Deficits and Amyloidosis in a Transgenic Mouse Model of Alzheimer Disease *Journal of Biological Chemistry* 282(50): 36275–36282.

Chartier-Harlin, M C, F Crawford, H Houlden, A Warren, D Hughes, L Fidani, A Goate, M Rossor, P Roques, and J Hardy. 1991. Early-onset Alzheimer's disease caused by mutations at codon 717 of the beta-amyloid precursor protein gene. *Nature* 353(6347): 844–846.

Chen, H Y, M E Trumbauer, A S Chen, D T Weingarh, J R Adams, E G Frazier, Z Shen, D J Marsh, S D Feighner, X-M Guan, Z Ye, R P Nargund, R G Smith, L H T Van der Ploeg, A D Howard, D J MacNeil, and S Qian. 2004. Orexigenic action of peripheral ghrelin is mediated by neuropeptide Y and agouti-related protein. *Endocrinology* 145(6): 2607–2612.

Chen, H, O Charlat, L A Tartaglia, E A Woolf, X Weng, S J Ellis, N D Lakey, J Culpepper, K J Moore, R E Breitbart, G M Duyk, R I Tepper, and J P Morgenstern. 1996. Evidence that the diabetes gene encodes the leptin receptor: identification of a mutation in the leptin receptor gene in db/db mice. *Cell* 84(3): 491–495.

Chen, Shuai, Silvia Synowsky, Michele Tinti, and Carol MacKintosh. 2011. The capture of phosphoproteins by 14-3-3 proteins mediates actions of insulin *Trends in Endocrinology & Metabolism* 22(11): 429–436.

Cheung, C C, D K Clifton, and R A Steiner. 1997. Proopiomelanocortin neurons are direct targets for leptin in the hypothalamus. *Endocrinology* 138(10): 4489–4492.

Chun, Jaesun, Taegun Kwon, Eun Jeoung Lee, Chang Hyun Kim, Yeon Soo Han, Soon-Kwang Hong, Sounghee Hyun, and Sang Sun Kang. 2004. 14-3-3 Protein mediates phosphorylation of microtubule-associated protein tau by serum- and glucocorticoid-induced protein kinase 1. *Molecules and cells* 18(3): 360–368.

Citron, M, D Westaway, W Xia, G Carlson, T Diehl, G Levesque, K Johnson-Wood, M Lee, P Seubert, A Davis, D Kholodenko, R Motter, R Sherrington, B Perry, H Yao, R Strome, I Lieberburg, J Rommens, S Kim, D Schenk, P Fraser, P St George Hyslop, and D J Selkoe. 1997. Mutant presenilins of Alzheimer's disease increase production of 42-

- residue amyloid beta-protein in both transfected cells and transgenic mice. *Nature medicine* 3(1): 67–72.
- Clarke, D W, L Mudd, F T Boyd, M Fields, and M K Raizada. 1986. Insulin is released from rat brain neuronal cells in culture. *Journal of Neurochemistry* 47(3): 831–836.
- Cleveland, D W, S Y Hwo, and M W Kirschner. 1977. Purification of tau, a microtubule-associated protein that induces assembly of microtubules from purified tubulin. *Journal of molecular biology* 116(2): 207–225.
- Cohen, Ehud, Johan F Paulsson, Pablo Blinder, Tal Burstyn-Cohen, Deguo Du, Gabriela Estepa, Anthony Adame, Hang M Pham, Martin Holzenberger, Jeffery W Kelly, Eliezer Masliah, and Andrew Dillin. 2009. Reduced IGF-1 Signaling Delays Age-Associated Proteotoxicity in Mice *Cell* 139(6): 1157–1169.
- Coll, Anthony P, Giles S H Yeo, I Sadaf Farooqi, and Stephen O'Rahilly. 2008. SnapShot: the hormonal control of food intake. *Cell* 135(3): 572.e1–2.
- Collino, Massimo, Manuela Aragno, Sara Castiglia, Chiara Tomasinelli, Christoph Thiernemann, Giuseppe Boccuzzi, and Roberto Fantozzi. 2009. Insulin reduces cerebral ischemia/reperfusion injury in the hippocampus of diabetic rats: a role for glycogen synthase kinase-3beta. *Diabetes* 58(1): 235–242.
- Considine, R V, M K Sinha, M L Heiman, A Kriauciunas, T W Stephens, M R Nyce, J P Ohannesian, C C Marco, L J McKee, and T L Bauer. 1996. Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. *The New England journal of medicine* 334(5): 292–295.
- Corder, E H, A M Saunders, N J Risch, W J Strittmatter, D E Schmechel, P C Gaskell, J B Rimmler, P A Locke, P M Conneally, and K E Schmechel. 1994. Protective effect of apolipoprotein E type 2 allele for late onset Alzheimer disease. *Nature genetics* 7(2): 180–184.
- Coria, F, I Rubio, and C Bayón. 1994. Alzheimer's disease, beta-amyloidosis, and aging. *Reviews in the neurosciences* 5(4): 275–292.
- Corp, E S, S C Woods, D Porte, D M Dorsa, D P Figlewicz, and D G Baskin. 1986. Localization of 125I-insulin binding sites in the rat hypothalamus by quantitative autoradiography. *Neuroscience Letters* 70(1): 17–22.
- Correas, I, R Padilla, and J AVILA. 1990. The tubulin-binding sequence of brain microtubule-associated proteins, tau and MAP-2, is also involved in actin binding. *Biochemical Journal* 269(1): 61–64.
- Couchie, D, C Mavilia, I S Georgieff, R K Liem, M L Shelanski, and J Nunez. 1992. Primary structure of high molecular weight tau present in the peripheral nervous system. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 89(10): 4378–4381.
- Craft, S, E Peskind, M W Schwartz, G D Schellenberg, M Raskind, and D Porte. 1998. Cerebrospinal fluid and plasma insulin levels in Alzheimer's disease: relationship to severity of dementia and apolipoprotein E genotype. *Neurology* 50(1): 164–168.

Craft, S, S Asthana, G Schellenberg, M Cherrier, L D Baker, J Newcomer, S Plymate, S Latendresse, A Petrova, M Raskind, E Peskind, C Lofgreen, and K Grimwood. 1999. Insulin metabolism in Alzheimer's disease differs according to apolipoprotein E genotype and gender. *Neuroendocrinology* 70(2): 146–152.

D

D'Hooge, R, and P P De Deyn. 2001. Applications of the Morris water maze in the study of learning and memory. *Brain research. Brain research reviews* 36(1): 60–90.

Dawson, H N, A Ferreira, M V Eyster, N Ghoshal, L I Binder, and M P Vitek. 2001. Inhibition of neuronal maturation in primary hippocampal neurons from tau deficient mice. *Journal of cell science* 114(Pt 6): 1179–1187.

de Calignon, Alix, Tara L Spires-Jones, and Bradley T Hyman. 2010. Activation de caspases et formation de dégénérescences neurofibrillaires dans un modèle murin de la maladie d'Alzheimer *médecine/sciences* 26(10): 787–816.

de la Monte, Suzanne M. 2012. Brain insulin resistance and deficiency as therapeutic targets in Alzheimer's disease. *Current Alzheimer research* 9(1): 35–66.

de Leon, M J, A E George, L A Stylopoulos, G Smith, and D C Miller. 1989. Early marker for Alzheimer's disease: the atrophic hippocampus. *Lancet* 2(8664): 672–673.

De Strooper, B, and W Annaert. 2000. Proteolytic processing and cell biological functions of the amyloid precursor protein. *Journal of cell science* 113 (Pt 11): 1857–1870.

DeFronzo, R A. 2000. Pharmacologic therapy for type 2 diabetes mellitus. *Annals of internal medicine* 133(1): 73–74.

Delacourte, A, and A Defossez. 1986. Alzheimer's disease: Tau proteins, the promoting factors of microtubule assembly, are major components of paired helical filaments. *Journal of the Neurological Sciences* 76(2-3): 173–186.

Delacourte, A, J P David, N Sergeant, L Buée, A Watzet, P Vermersch, F Ghzali, C Fallet-Bianco, F Pasquier, F Lebert, H Petit, and C Di Menza. 1999. The biochemical pathway of neurofibrillary degeneration in aging and Alzheimer's disease. *Neurology* 52(6): 1158–1165.

Delobel, Patrice, Stéphane Flament, Malika Hamdane, Christel Mailliot, Anne-Véronique Sambo, Séverine Bégard, Nicolas Sergeant, André Delacourte, Jean-Pierre Vilain, and Luc Buée. 2002. Abnormal Tau phosphorylation of the Alzheimer-type also occurs during mitosis. *Journal of Neurochemistry* 83(2): 412–420.

Deng, Yanqiu, Bin Li, Ying Liu, Khalid Iqbal, Inge Grundke-Iqbal, and Cheng-Xin Gong. 2009. Dysregulation of insulin signaling, glucose transporters, O-GlcNAcylation, and phosphorylation of tau and neurofilaments in the brain: Implication for Alzheimer's disease. *The American journal of pathology* 175(5): 2089–2098.

Denk, Franziska, and Richard Wade-Martins. 2009. Knock-out and transgenic mouse models of tauopathies *Neurobiology of Aging* 30(1): 1–13.

- DeSouza, Christopher A, Gary P Van Guilder, Jared J Greiner, Derek T Smith, Greta L Hoetzer, and Brian L Stauffer. 2005. Basal endothelial nitric oxide release is preserved in overweight and obese adults. *Obesity research* 13(8): 1303–1306.
- Devanand, D P, K S Michaels-Marston, X Liu, G H Pelton, M Padilla, K Marder, K Bell, Y Stern, and R Mayeux. 2000. Olfactory deficits in patients with mild cognitive impairment predict Alzheimer's disease at follow-up. *The American journal of psychiatry* 157(9): 1399–1405.
- Devanand, D P, M Sano, M X Tang, S Taylor, B J Gurland, D Wilder, Y Stern, and R Mayeux. 1996. Depressed mood and the incidence of Alzheimer's disease in the elderly living in the community. *Archives of general psychiatry* 53(2): 175–182.
- Devaskar, S U, S J Giddings, P A Rajakumar, L R Carnaghi, R K Menon, and D S Zahm. 1994. Insulin gene expression and insulin synthesis in mammalian neuronal cells. *The Journal of biological chemistry* 269(11): 8445–8454.
- Dodart, Jean-Cosme, Robert A Marr, Milla Koistinaho, Beth M Gregersen, Seema Malkani, Inder M Verma, and Steven M Paul. 2005. Gene delivery of human apolipoprotein E alters brain Abeta burden in a mouse model of Alzheimer's disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 102(4): 1211–1216.
- Doty, Richard L. 2008. The olfactory vector hypothesis of neurodegenerative disease: is it viable? *Annals of Neurology* 63(1): 7–15.
- Drewes, G, B Trinczek, S Illenberger, J Biernat, G Schmitt-Ulms, H E Meyer, E M Mandelkow, and E Mandelkow. 1995. Microtubule-associated protein/microtubule affinity-regulating kinase (p110mark). A novel protein kinase that regulates tau-microtubule interactions and dynamic instability by phosphorylation at the Alzheimer-specific site serine 262. *The Journal of biological chemistry* 270(13): 7679–7688.
- Dubois, Fanny, Franck Vandermoere, Aurélie Gernez, Jane Murphy, Rachel Toth, Shuai Chen, Kathryn M Geraghty, Nick A Morrice, and Carol MacKintosh. 2009. Differential 14-3-3 affinity capture reveals new downstream targets of phosphatidylinositol 3-kinase signaling. *Molecular & cellular proteomics : MCP* 8(11): 2487–2499.
- Duyckaerts, C, M Bennechib, Y Grignon, T Uchihara, Y He, F Piette, and J J Hauw. 1997. Modeling the relation between neurofibrillary tangles and intellectual status. *Neurobiology of Aging* 18(3): 267–273.

E

- Ebneth, A, R Godemann, K Stamer, S Illenberger, B Trinczek, and E Mandelkow. 1998. Overexpression of tau protein inhibits kinesin-dependent trafficking of vesicles, mitochondria, and endoplasmic reticulum: implications for Alzheimer's disease. *The Journal of cell biology* 143(3): 777–794.

F

- 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 : the journal of the American Medical Association* 278(16): 1349–1356.

Ferri, Cleusa P, Martin Prince, Carol Brayne, Henry Brodaty, Laura Fratiglioni, Mary Ganguli, Kathleen Hall, Kazuo Hasegawa, Hugh Hendrie, Yueqin Huang, Anthony Jorm, Colin Mathers, Paulo R Menezes, Elizabeth Rimmer, Marcia Sczufca, Alzheimer's Disease International. 2005. Global prevalence of dementia: a Delphi consensus study. *Lancet* 366(9503): 2112–2117.

Fox, N C, W R Crum, R I Scahill, J M Stevens, J C Janssen, and M N Rossor. 2001. Imaging of onset and progression of Alzheimer's disease with voxel-compression mapping of serial magnetic resonance images. *Lancet* 358(9277): 201–205.

Frederich, R C, A Hamann, S Anderson, B Löllmann, B B Lowell, and J S Flier. 1995. Leptin levels reflect body lipid content in mice: evidence for diet-induced resistance to leptin action. *Nature medicine* 1(12): 1311–1314.

Fujio, Katsunori, Mahito Sato, Takefumi Uemura, Takashi Sato, Reiko Sato-Harada, and Akihiro Harada. 2007. 14-3-3 proteins and protein phosphatases are not reduced in tau-deficient mice. *Neuroreport* 18(10): 1049–1052.

Fulga, Tudor A, Ilan Elson-Schwab, Vikram Khurana, Michelle L Steinhilb, Tara L Spires, Bradley T Hyman, and Mel B Feany. 2006. Abnormal bundling and accumulation of F-actin mediates tau-induced neuronal degeneration in vivo *Nature Cell Biology* 9(2): 139–148.

G

Gazdag, A C, C L Dumke, C R Kahn, and G D Cartee. 1999. Calorie restriction increases insulin-stimulated glucose transport in skeletal muscle from IRS-1 knockout mice. *Diabetes* 48(10): 1930–1936.

Genin, E, D Hannequin, D Wallon, K Sleegers, M Hiltunen, O Combarros, M J Bullido, S Engelborghs, P De Deyn, C Berr, F Pasquier, B Dubois, G Tognoni, N Fiévet, N Brouwers, K Bettens, B Arosio, E Coto, M Del Zompo, I Mateo, J Epelbaum, A Frank-Garcia, S Helisalmi, E Porcellini, A Pilotto, P Forti, R Ferri, E Scarpini, G Siciliano, V Solfrizzi, S Sorbi, G Spalletta, F Valdivieso, S Vepsäläinen, V Alvarez, P Bosco, M Mancuso, F Panza, B Nacmias, P Bossù, O Hanon, P Piccardi, G Annoni, D Seripa, D Galimberti, F Licastro, H Soininen, J F Dartigues, M I Kamboh, C Van Broeckhoven, J C Lambert, P Amouyel, and D Campion. 2011. APOE and Alzheimer disease: a major gene with semi-dominant inheritance *Molecular Psychiatry* 16(9): 903–907.

Gerozissis, Kyriaki. 2008. Brain insulin, energy and glucose homeostasis; genes, environment and metabolic pathologies. *European Journal of Pharmacology* 585(1): 38–49.

Gibb, G M, J Pearce, J C Betts, S Lovestone, M M Hoffmann, W Maerz, W P Blackstock, and B H Anderton. 2000. Differential effects of apolipoprotein E isoforms on phosphorylation at specific sites on tau by glycogen synthase kinase-3 beta identified by nano-electrospray mass spectrometry. *FEBS letters* 485(2-3): 99–103.

- Gillette-Guyonnet, S, F Nourhashemi, S Andrieu, I de Glisezinski, P J Ousset, D Riviere, J L Albarede, and B Vellas. 2000. Weight loss in Alzheimer disease. *The American journal of clinical nutrition* 71(2): 637S–642S.
- Glenner, G G, and C W Wong. 1984. Alzheimer's disease: initial report of the purification and characterization of a novel cerebrovascular amyloid protein. *BIOCHEMICAL AND BIOPHYSICAL RESEARCH COMMUNICATIONS* 120(3): 885–890.
- Glöckner, Frauke, Volker Meske, Dieter Lütjohann, and Thomas G Ohm. 2011. Dietary cholesterol and its effect on tau protein: a study in apolipoprotein E-deficient and P301L human tau mice. *Journal of neuropathology and experimental neurology* 70(4): 292–301.
- Goate, A, M C Chartier-Harlin, M Mullan, J Brown, F Crawford, L Fidani, L Giuffra, A Haynes, N Irving, and L James. 1991. Segregation of a missense mutation in the amyloid precursor protein gene with familial Alzheimer's disease. *Nature* 349(6311): 704–706.
- Goedert, M. 1996. Tau protein and the neurofibrillary pathology of Alzheimer's disease. *Annals of the New York Academy of Sciences* 777: 121–131.
- Goedert, M. 2008. Oskar Fischer and the study of dementia *Brain* 132(4): 1102–1111.
- Goedert, M, and R Jakes. 1990. Expression of separate isoforms of human tau protein: correlation with the tau pattern in brain and effects on tubulin polymerization. *The EMBO journal* 9(13): 4225–4230.
- Goedert, Michel, and Maria Grazia Spillantini. 2006. A century of Alzheimer's disease. *Science* 314(5800): 777–781.
- Goedert, M, C M Wischik, R A Crowther, J E Walker, and A Klug. 1988. Cloning and sequencing of the cDNA encoding a core protein of the paired helical filament of Alzheimer disease: identification as the microtubule-associated protein tau. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 85(11): 4051–4055.
- Goedert, M, M G Spillantini, and R A Crowther. 1992. Cloning of a big tau microtubule-associated protein characteristic of the peripheral nervous system. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 89(5): 1983–1987.
- Goedert, M, M G Spillantini, R Jakes, D Rutherford, and R A Crowther. 1989. Multiple isoforms of human microtubule-associated protein tau: sequences and localization in neurofibrillary tangles of Alzheimer's disease. *Neuron* 3(4): 519–526.
- Gong, C X, S Shaikh, J Z Wang, T Zaidi, I Grundke-Iqbal, and K Iqbal. 1995. Phosphatase activity toward abnormally phosphorylated tau: decrease in Alzheimer disease brain. *Journal of Neurochemistry* 65(2): 732–738.
- Graeber, M B, and P Mehraein. 1999. Reanalysis of the first case of Alzheimer's disease. *European archives of psychiatry and clinical neuroscience* 249 Suppl 3: 10–13.
- Granholm, Ann-Charlotte, Heather A Bimonte-Nelson, Alfred B Moore, Matthew E Nelson, Linnea R Freeman, and Kumar Sambamurti. 2008. Effects of a saturated fat and high cholesterol diet on memory and hippocampal morphology in the middle-aged rat. *Journal of Alzheimer's disease : JAD* 14(2): 133–145.

- Greco, Steven J, Kathryn J Bryan, Sraboni Sarkar, Xiongwei Zhu, Mark A Smith, J Wesson Ashford, Jane M Johnston, Nikolaos Tezapsidis, and Gemma Casadesus. 2010. Leptin reduces pathology and improves memory in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's disease : JAD* 19(4): 1155–1167.
- Griffin, Rebecca J, Aileen Moloney, Mary Kelliher, Janet A Johnston, Rivka Ravid, Peter Dockery, Rosemary O'Connor, and Cora O'Neill. 2005. Activation of Akt/PKB, increased phosphorylation of Akt substrates and loss and altered distribution of Akt and PTEN are features of Alzheimer's disease pathology *Journal of Neurochemistry* 93(1): 105–117.
- Grundke-Iqbal, I, K Iqbal, Y C Tung, M Quinlan, H M Wisniewski, and L I Binder. 1986. Abnormal phosphorylation of the microtubule-associated protein tau (tau) in Alzheimer cytoskeletal pathology. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 83(13): 4913–4917.
- Grünblatt, Edna, Melita Salkovic-Petrisic, Jelena Osmanovic, Peter Riederer, and Siegfried Hoyer. 2007. Brain insulin system dysfunction in streptozotocin intracerebroventricularly treated rats generates hyperphosphorylated tau protein. *Journal of Neurochemistry* 101(3): 757–770.
- Gu, Y, F Oyama, and Y Ihara. 1996. Tau is widely expressed in rat tissues. *Journal of Neurochemistry* 67(3): 1235–1244.
- Gu, Yian, Jeri W Nieves, Yaakov Stern, Jose A Luchsinger, and Nikolaos Scarmeas. 2010. Food combination and Alzheimer disease risk: a protective diet. *Archives of neurology* 67(6): 699–706.
- Gustafson, Deborah. 2008. A life course of adiposity and dementia. *European Journal of Pharmacology* 585(1): 163–175.

H

- Hashiguchi, M, K Sobue, and H K Paudel. 2000. 14-3-3zeta is an effector of tau protein phosphorylation. *The Journal of biological chemistry* 275(33): 25247–25254.

I

- Ikeda, H, D B West, J J Pustek, D P Figlewicz, M R Greenwood, D Porte, and S C Woods. 1986. Intraventricular insulin reduces food intake and body weight of lean but not obese Zucker rats. *Appetite* 7(4): 381–386.
- Ikegami, S, A Harada, and N Hirokawa. 2000. Muscle weakness, hyperactivity, and impairment in fear conditioning in tau-deficient mice. *Neuroscience Letters* 279(3): 129–132.
- Ittner, Lars M, Yazdi D Ke, Fabien Delerue, Mian Bi, Amadeus Gladbach, Janet van Eersel, Heidrun Wölfling, Billy C Chieng, MacDonald J Christie, Ian A Napier, Anne Eckert, Matthias Staufenbiel, Edna Hardeman, and Jürgen Götz. 2010. Dendritic Function of Tau Mediates Amyloid- β Toxicity in Alzheimer's Disease Mouse Models *Cell* 142(3): 387–397.

J

- Janssen, Ian, Peter T Katzmarzyk, and Robert Ross. 2004. Waist circumference and not body mass index explains obesity-related health risk. *The American journal of clinical nutrition* 79(3): 379–384.
- Jeon, B T, E A Jeong, H J Shin, Y Lee, D H Lee, H J Kim, S S Kang, G J Cho, W S Choi, and G S Roh. 2012. Resveratrol Attenuates Obesity-Associated Peripheral and Central Inflammation and Improves Memory Deficit in Mice Fed a High-Fat Diet *Diabetes*.
- Jick, H, G L Zornberg, S S Jick, S Seshadri, and D A Drachman. 2000. Statins and the risk of dementia. *Lancet* 356(9242): 1627–1631.
- Jolivalt, C G, C A Lee, K K Beiswenger, J L Smith, M Orlov, M A Torrance, and E Masliah. 2008. Defective insulin signaling pathway and increased glycogen synthase kinase-3 activity in the brain of diabetic mice: parallels with Alzheimer's disease and correction by insulin. *Journal of Neuroscience Research* 86(15): 3265–3274.
- Jolivalt, Corinne G, Rosemarie Hurford, Corinne A Lee, Wilmar Dumaop, Edward Rockenstein, and Eliezer Masliah. 2009. Type 1 diabetes exaggerates features of Alzheimer's disease in APP transgenic mice *Experimental Neurology*: 1–10.
- Jorm, A F. 2000. Is depression a risk factor for dementia or cognitive decline? A review. *Gerontology* 46(4): 219–227.
- Julien, Carl, Cytia Tremblay, Alix Phivilay, Line Berthiaume, Vincent Emond, Pierre Julien, and Frédéric Calon. 2010. High-fat diet aggravates amyloid-beta and tau pathologies in the 3xTg-AD mouse model. *Neurobiology of Aging* 31(9): 1516–1531.

K

- Kadowaki, T, Y Fujita-Yamaguchi, E Nishida, F Takaku, T Akiyama, S Kathuria, Y Akanuma, and M Kasuga. 1985. Phosphorylation of tubulin and microtubule-associated proteins by the purified insulin receptor kinase. *The Journal of biological chemistry* 260(7): 4016–4020.
- Ke, Yazı D, Fabien Delerue, Amadeus Gladbach, Jürgen Götz, and Lars M Ittner. 2009. Experimental Diabetes Mellitus Exacerbates Tau Pathology in a Transgenic Mouse Model of Alzheimer's Disease : 1–7.
- Khurana, Vikram, Yiran Lu, Michelle L Steinhilb, Sean Oldham, Joshua M Shulman, and Mel B Feany. 2006. TOR-mediated cell-cycle activation causes neurodegeneration in a Drosophila tauopathy model. *Current biology : CB* 16(3): 230–241.
- KIDD, M. 1963. Paired helical filaments in electron microscopy of Alzheimer's disease. *Nature* 197: 192–193.
- KIDD, M. 1964. ALZHEIMER'S DISEASE--AN ELECTRON MICROSCOPICAL STUDY.

Brain 87: 307–320.

- Killick, Richard, Georgie Scales, Karelle Leroy, Mirsada Causevic, Claudie Hooper, Elaine E Irvine, Agharul I Choudhury, Laura Drinkwater, Fiona Kerr, Hind Al-Qassab, John Stephenson, Zehra Yilmaz, K Peter Giese, Jean-Pierre Brion, Dominic J Withers, and Simon Lovestone. 2009. Deletion of *Irs2* reduces amyloid deposition and rescues behavioural deficits in APP transgenic mice *BIOCHEMICAL AND BIOPHYSICAL RESEARCH COMMUNICATIONS*: 1–6.
- Kim, B, C Backus, S Oh, J M Hayes, and E L Feldman. 2009. Increased Tau Phosphorylation and Cleavage in Mouse Models of Type 1 and Type 2 Diabetes *Endocrinology* 150(12): 5294–5301.
- Kim, Dong-Hou, Jae-Wan Huh, Mi Jang, Jung-Hyun Suh, Tae-Wan Kim, Jeong-Su Park, and Seung-Yong Yoon. 2012. Sitagliptin increases tau phosphorylation in the hippocampus of rats with type 2 diabetes and in primary neuron cultures *Neurobiology of disease*: 1–7.
- Kimura, Tetsuya, Shunji Yamashita, Tetsuya Fukuda, Jun-Mi Park, Miyuki Murayama, Tatsuya Mizoroki, Yuji Yoshiike, Naruhiko Sahara, and Akihiko Takashima. 2007. Hyperphosphorylated tau in parahippocampal cortex impairs place learning in aged mice expressing wild-type human tau. *The EMBO journal* 26(24): 5143–5152.
- Kitazawa, Masashi, Dan N Trinh, and Frank M LaFerla. 2008. Inflammation induces tau pathology in inclusion body myositis model via glycogen synthase kinase-3beta. *Annals of Neurology* 64(1): 15–24.
- Kitazawa, Masashi, Salvatore Oddo, Tritia R Yamasaki, Kim N Green, and Frank M LaFerla. 2005. Lipopolysaccharide-induced inflammation exacerbates tau pathology by a cyclin-dependent kinase 5-mediated pathway in a transgenic model of Alzheimer's disease. *Journal of Neuroscience* 25(39): 8843–8853.
- Kivipelto, M, E L Helkala, T Hänninen, M P Laakso, M Hallikainen, K Alhainen, H Soininen, J Tuomilehto, and A Nissinen. 2001. Midlife vascular risk factors and late-life mild cognitive impairment: A population-based study. *Neurology* 56(12): 1683–1689.
- Kivipelto, Miia, Eeva-Liisa Helkala, Mikko P Laakso, Tuomo Hänninen, Merja Hallikainen, Kari Alhainen, Susan Iivonen, Arto Mannermaa, Jaakko Tuomilehto, Aulikki Nissinen, and Hilikka Soininen. 2002. Apolipoprotein E epsilon4 allele, elevated midlife total cholesterol level, and high midlife systolic blood pressure are independent risk factors for late-life Alzheimer disease. *Annals of internal medicine* 137(3): 149–155.
- Kivipelto, Miia, Tiia Ngandu, Laura Fratiglioni, Matti Viitanen, Ingemar Kåreholt, Bengt Winblad, Eeva-Liisa Helkala, Jaakko Tuomilehto, Hilikka Soininen, and Aulikki Nissinen. 2005. Obesity and vascular risk factors at midlife and the risk of dementia and Alzheimer disease. *Archives of neurology* 62(10): 1556–1560.
- Kleppe, Rune, Aurora Martinez, Stein Ove Døskeland, and Jan Haavik. 2011. The 14-3-3 proteins in regulation of cellular metabolism. *Seminars in cell & developmental biology* 22(7): 713–719.
- Koch, Linda, F Thomas Wunderlich, Jost Seibler, A Christine Konner, Brigitte Hampel, Sigrid Irlenbusch, Georg Brabant, C Ronald Kahn, Frieder Schwenk, and Jens C Bruning.

2010. Central insulin action regulates peripheral glucose and fat metabolism in mice : 1-16.
- Kohjima, M, Y Sun, and L Chan. 2010. Increased Food Intake Leads to Obesity and Insulin Resistance in the Tg2576 Alzheimer's Disease Mouse Model *Endocrinology* 151(4): 1532–1540.
- Konner, A Christine, Ruth Janoschek, Leona Plum, Sabine D Jordan, Eva Rother, Xiaosong Ma, Chun Xu, Pablo Enriori, Brigitte Hampel, Gregory S Barsh, C Ronald Kahn, Michael A Cowley, Frances M Ashcroft, and Jens C Bruning. 2007. Insulin action in AgRP-expressing neurons is required for suppression of hepatic glucose production. *Cell Metabolism* 5(6): 438–449.
- Kovacech, B, and M Novak. 2010. Tau truncation is a productive posttranslational modification of neurofibrillary degeneration in Alzheimer's disease. *Current Alzheimer research* 7(8): 708–716.
- Köpke, E, Y C Tung, S Shaikh, A C Alonso, K Iqbal, and I Grundke-Iqbal. 1993. Microtubule-associated protein tau. Abnormal phosphorylation of a non-paired helical filament pool in Alzheimer disease. *The Journal of biological chemistry* 268(32): 24374–24384.
- Krylova, Svetlana M, Michael Musheev, Razvan Nutiu, Yingfu Li, Gloria Lee, and Sergey N Krylov. 2005. Tau protein binds single-stranded DNA sequence specifically--the proof obtained in vitro with non-equilibrium capillary electrophoresis of equilibrium mixtures. *FEBS letters* 579(6): 1371–1375.
- Ksiezak-Reding, H, W K Liu, and S H Yen. 1992. Phosphate analysis and dephosphorylation of modified tau associated with paired helical filaments. *Brain Research* 597(2): 209–219.
- Ksiezak-Reding, Hanna, Han Kyoung Pyo, Boris Feinstein, and Giulio M Pasinetti. 2003. Akt/PKB kinase phosphorylates separately Thr212 and Ser214 of tau protein in vitro. *Biochimica et biophysica acta* 1639(3): 159–168.
- Kyoung Pyo, H, E Lovati, G M Pasinetti, and H Ksiezak-Reding. 2004. Phosphorylation of tau at THR212 and SER214 in human neuronal and glial cultures: the role of AKT. *Neuroscience* 127(3): 649–658.

L

- Lambert, Jean-Charles, Simon Heath, Gael Even, Dominique Campion, Kristel Slegers, Mikko Hiltunen, Onofre Combarros, Diana Zelenika, Maria J Bullido, Béatrice Tavernier, Luc Letenneur, Karolien Bettens, Claudine Berr, Florence Pasquier, Nathalie Fiévet, Pascale Barberger-Gateau, Sebastiaan Engelborghs, Peter De Deyn, Ignacio Mateo, Ana Franck, Seppo Helisalme, Elisa Porcellini, Olivier Hanon, European Alzheimer's Disease Initiative Investigators, Marian M de Pancorbo, Corinne Lendon, Carole Dufouil, Céline Jaillard, Thierry Leveillard, Victoria Alvarez, Paolo Bosco, Michelangelo Mancuso, Francesco Panza, Benedetta Nacmias, Paola Bossù, Paola Piccardi, Giorgio Annoni, Davide Seripa, Daniela Galimberti, Didier Hannequin, Federico Licastro, Hilka Soininen, Karen Ritchie, Hélène Blanché, Jean-François Dartigues, Christophe Tzourio,

- Ivo Gut, Christine Van Broeckhoven, Annick Alperovitch, Mark Lathrop, and Philippe Amouyel. 2009. Genome-wide association study identifies variants at CLU and CR1 associated with Alzheimer's disease. *Nature genetics* 41(10): 1094–1099.
- Lambert, M P, A K Barlow, B A Chromy, C Edwards, R Freed, M Liosatos, T E Morgan, I Rozovsky, B Trommer, K L Viola, P Wals, C Zhang, C E Finch, G A Krafft, and W L Klein. 1998. Diffusible, nonfibrillar ligands derived from Abeta1-42 are potent central nervous system neurotoxins. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 95(11): 6448–6453.
- LaPointe, Nichole E, Gerardo Morfini, Gustavo Pigino, Irina N Gaisina, Alan P Kozikowski, Lester I Binder, and Scott T Brady. 2009. The amino terminus of tau inhibits kinesin-dependent axonal transport: Implications for filament toxicity *Journal of Neuroscience Research* 87(2): 440–451.
- Laurent C, Leboucher A, Troquier L, Monnet Y, Burnourf S, Figeac M, Caillierez R, Zommer N, Demeyer D, Hamdane M, Schraen-Maschke S, Hunot S, Buee L & Blum D. Inflammatory processes in the THY-Tau22 model of AD-like Tau pathology. Poster at the Society for Neuroscience, Washington DC, November 2011.
- Laurin, D, R Verreault, J Lindsay, K MacPherson, and K Rockwood. 2001. Physical activity and risk of cognitive impairment and dementia in elderly persons. *Archives of neurology* 58(3): 498–504.
- Le Corre, Sylvie, Hans W Klafki, Nikolaus Plesnila, Gabriele Hübing, Axel Obermeier, Heidi Sahagún, Barbara Monse, Pierfausto Seneci, Jada Lewis, Jason Eriksen, Cynthia Zehr, Mei Yue, Eileen McGowan, Dennis W Dickson, Michael Hutton, and Hanno M Roder. 2006. An inhibitor of tau hyperphosphorylation prevents severe motor impairments in tau transgenic mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 103(25): 9673–9678.
- Le Freche, Hélène, Jonathan Brouillette, Francisco-Jose Fernandez-Gomez, Pauline Patin, Rapha elle Caillierez, Nadège Zommer, Nicolas Sergeant, Valérie Bu ee-Scherrer, Gilles Lebuffe, David Blum, and Luc Bu ee. 2012. Tau phosphorylation and sevoflurane anesthesia: an association to postoperative cognitive impairment. *Anesthesiology* 116(4): 779–787.
- Lee, Daniel C, Justin Rizer, Maj-Linda B Selenica, Patrick Reid, Clara Kraft, Amelia Johnson, Laura Blair, Marcia N Gordon, Chad A Dickey, and Dave Morgan. 2010. LPS-induced inflammation exacerbates phospho-tau pathology in rTg4510 mice *Journal of Neuroinflammation* 7(1): 56.
- Lee, G, R L Neve, and K S Kosik. 1989. The microtubule binding domain of tau protein. *Neuron* 2(6): 1615–1624.
- Lee, G, S T Newman, D L Gard, H Band, and G Panchamoorthy. 1998. Tau interacts with src-family non-receptor tyrosine kinases. *Journal of cell science* 111 (Pt 21): 3167–3177.
- Leroy, Karelle, Kunie Ando, Vincent Laporte, Robert Dedecker, Valérie Suain, Mich ele Authelet, Céline H eraud, Nathalie Pierrot, Zehra Yilmaz, Jean-No el Octave, and Jean-Pierre Brion. 2012. Lack of Tau Proteins Rescues Neuronal Cell Death and Decreases

- Amyloidogenic Processing of APP in APP/PS1 Mice. *The American journal of pathology*.
- Letenneur, L, C Proust-Lima, A Le Gouge, J F Dartigues, and P Barberger-Gateau. 2007. Flavonoid intake and cognitive decline over a 10-year period. *American journal of epidemiology* 165(12): 1364–1371.
- Letenneur, Luc. 2004. Risk of dementia and alcohol and wine consumption: a review of recent results. *Biological research* 37(2): 189–193.
- Levy-Lahad, E, D Tsuang, and T D Bird. 1998. Recent advances in the genetics of Alzheimer's disease. *Journal of geriatric psychiatry and neurology* 11(2): 42–54.
- Li, Bin, Muhammad Omar Chohan, Inge Grundke-Iqbal, and Khalid Iqbal. 2007. Disruption of microtubule network by Alzheimer abnormally hyperphosphorylated tau. *Acta neuropathologica* 113(5): 501–511.
- Li, Yazhou, Kara B Duffy, Mary Ann Ottinger, Balmiki Ray, Jason A Bailey, Harold W Holloway, David Tweedie, Tracyann Perry, Mark P Mattson, Dimitrios Kapogiannis, Kumar Sambamurti, Debomoy K Lahiri, and Nigel H Greig. 2010. GLP-1 receptor stimulation reduces amyloid-beta peptide accumulation and cytotoxicity in cellular and animal models of Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's disease : JAD* 19(4): 1205–1219.
- Li, Z g, W Zhang, and A A F Sima. 2007. Alzheimer-Like Changes in Rat Models of Spontaneous Diabetes *Diabetes* 56(7): 1817–1824.
- Liu, Fei, Bin Li, E-Jan Tung, Inge Grundke-Iqbal, Khalid Iqbal, and Cheng-Xin Gong. 2007. Site-specific effects of tau phosphorylation on its microtubule assembly activity and self-aggregation. *The European journal of neuroscience* 26(12): 3429–3436.
- Liu, Fei, Inge Grundke-Iqbal, Khalid Iqbal, and Cheng-Xin Gong. 2005. Contributions of protein phosphatases PP1, PP2A, PP2B and PP5 to the regulation of tau phosphorylation. *The European journal of neuroscience* 22(8): 1942–1950.
- Luchsinger, Jose A. 2010. Insulin resistance, type 2 diabetes, and AD: cerebrovascular disease or neurodegeneration? *Neurology* 75(9): 758–759.
- Luchsinger, Jose A, and Richard Mayeux. 2007. Adiposity and Alzheimer's disease. *Current Alzheimer research* 4(2): 127–134.
- Luchsinger, Jose A, Ming Xin Tang, Maliha Siddiqui, Steven Shea, and Richard Mayeux. 2004. Alcohol intake and risk of dementia. *Journal of the American Geriatrics Society* 52(4): 540–546.
- Luchsinger, José Alejandro. 2008. Adiposity, hyperinsulinemia, diabetes and Alzheimer's disease: an epidemiological perspective. *European Journal of Pharmacology* 585(1): 119–129.
- Lue, L F, D G Walker, and J Rogers. 2001. Modeling microglial activation in Alzheimer's disease with human postmortem microglial cultures. *NBA* 22(6): 945–956.

Lue, L F, R Rydel, E F Brigham, L B Yang, H Hampel, G M Murphy, L Brachova, S D Yan, D G Walker, Y Shen, and J Rogers. 2001. Inflammatory repertoire of Alzheimer's disease and nondemented elderly microglia in vitro. *Glia* 35(1): 72–79.

M

Ma, Qiu-Lan, Fusheng Yang, Emily R Rosario, Oliver J Ubeda, Walter Beech, Dana J Gant, Ping Ping Chen, Beverly Hudspeth, Cory Chen, Yongle Zhao, Harry V Vinters, Sally A Frautschy, and Greg M Cole. 2009. Beta-amyloid oligomers induce phosphorylation of tau and inactivation of insulin receptor substrate via c-Jun N-terminal kinase signaling: suppression by omega-3 fatty acids and curcumin. *Journal of Neuroscience* 29(28): 9078–9089.

Maas, T. 2000. Interaction of Tau with the Neural Membrane Cortex Is Regulated by Phosphorylation at Sites That Are Modified in Paired Helical Filaments *Journal of Biological Chemistry* 275(21): 15733–15740.

Maffei, M, J Halaas, E Ravussin, R E Pratley, G H Lee, Y Zhang, H Fei, S Kim, R Lallone, and S Ranganathan. 1995. Leptin levels in human and rodent: measurement of plasma leptin and ob RNA in obese and weight-reduced subjects. *Nature medicine* 1(11): 1155–1161.

Magnani, Enrico, Juan Fan, Laura Gasparini, Matthew Golding, Meredith Williams, Giampietro Schiavo, Michel Goedert, Linda A Amos, and Maria Grazia Spillantini. 2007. Interaction of tau protein with the dynactin complex. *The EMBO journal* 26(21): 4546–4554.

Malik, Vasanti S, Barry M Popkin, George A Bray, Jean-Pierre Després, Walter C Willett, and Frank B Hu. 2010. Sugar-sweetened beverages and risk of metabolic syndrome and type 2 diabetes: a meta-analysis. *Diabetes care* 33(11): 2477–2483.

Mandelkow, Eva-Maria, and Eckhard Mandelkow. 2012. Biochemistry and cell biology of tau protein in neurofibrillary degeneration. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine* 2(7): a006247.

Mandrekar-Colucci, Shweta, and Gary E Landreth. 2011. Nuclear receptors as therapeutic targets for Alzheimer's disease *Expert Opinion on Therapeutic Targets* 15(9): 1085–1097.

Marks, J L, D Porte, W L Stahl, and D G Baskin. 1990. Localization of insulin receptor mRNA in rat brain by in situ hybridization. *Endocrinology* 127(6): 3234–3236.

Martin, Ludovic, Xenia Latypova, and Faraj Terro. 2011. Post-translational modifications of tau protein: Implications for Alzheimer's disease *Neurochemistry International* 58(4): 458–471.

Matsuzaki, T, K Sasaki, Y Tanizaki, J Hata, K Fujimi, Y Matsui, A Sekita, S O Suzuki, S Kanba, Y Kiyohara, and T Iwaki. 2010. Insulin resistance is associated with the

- pathology of Alzheimer disease: the Hisayama study. *Neurology* 75(9): 764–770.
- Mayeux, R, Y Stern, R Ottman, T K Tatemichi, M X Tang, G Maestre, C Ngai, B Tycko, and H Ginsberg. 1993. The apolipoprotein epsilon 4 allele in patients with Alzheimer's disease. *Annals of Neurology* 34(5): 752–754.
- McGeer, P L, M Schulzer, and E G McGeer. 1996. Arthritis and anti-inflammatory agents as possible protective factors for Alzheimer's disease: a review of 17 epidemiologic studies. *Neurology* 47(2): 425–432.
- McKhann, G, D Drachman, M Folstein, R Katzman, D Price, and E M Stadlan. 1984. Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: report of the NINCDS-ADRDA Work Group under the auspices of Department of Health and Human Services Task Force on Alzheimer's Disease. *Neurology* 34(7): 939–944.
- McLean, C A, R A Cherny, F W Fraser, S J Fuller, M J Smith, K Beyreuther, A I Bush, and C L Masters. 1999. Soluble pool of Abeta amyloid as a determinant of severity of neurodegeneration in Alzheimer's disease. *Annals of Neurology* 46(6): 860–866.
- McVicker, Derrick P, Lynn R Chrin, and Christopher L Berger. 2011. The nucleotide-binding state of microtubules modulates kinesin processivity and the ability of Tau to inhibit kinesin-mediated transport. *Journal of Biological Chemistry* 286(50): 42873–42880.
- Menéndez, J A, and D M Atrens. 1991. Insulin and the paraventricular hypothalamus: modulation of energy balance. *Brain Research* 555(2): 193–201.
- Mercer, J G, K M Moar, A W Ross, N Hoggard, and P J Morgan. 2000. Photoperiod regulates arcuate nucleus POMC, AGRP, and leptin receptor mRNA in Siberian hamster hypothalamus. *American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology* 278(1): R271–81.
- Mielke, John G, Changiz Taghibiglou, Lidong Liu, Yu Zhang, Zhengping Jia, Khosrow Adeli, and Yu Tian Wang. 2005. A biochemical and functional characterization of diet-induced brain insulin resistance *Journal of Neurochemistry* 93(6): 1568–1578.
- Mondragon-Rodriguez, S, E Trillaud-Doppia, A Dudilot, C Bourgeois, M Lauzon, N Leclerc, and J Boehm. 2012. Interaction of Endogenous Tau Protein with Synaptic Proteins Is Regulated by N-Methyl-D-aspartate Receptor-dependent Tau Phosphorylation *Journal of Biological Chemistry* 287(38): 32040–32053.
- Morley, John E, and William A Banks. 2010. Lipids and cognition. *Journal of Alzheimer's disease : JAD* 20(3): 737–747.
- Moroz, Natalie, Ming Tong, Lisa Longato, Haiyan Xu, and Suzanne M de la Monte. 2008. Limited Alzheimer-type neurodegeneration in experimental obesity and type 2 diabetes mellitus. *Journal of Alzheimer's disease : JAD* 15(1): 29–44.
- Ma, Qiu-Lan, Fusheng Yang, Emily R Rosario, Oliver J Ubeda, Walter Beech, Dana J Gant, Ping Ping Chen, Beverly Hudspeth, Cory Chen, Yongle Zhao, Harry V Vinters, Sally A Frautschy, and Greg M Cole. 2009. Beta-amyloid oligomers induce phosphorylation of tau and inactivation of insulin receptor substrate via c-Jun N-terminal kinase signaling: suppression by omega-3 fatty acids and curcumin. *Journal of Neuroscience* 29(28): 9078–

9089.

- Maas, T. 2000. Interaction of Tau with the Neural Membrane Cortex Is Regulated by Phosphorylation at Sites That Are Modified in Paired Helical Filaments *Journal of Biological Chemistry* 275(21): 15733–15740.
- Maffei, M, J Halaas, E Ravussin, R E Pratley, G H Lee, Y Zhang, H Fei, S Kim, R Lallone, and S Ranganathan. 1995. Leptin levels in human and rodent: measurement of plasma leptin and ob RNA in obese and weight-reduced subjects. *Nature medicine* 1(11): 1155–1161.
- Magnani, Enrico, Juan Fan, Laura Gasparini, Matthew Golding, Meredith Williams, Giampietro Schiavo, Michel Goedert, Linda A Amos, and Maria Grazia Spillantini. 2007. Interaction of tau protein with the dynactin complex. *The EMBO journal* 26(21): 4546–4554.
- Malik, Vasanti S, Barry M Popkin, George A Bray, Jean-Pierre Després, Walter C Willett, and Frank B Hu. 2010. Sugar-sweetened beverages and risk of metabolic syndrome and type 2 diabetes: a meta-analysis. *Diabetes care* 33(11): 2477–2483.
- Mandelkow, Eva-Maria, and Eckhard Mandelkow. 2012. Biochemistry and cell biology of tau protein in neurofibrillary degeneration. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine* 2(7): a006247.
- Mandrekar-Colucci, Shweta, and Gary E Landreth. 2011. Nuclear receptors as therapeutic targets for Alzheimer's disease *Expert Opinion on Therapeutic Targets* 15(9): 1085–1097.
- Marks, J L, D Porte, W L Stahl, and D G Baskin. 1990. Localization of insulin receptor mRNA in rat brain by in situ hybridization. *Endocrinology* 127(6): 3234–3236.
- Martin, Ludovic, Xenia Latypova, and Faraj Terro. 2011. Post-translational modifications of tau protein: Implications for Alzheimer's disease *Neurochemistry International* 58(4): 458–471.
- Matsuzaki, T, K Sasaki, Y Tanizaki, J Hata, K Fujimi, Y Matsui, A Sekita, S O Suzuki, S Kanba, Y Kiyohara, and T Iwaki. 2010. Insulin resistance is associated with the pathology of Alzheimer disease: the Hisayama study. *Neurology* 75(9): 764–770.
- Mayeux, R, Y Stern, R Ottman, T K Tatemichi, M X Tang, G Maestre, C Ngai, B Tycko, and H Ginsberg. 1993. The apolipoprotein epsilon 4 allele in patients with Alzheimer's disease. *Annals of Neurology* 34(5): 752–754.
- McGeer, P L, M Schulzer, and E G McGeer. 1996. Arthritis and anti-inflammatory agents as possible protective factors for Alzheimer's disease: a review of 17 epidemiologic studies. *Neurology* 47(2): 425–432.
- McKhann, G, D Drachman, M Folstein, R Katzman, D Price, and E M Stadlan. 1984. Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: report of the NINCDS-ADRDA Work Group under the auspices of Department of Health and Human Services Task Force on Alzheimer's Disease. *Neurology* 34(7): 939–944.
- McLean, C A, R A Cherny, F W Fraser, S J Fuller, M J Smith, K Beyreuther, A I Bush, and C

- L Masters. 1999. Soluble pool of Abeta amyloid as a determinant of severity of neurodegeneration in Alzheimer's disease. *Annals of Neurology* 46(6): 860–866.
- McVicker, Derrick P, Lynn R Chrin, and Christopher L Berger. 2011. The nucleotide-binding state of microtubules modulates kinesin processivity and the ability of Tau to inhibit kinesin-mediated transport. *Journal of Biological Chemistry* 286(50): 42873–42880.
- Menéndez, J A, and D M Atrens. 1991. Insulin and the paraventricular hypothalamus: modulation of energy balance. *Brain Research* 555(2): 193–201.
- Mercer, J G, K M Moar, A W Ross, N Hoggard, and P J Morgan. 2000. Photoperiod regulates arcuate nucleus POMC, AGRP, and leptin receptor mRNA in Siberian hamster hypothalamus. *American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology* 278(1): R271–81.
- Mielke, John G, Changiz Taghibiglou, Lidong Liu, Yu Zhang, Zhengping Jia, Khosrow Adeli, and Yu Tian Wang. 2005. A biochemical and functional characterization of diet-induced brain insulin resistance *Journal of Neurochemistry* 93(6): 1568–1578.
- Mondragon-Rodriguez, S, E Trillaud-Doppia, A Dudilot, C Bourgeois, M Lauzon, N Leclerc, and J Boehm. 2012. Interaction of Endogenous Tau Protein with Synaptic Proteins Is Regulated by N-Methyl-D-aspartate Receptor-dependent Tau Phosphorylation *Journal of Biological Chemistry* 287(38): 32040–32053.
- Morley, John E, and William A Banks. 2010. Lipids and cognition. *Journal of Alzheimer's disease : JAD* 20(3): 737–747.
- Moroz, Natalie, Ming Tong, Lisa Longato, Haiyan Xu, and Suzanne M de la Monte. 2008. Limited Alzheimer-type neurodegeneration in experimental obesity and type 2 diabetes mellitus. *Journal of Alzheimer's disease : JAD* 15(1): 29–44.
- Mrak, R E. 2009. Alzheimer-type neuropathological changes in morbidly obese elderly individuals. *Clinical neuropathology* 28(1): 40–45.
- Mucke, L, E Masliah, G Q Yu, M Mallory, E M Rockenstein, G Tatsuno, K Hu, D Kholodenko, K Johnson-Wood, and L McConlogue. 2000. High-level neuronal expression of abeta 1-42 in wild-type human amyloid protein precursor transgenic mice: synaptotoxicity without plaque formation. *Journal of Neuroscience* 20(11): 4050–4058.
- Mukrasch, Marco D, Stefan Bibow, Jegannath Korukottu, Sadasivam Jeganathan, Jacek Biernat, Christian Griesinger, Eckhard Mandelkow, and Markus Zweckstetter. 2009. Structural Polymorphism of 441-Residue Tau at Single Residue Resolution” ed. Gregory A Petsko. *PLoS Biology* 7(2): e34.
- Muniyappa, R, H Chen, R H Muzumdar, F H Einstein, X Yan, L Q Yue, N Barzilai, and M J Quon. 2009. Comparison between surrogate indexes of insulin sensitivity/resistance and hyperinsulinemic euglycemic clamp estimates in rats *AJP: Endocrinology and Metabolism* 297(5): E1023–E1029.
- Muniyappa, R, S Lee, H Chen, and M J Quon. 2007. Current approaches for assessing insulin sensitivity and resistance in vivo: advantages, limitations, and appropriate usage *AJP: Endocrinology and Metabolism* 294(1): E15–E26.

Murakami, N, T Hayashida, T Kuroiwa, K Nakahara, T Ida, M S Mondal, M Nakazato, M Kojima, and K Kangawa. 2002. Role for central ghrelin in food intake and secretion profile of stomach ghrelin in rats. *The Journal of endocrinology* 174(2): 283–288.

Neukamm, Sabine S, Rachel Toth, Nick Morrice, David G Campbell, Carol MacKintosh, Rainer Lehmann, Hans-Ulrich Haering, Erwin D Schleicher, and Cora Weigert. 2012. Identification of the Amino Acids 300–600 of IRS-2 as 14-3-3 Binding Region with the Importance of IGF-1/Insulin-Regulated Phosphorylation of Ser-573” ed. Victor Sanchez-Margalet. *PloS one* 7(8): e43296.

N

Neve, R L, P Harris, K S Kosik, D M Kurnit, and T A Donlon. 1986. Identification of cDNA clones for the human microtubule-associated protein tau and chromosomal localization of the genes for tau and microtubule-associated protein 2. *Brain Research* 387(3): 271–280.

Nishimura, Isao, Yufeng Yang, and Bingwei Lu. 2004. PAR-1 kinase plays an initiator role in a temporally ordered phosphorylation process that confers tau toxicity in *Drosophila*. *Cell* 116(5): 671–682.

Nourhashémi, Fati, and Bruno Vellas. 2008. Weight loss as a predictor of dementia and Alzheimer’s disease? *Expert Review of Neurotherapeutics* 8(5): 691–693.

O

Olszewski, Pawel K, Helgi B Schiöth, and Allen S Levine. 2008. Ghrelin in the CNS: from hunger to a rewarding and memorable meal? *Brain Research Reviews* 58(1): 160–170.

Omoto, M, S Suzuki, T Ikeuchi, T Ishihara, T Kobayashi, Y Tsuboi, J Ogasawara, M Koga, M Kawai, T Iwaki, and T Kanda. 2012. Autosomal dominant tauopathy with parkinsonism and central hypoventilation. *Neurology* 78(10): 762–764.

Opitz, Lennart, Gabriela Salinas-Riester, Marian Grade, Klaus Jung, Peter Jo, Georg Emons, B Michael Ghadimi, Tim Beissbarth, and Jochen Gaedcke. 2010. Impact of RNA degradation on gene expression profiling. *BMC medical genomics* 3: 36.

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(11): 1392–1397.

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(9): 1937–1942.

P

Papon, M A, N B El Khoury, F Marcouiller, C Julien, F Morin, A Bretteville, F R Petry, S Gaudreau, A Amrani, P M Mathews, S S Hebert, and E Planel. 2012. Deregulation of Protein Phosphatase 2A and Hyperphosphorylation of Protein Following Onset of Diabetes in NOD Mice *Diabetes*.

- Pei, Jin-Jing, Sabiha Khatoon, Wen-Lin An, Maria Nordlinder, Toshihisa Tanaka, Heiko Braak, Ichiro Tsujio, Masatoshi Takeda, Irina Alafuzoff, Bengt Winblad, Richard F Cowburn, Inge Grundke-Iqbal, and Khalid Iqbal. 2003. Role of protein kinase B in Alzheimer's neurofibrillary pathology. *Acta neuropathologica* 105(4): 381–392.
- Peila, Rita, Beatriz L Rodriguez, Lon R White, and Lenore J Launer. 2004. Fasting insulin and incident dementia in an elderly population of Japanese-American men. *Neurology* 63(2): 228–233.
- Pistell, Paul J, Christopher D Morrison, Sunita Gupta, Alecia G Knight, Jeffrey N Keller, Donald K Ingram, and Annadora J Bruce-Keller. 2010. Cognitive impairment following high fat diet consumption is associated with brain inflammation *Journal of Neuroimmunology* 219(1-2): 25–32.
- Planel, E, Y Tatebayashi, T Miyasaka, L Liu, L Wang, M Herman, W H Yu, J A Luchsinger, B Wadzinski, K E Duff, and A Takashima. 2007. Insulin Dysfunction Induces In Vivo Tau Hyperphosphorylation through Distinct Mechanisms *Journal of Neuroscience* 27(50): 13635–13648.
- Planel, Emmanuel, Tomohiro Miyasaka, Thomas Launey, De-Hua Chui, Kentaro Tanemura, Shinji Sato, Ohoshi Murayama, Koichi Ishiguro, Yoshitaka Tatebayashi, and Akihiko Takashima. 2004. Alterations in glucose metabolism induce hypothermia leading to tau hyperphosphorylation through differential inhibition of kinase and phosphatase activities: implications for Alzheimer's disease. *Journal of Neuroscience* 24(10): 2401–2411.
- Plaschke, Konstanze, Juergen Kopitz, Markus Siegelin, Reinhard Schliebs, Melita Salkovic-Petrisic, Peter Riederer, and Siegfried Hoyer. 2010. Insulin-resistant brain state after intracerebroventricular streptozotocin injection exacerbates Alzheimer-like changes in Tg2576 AbetaPP-overexpressing mice. *Journal of Alzheimer's disease : JAD* 19(2): 691–704.
- Polydoro, M, C M Acker, K Duff, P E Castillo, and P Davies. 2009. Age-Dependent Impairment of Cognitive and Synaptic Function in the htau Mouse Model of Tau Pathology *Journal of Neuroscience* 29(34): 10741–10749.
- Pooler, A M, A Usardi, C J Evans, K L Philpott, W Noble, and D P Hanger. 2012. Dynamic association of tau with neuronal membranes is regulated by phosphorylation *NBA* 33(2): 431.e27–431.e38.
- Pottier, C, D Hannequin, S Coutant, A Rovelet-Lecrux, D Wallon, S Rousseau, S Legallic, C Paquet, S Bombois, J Pariente, C Thomas-Anterion, A Michon, B Croisile, F Etcharry-Bouyx, C Berr, J F Dartigues, P Amouyel, H Dauchel, C Boutoleau-Bretonni egrave re, C Thauvin, T Frebourg, J C Lambert, D Champion, and PHRC GMAJ Collaborators. 2012. High frequency of potentially pathogenic SORL1 mutations in autosomal dominant early-onset Alzheimer disease *Molecular Psychiatry* 17(9): 875–879.
- Pratchayasakul, Wasana, Sasiwan Kerdphoo, Petnoi Petsophonakul, Anchalee Pongchaidecha, Nipon Chattipakorn, and Siriporn C Chattipakorn. 2011. Effects of high-fat diet on insulin receptor function in rat hippocampus and the level of neuronal corticosterone *Life Sciences* 88(13-14): 619–627.

Profenno, L A, A P Porsteinsson, and S V Faraone. 2010. Meta-Analysis of Alzheimer's Disease Risk with Obesity, Diabetes, and Related Disorders *BPS* 67(6): 505–512.

Q

Qu, Zhongsen, Zongxian Jiao, Xiaojiang Sun, Yuwu Zhao, Jinpeng Ren, and Guogang Xu. 2011. Effects of streptozotocin-induced diabetes on tau phosphorylation in the rat brain *Brain Research*: 1–7.

R

Raber, Jacob, Yadong Huang, and J Wesson Ashford. 2004. ApoE genotype accounts for the vast majority of AD risk and AD pathology. *NBA* 25(5): 641–650.

Ramachandran, A, C Snehalatha, V Vijay, K Satyavani, E Latha, and S M Haffner. 1997. Plasma leptin in non-diabetic Asian Indians: association with abdominal adiposity. *Diabetic medicine : a journal of the British Diabetic Association* 14(11): 937–941.

Rankinen, Tuomo, Aamir Zuberi, Yvon C Chagnon, S John Weisnagel, George Argypoulos, Brandon Walts, Louis Pérusse, and Claude Bouchard. 2006. The human obesity gene map: the 2005 update. *Obesity (Silver Spring, Md.)* 14(4): 529–644.

Rapoport, Mark, Hana N Dawson, Lester I Binder, Michael P Vitek, and Adriana Ferreira. 2002. Tau is essential to beta -amyloid-induced neurotoxicity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 99(9): 6364–6369.

Rask-Andersen, Mathias, Pawel K Olszewski, Allen S Levine, and Helgi B Schiöth. 2009. Molecular mechanisms underlying anorexia nervosa: Focus on human gene association studies and systems controlling food intake *Brain Research Reviews*: 1–18.

Razay, G, and G K Wilcock. 1994. Hyperinsulinaemia and Alzheimer's disease. *Age and ageing* 23(5): 396–399.

Räihä, I, J Kaprio, M Koskenvuo, T Rajala, and L Sourander. 1997. Alzheimer's disease in twins. *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomédecine & pharmacothérapie* 51(3): 101–104.

Refolo, L M, B Malester, J LaFrancois, T Bryant-Thomas, R Wang, G S Tint, K Sambamurti, K Duff, and M A Pappolla. 2000. Hypercholesterolemia accelerates the Alzheimer's amyloid pathology in a transgenic mouse model. *Neurobiology of disease* 7(4): 321–331.

Refolo, L M, M A Pappolla, J LaFrancois, B Malester, S D Schmidt, T Thomas-Bryant, G S Tint, R Wang, M Mercken, S S Petanceska, and K E Duff. 2001. A cholesterol-lowering drug reduces beta-amyloid pathology in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *Neurobiology of disease* 8(5): 890–899.

Reitz, C, T den Heijer, C van Duijn, A Hofman, and M M B Breteler. 2007. Relation between smoking and risk of dementia and Alzheimer disease: the Rotterdam Study. *Neurology* 69(10): 998–1005.

- Reitz, Christiane, Carol Brayne, and Richard Mayeux. 2011. Epidemiology of Alzheimer disease *Nature Reviews Neurology* 7(3): 137–152.
- Reynolds, C Hugh, Claire J Garwood, Selina Wray, Caroline Price, Stuart Kellie, Timothy Perera, Marketa Zvelebil, Alice Yang, Paul W Sheppard, Ian M Varndell, Diane P Hanger, and Brian H Anderton. 2008. Phosphorylation regulates tau interactions with Src homology 3 domains of phosphatidylinositol 3-kinase, phospholipase Cgamma1, Grb2, and Src family kinases. *The Journal of biological chemistry* 283(26): 18177–18186.
- Rimm, E B, P Williams, K Fosher, M Criqui, and M J Stampfer. 1999. Moderate alcohol intake and lower risk of coronary heart disease: meta-analysis of effects on lipids and haemostatic factors. *BMJ (Clinical research ed.)* 319(7224): 1523–1528.
- Roberson, E D, K Scarce-Levie, J J Palop, F Yan, I H Cheng, T Wu, H Gerstein, G Q Yu, and L Mucke. 2007. Reducing Endogenous Tau Ameliorates Amyloid -Induced Deficits in an Alzheimer's Disease Mouse Model *Science* 316(5825): 750–754.
- Roberts, Rosebud O, Yonas E Geda, David S Knopman, Ruth H Cha, Bradley F Boeve, Robert J Ivnik, Vernon Shane Pankratz, Eric G Tangalos, and Ronald C Petersen. 2010. Metabolic Syndrome, Inflammation, and Nonamnesic Mild Cognitive Impairment in Older Persons *Alzheimer Disease & Associated Disorders* 24(1): 11–18.
- Roe, Allyson D, Michael A Staup, Jordi Serrats, Paul E Sawchenko, and Robert A Rissman. 2011. Lipopolysaccharide-induced tau phosphorylation and kinase activity - modulation, but not mediation, by corticotropin-releasing factor receptors *European Journal of Neuroscience* 34(3): 448–456.
- Rogaev, E I. 1999. [Genetic factors and a polygenic model of Alzheimer's disease]. *Genetika* 35(11): 1558–1571.
- Rogers, J, J Lubner-Narod, S D Styren, and W H Civin. 1988. Expression of immune system-associated antigens by cells of the human central nervous system: relationship to the pathology of Alzheimer's disease. *NBA* 9(4): 339–349.
- Rogers, R L, J S Meyer, K McClintic, and K F Mortel. 1989. Reducing hypertriglyceridemia in elderly patients with cerebrovascular disease stabilizes or improves cognition and cerebral perfusion. *Angiology* 40(4 Pt 1): 260–269.
- Rondinone, Cristina M. 2006. Adipocyte-derived hormones, cytokines, and mediators. *Endocrine* 29(1): 81–90.
- Rosenmann, Hanna, Nikolaos Grigoriadis, Hila Eldar-Levy, Avi Avital, Lea Rozenstein, Olga Touloumi, Leah Behar, Tamir Ben-Hur, Yosefa Avraham, Eliot Berry, Menahem Segal, Irith Ginzburg, and Oded Abramsky. 2008. A novel transgenic mouse expressing double mutant tau driven by its natural promoter exhibits tauopathy characteristics. *Experimental Neurology* 212(1): 71–84.
- Rosso, Andi, Jana Mossey, and Carol F Lippa. 2008. Caffeine: neuroprotective functions in cognition and Alzheimer's disease. *American journal of Alzheimer's disease and other dementias* 23(5): 417–422.

S

- Salkovic-Petrisic, M, and S Hoyer. 2007. Central insulin resistance as a trigger for sporadic Alzheimer-like pathology: an experimental approach. *Journal of neural transmission. Supplementum* (72): 217–233.
- Salkovic-Petrisic, Melita, Jelena Osmanovic, Edna Grünblatt, Peter Riederer, and Siegfried Hoyer. 2009. Modeling sporadic Alzheimer's disease: the insulin resistant brain state generates multiple long-term morphobiological abnormalities including hyperphosphorylated tau protein and amyloid-beta. *Journal of Alzheimer's disease : JAD* 18(4): 729–750.
- Santacruz, K, J Lewis, T Spires, J Paulson, L Kotilinek, M Ingelsson, A Guimaraes, M DeTure, M Ramsden, E McGowan, C Forster, M Yue, J Orne, C Janus, A Mariash, M Kuskowski, B Hyman, M Hutton, and K H Ashe. 2005. Tau suppression in a neurodegenerative mouse model improves memory function. *Science* 309(5733): 476–481.
- Sahu, A. 2002. Resistance to the satiety action of leptin following chronic central leptin infusion is associated with the development of leptin resistance in neuropeptide Y neurones. *Journal of neuroendocrinology* 14(10): 796–804.
- Salkovic-Petrisic, M, and S Hoyer. 2007. Central insulin resistance as a trigger for sporadic Alzheimer-like pathology: an experimental approach. *Journal of neural transmission. Supplementum* (72): 217–233.
- Salkovic-Petrisic, Melita, Jelena Osmanovic, Edna Grünblatt, Peter Riederer, and Siegfried Hoyer. 2009. Modeling sporadic Alzheimer's disease: the insulin resistant brain state generates multiple long-term morphobiological abnormalities including hyperphosphorylated tau protein and amyloid-beta. *Journal of Alzheimer's disease : JAD* 18(4): 729–750.
- Santos de Oliveira, Taisa, Caio Henrique Yokoyama Mazucanti, Gilberto Fernando Xavier, and Andréa da Silva Torrão. 2010. Early and late neurodegeneration and memory disruption after intracerebroventricular streptozotocin *Physiology & behavior* 107(3): 1–13.
- Sastre, Magdalena, Jochen Walter, and Steve M Gentleman. 2008. Interactions between APP secretases and inflammatory mediators. *Journal of Neuroinflammation* 5: 25.
- Sato, Shinji, Yoshitaka Tatebayashi, Takumi Akagi, De-Hua Chui, Miyuki Murayama, Tomohiro Miyasaka, Emmanuel Planel, Kentaro Tanemura, Xiaoyan Sun, Tsutomu Hashikawa, Katsuji Yoshioka, Koichi Ishiguro, and Akihiko Takashima. 2002. Aberrant tau phosphorylation by glycogen synthase kinase-3beta and JNK3 induces oligomeric tau fibrils in COS-7 cells. *The Journal of biological chemistry* 277(44): 42060–42065.
- Scarmeas, Nikolaos, Yaakov Stern, Ming Xin Tang, Richard Mayeux, and Jose A Luchsinger. 2006. Mediterranean diet and risk for Alzheimer's disease *Annals of Neurology* 59(6): 912–921.
- Scheuner, D, C Eckman, M Jensen, X Song, M Citron, N Suzuki, T D Bird, J Hardy, M

- Hutton, W Kukull, E Larson, E Levy-Lahad, M Viitanen, E Peskind, P Poorkaj, G Schellenberg, R Tanzi, W Wasco, L Lannfelt, D Selkoe, and S Younkin. 1996. Secreted amyloid beta-protein similar to that in the senile plaques of Alzheimer's disease is increased in vivo by the presenilin 1 and 2 and APP mutations linked to familial Alzheimer's disease. *Nature medicine* 2(8): 864–870.
- Schindowski, Katharina, Alexis Bretteville, Karelle Leroy, Séverine Bégard, Jean-Pierre Brion, Malika Hamdane, and Luc Buée. 2006. Alzheimer's disease-like tau neuropathology leads to memory deficits and loss of functional synapses in a novel mutated tau transgenic mouse without any motor deficits. *The American journal of pathology* 169(2): 599–616.
- Schmechel, D E, A M Saunders, W J Strittmatter, B J Crain, C M Hulette, S H Joo, M A Pericak-Vance, D Goldgaber, and A D Roses. 1993. Increased amyloid beta-peptide deposition in cerebral cortex as a consequence of apolipoprotein E genotype in late-onset Alzheimer disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 90(20): 9649–9653.
- Schraen-Maschke, Susanna, Nicolas Sergeant, Claire-Marie Dhaenens, Stephanie Bombois, Vincent Deramecourt, Marie-Laure Caillet-Boudin, Florence Pasquier, Claude-Alain Maurage, Bernard Sablonnière, Eugene Vanmechelen, and Luc Buée. 2008. Tau as a biomarker of neurodegenerative diseases. *Biomarkers in medicine* 2(4): 363–384.
- Schubert, Markus, Derek P Brazil, Deborah J Burks, Jake A Kushner, Jing Ye, Carrie L Flint, Janet Farhang-Fallah, Pieter Dikkes, Xavier M Warot, Carlos Rio, Gabriel Corfas, and Morris F White. 2003. Insulin receptor substrate-2 deficiency impairs brain growth and promotes tau phosphorylation. *Journal of Neuroscience* 23(18): 7084–7092.
- Schubert, Markus, Dinesh Gautam, David Surjo, Kojihiko Ueki, Stephanie Baudler, Dominic Schubert, Tatsuya Kondo, Jens Alber, Norbert Galldiks, Eckehardt Küstermann, Saskia Arndt, Andreas H Jacobs, Wilhelm Krone, C Ronald Kahn, and Jens C Bruning. 2004. Role for neuronal insulin resistance in neurodegenerative diseases. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 101(9): 3100–3105.
- Schwartz, M W, A J Sipols, J L Marks, G Sanacora, J D White, A Scheurink, S E Kahn, D G Baskin, S C Woods, and D P Figlewicz. 1992. Inhibition of hypothalamic neuropeptide Y gene expression by insulin. *Endocrinology* 130(6): 3608–3616.
- Schwartz, M W, S C Woods, D Porte, R J Seeley, and D G Baskin. 2000. Central nervous system control of food intake. *Nature* 404(6778): 661–671.
- Selkoe, D J. 2000. Toward a comprehensive theory for Alzheimer's disease. Hypothesis: Alzheimer's disease is caused by the cerebral accumulation and cytotoxicity of amyloid beta-protein. *Annals of the New York Academy of Sciences* 924: 17–25.
- Selkoe, Dennis J, and Marcia B Podlisny. 2002. D ECIPHERING THE GENETIC BASIS OF ALZHEIMER'S DISEASE *Annual Review of Genomics and Human Genetics* 3(1): 67–99.
- Sengupta, A, J Kabat, M Novak, Q Wu, I Grundke-Iqbal, and K Iqbal. 1998. Phosphorylation of tau at both Thr 231 and Ser 262 is required for maximal inhibition of its binding to

- microtubules. *Archives of biochemistry and biophysics* 357(2): 299–309.
- Sergeant, N, T Bussi re, P Vermersch, J P Lejeune, and A Delacourte. 1995. Isoelectric point differentiates PHF-tau from biopsy-derived human brain tau proteins. *Neuroreport* 6(16): 2217–2220.
- Sergeant, Nicolas, Alexis Bretteville, Malika Hamdane, Marie-Laure Caillet-Boudin, Pierre Grognet, Stephanie Bombois, David Blum, André Delacourte, Florence Pasquier, Eugene Vanmechelen, Susanna Schraen-Maschke, and Luc Bu e. 2008. Biochemistry of Tau in Alzheimer's disease and related neurological disorders. *Expert review of proteomics* 5(2): 207–224.
- Sheng, J G, R E Mruk, and W S Griffin. 1997. Neuritic plaque evolution in Alzheimer's disease is accompanied by transition of activated microglia from primed to enlarged to phagocytic forms. *Acta neuropathologica* 94(1): 1–5.
- Sherrington, R, E I Rogaev, Y Liang, E A Rogaeva, G Levesque, M Ikeda, H Chi, C Lin, G Li, K Holman, T Tsuda, L Mar, J F Foncin, A C Bruni, M P Montesi, S Sorbi, I Rainero, L Pinessi, L Nee, I Chumakov, D Pollen, A Brookes, P Sanseau, R J Polinsky, W Wasco, H A Da Silva, J L Haines, M A Perkicak-Vance, R E Tanzi, A D Roses, P E Fraser, J M Rommens, and P H St George-Hyslop. 1995. Cloning of a gene bearing missense mutations in early-onset familial Alzheimer's disease. *Nature* 375(6534): 754–760.
- Shie, Feng-Shiun, Lee-Way Jin, David G Cook, James B Leverenz, and Ren e C LeBoeuf. 2002. Diet-induced hypercholesterolemia enhances brain A beta accumulation in transgenic mice. *Neuroreport* 13(4): 455–459.
- Shoelson, S E. 2006. Inflammation and insulin resistance *Journal of Clinical Investigation* 116(7): 1793–1801.
- Singh, T J, I Grundke-Iqbal, W Q Wu, V Chauhan, M Novak, E Kontzekova, and K Iqbal. 1997. Protein kinase C and calcium/calmodulin-dependent protein kinase II phosphorylate three-repeat and four-repeat tau isoforms at different rates. *Molecular and cellular biochemistry* 168(1-2): 141–148.
- Sluchanko, Nikolai N, Alim S Seit-Nebi, and Nikolai B Gusev. 2009. Phosphorylation of more than one site is required for tight interaction of human tau protein with 14-3-3  *FEBS letters* 583(17): 2739–2742.
- Sofroniew, Michael V, and Harry V Vinters. 2010. Astrocytes: biology and pathology. *Acta neuropathologica* 119(1): 7–35.
- Stampfer, Meir J, Jae Hee Kang, Jennifer Chen, Rebecca Cherry, and Francine Grodstein. 2005. Effects of moderate alcohol consumption on cognitive function in women. *The New England journal of medicine* 352(3): 245–253.
- Stanley, S. 2005. Hormonal Regulation of Food Intake *Physiological Reviews* 85(4): 1131–1158.
- Steen, Eric, Benjamin M Terry, Enrique J Rivera, Jennifer L Cannon, Thomas R Neely, Rose Tavares, X Julia Xu, Jack R Wands, and Suzanne M de la Monte. 2005. Impaired insulin and insulin-like growth factor expression and signaling mechanisms in Alzheimer's

disease--is this type 3 diabetes? *Journal of Alzheimer's disease* : JAD 7(1): 63–80.

Steinhilb, Michelle L, Dora Dias-Santagata, Tudor A Fulga, Daniel L Felch, and Mel B Feany. 2007. Tau phosphorylation sites work in concert to promote neurotoxicity in vivo. *Molecular biology of the cell* 18(12): 5060–5068.

Stern, Y, B Gurland, T K Tatemichi, M X Tang, D Wilder, and R Mayeux. 1994. Influence of education and occupation on the incidence of Alzheimer's disease. *JAMA : the journal of the American Medical Association* 271(13): 1004–1010.

Strubbe, J H, and C G Mein. 1977. Increased feeding in response to bilateral injection of insulin antibodies in the VMH. *Physiology & behavior* 19(2): 309–313.

Sultan, A, F Nesslany, M Violet, S Begard, A Loyens, S Talahari, Z Mansuroglu, D Marzin, N Sergeant, S Humez, M Colin, E Bonnefoy, L Buée, and M C Galas. 2011. Nuclear Tau, a Key Player in Neuronal DNA Protection *Journal of Biological Chemistry* 286(6): 4566–4575.

Sun, Wei, Hamid Y Qureshi, Patrick W Cafferty, Kazuya Sobue, Alka Agarwal-Mawal, Katherine D Neufeld, and Hemant K Paudel. 2002. Glycogen synthase kinase-3beta is complexed with tau protein in brain microtubules. *The Journal of biological chemistry* 277(14): 11933–11940.

Suzuki, N, T T Cheung, X D Cai, A Odaka, L Otvos, C Eckman, T E Golde, and S G Younkin. 1994. An increased percentage of long amyloid beta protein secreted by familial amyloid beta protein precursor (beta APP717) mutants. *Science* 264(5163): 1336–1340.

Szkudelski, T. 2001. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. *Physiological research / Academia Scientiarum Bohemoslovaca* 50(6): 537–546.

T

Takeda, Shuko, Naoyuki Sato, Kozue Uchio-Yamada, Kyoko Sawada, Takanori Kunieda, Daisuke Takeuchi, Hitomi Kurinami, Mitsuru Shinohara, Hiromi Rakugi, and Ryuichi Morishita. 2010. Diabetes-accelerated memory dysfunction via cerebrovascular inflammation and Aβ deposition in an Alzheimer mouse model with diabetes. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 107(15): 7036–7041.

Talbot, Konrad, Hou-Yan Wang, Hala Kazi, Li-Ying Han, Kalindi P Bakshi, Andres Stucky, Robert L Fuino, Krista R Kawaguchi, Andrew J Samoyedny, Robert S Wilson, Zoe Arvanitakis, Julie A Schneider, Bryan A Wolf, David A Bennett, John Q Trojanowski, and Steven E Arnold. 2012. Demonstrated brain insulin resistance in Alzheimer's disease patients is associated with IGF-1 resistance, IRS-1 dysregulation, and cognitive decline. *The Journal of clinical investigation* 122(4): 1316–1338.

Tamura, Hideki, Jun Kamegai, Takako Shimizu, Shinya Ishii, Hitoshi Sugihara, and Shinichi Oikawa. 2002. Ghrelin stimulates GH but not food intake in arcuate nucleus ablated rats. *Endocrinology* 143(9): 3268–3275.

Terry, R D. 2000. Cell death or synaptic loss in Alzheimer disease. *Journal of neuropathology*

- and experimental neurology* 59(12): 1118–1119.
- Thal, Dietmar R, Udo Rüb, Mario Orantes, and Heiko Braak. 2002. Phases of A beta-deposition in the human brain and its relevance for the development of AD. *Neurology* 58(12): 1791–1800.
- Takeda, Shuko, Naoyuki Sato, Kozue Uchio-Yamada, Kyoko Sawada, Takanori Kunieda, Daisuke Takeuchi, Hitomi Kurinami, Mitsuru Shinohara, Hiromi Rakugi, and Ryuichi Morishita. 2010. Diabetes-accelerated memory dysfunction via cerebrovascular inflammation and Abeta deposition in an Alzheimer mouse model with diabetes. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 107(15): 7036–7041.
- Talbot, Konrad, Hoau-Yan Wang, Hala Kazi, Li-Ying Han, Kalindi P Bakshi, Andres Stucky, Robert L Fuino, Krista R Kawaguchi, Andrew J Samoyedny, Robert S Wilson, Zoe Arvanitakis, Julie A Schneider, Bryan A Wolf, David A Bennett, John Q Trojanowski, and Steven E Arnold. 2012. Demonstrated brain insulin resistance in Alzheimer's disease patients is associated with IGF-1 resistance, IRS-1 dysregulation, and cognitive decline. *The Journal of clinical investigation* 122(4): 1316–1338.
- Tamura, Hideki, Jun Kamegai, Takako Shimizu, Shinya Ishii, Hitoshi Sugihara, and Shinichi Oikawa. 2002. Ghrelin stimulates GH but not food intake in arcuate nucleus ablated rats. *Endocrinology* 143(9): 3268–3275.
- Terry, R D. 2000. Cell death or synaptic loss in Alzheimer disease. *Journal of neuropathology and experimental neurology* 59(12): 1118–1119.
- Thal, Dietmar R, Udo Rüb, Mario Orantes, and Heiko Braak. 2002. Phases of A beta-deposition in the human brain and its relevance for the development of AD. *Neurology* 58(12): 1791–1800.
- Tomiyama, T, S Matsuyama, H Iso, T Umeda, H Takuma, K Ohnishi, K Ishibashi, R Teraoka, N Sakama, T Yamashita, K Nishitsuji, K Ito, H Shimada, M P Lambert, W L Klein, and H Mori. 2010. A Mouse Model of Amyloid Oligomers: Their Contribution to Synaptic Alteration, Abnormal Tau Phosphorylation, Glial Activation, and Neuronal Loss In Vivo *Journal of Neuroscience* 30(14): 4845–4856.
- Tong, Ming, Lisa Longato, and Suzanne M de la Monte. 2010. Early limited nitrosamine exposures exacerbate high fat diet-mediated type 2 diabetes and neurodegeneration *BMC Endocrine Disorders* 10(1): 4.
- Torrent, L, and I Ferrer. 2012. PP2A and Alzheimer disease. *Current Alzheimer research* 9(2): 248–256.
- Troquier, Laetitia, Raphaëlle Caillierez, Sylvie Burnouf, Francisco J Fernandez-Gomez, Marie-Eve Grosjean, Nadège Zommer, Nicolas Sergeant, Susanna Schraen-Maschke, David Blum, and Luc Buée. 2012. Targeting Phospho-Ser422 by Active Tau Immunotherapy in the THY Tau22 Mouse Model: A Suitable Therapeutic Approach. *Current Alzheimer research* 9(4): 397–405.
- Tucker, K L, M Meyer, and Y A Barde. 2001. Neurotrophins are required for nerve growth during development. *Nature neuroscience* 4(1): 29–37.

Tweedie, David, Ryan A Ferguson, Kelly Fishman, Kathryn A Frankola, Henriette Van Praag, Harold W Holloway, Weiming Luo, Yazhou Li, Luca Caracciolo, Isabella Russo, Sergio Barlati, Balmiki Ray, Debomoy K Lahiri, Francesca Bosetti, Nigel H Greig, and Susanna Rosi. 2012. Tumor necrosis factor- α synthesis inhibitor 3,6'-dithiothalidomide attenuates markers of inflammation, Alzheimer pathology and behavioral deficits in animal models of neuroinflammation and Alzheimer's disease ??? 9(1): 1–1.

U

Usdan, Lisa S, Lalita Khaodhiar, and Caroline M Apovian. 2008. The endocrinopathies of anorexia nervosa. *Endocrine practice : official journal of the American College of Endocrinology and the American Association of Clinical Endocrinologists* 14(8): 1055–1063.

Utton, Michelle A, Wendy J Noble, Josephine E Hill, Brian H Anderton, and Diane P Hanger. 2005. Molecular motors implicated in the axonal transport of tau and alpha-synuclein. *Journal of cell science* 118(Pt 20): 4645–4654.

V

Valente, Tony, Alejandro Gella, Xavier Fernández-Busquets, Mercedes Unzeta, and Nuria Durany. 2010. Immunohistochemical analysis of human brain suggests pathological synergism of Alzheimer's disease and diabetes mellitus. *Neurobiology of disease* 37(1): 67–76.

Van der Jeugd, Ann, Tariq Ahmed, Sylvie Burnouf, Karim Belarbi, Malika Hamdame, Marie-Eve Grosjean, Sandrine Humez, Detlef Balschun, David Blum, Luc Buée, and Rudi D'Hooge. 2011. Hippocampal tauopathy in tau transgenic mice coincides with impaired hippocampus-dependent learning and memory, and attenuated late-phase long-term depression of synaptic transmission *Neurobiology of Learning and Memory* 95(3): 296–304.

van Oijen, Marieke, Olivia I Okereke, Jae Hee Kang, Michael N Pollak, Frank B Hu, Susan E Hankinson, and Francine Grodstein. 2008. Fasting insulin levels and cognitive decline in older women without diabetes. *Neuroepidemiology* 30(3): 174–179.

Vossel, Keith A, Kai Zhang, Jens Brodbeck, Aaron C Daub, Punita Sharma, Steven Finkbeiner, Bianxiao Cui, and Lennart Mucke. 2010. Tau reduction prevents Abeta-induced defects in axonal transport. *Science* 330(6001): 198.

W

Walsh, Dominic M, and Dennis J Selkoe. 2004. Deciphering the molecular basis of memory failure in Alzheimer's disease. *Neuron* 44(1): 181–193.

Walsh, Dominic M, Igor Klyubin, Julia V Fadeeva, William K Cullen, Roger Anwyl, Michael S Wolfe, Michael J Rowan, and Dennis J Selkoe. 2002. Naturally secreted oligomers of amyloid beta protein potently inhibit hippocampal long-term potentiation in vivo. *Nature* 416(6880): 535–539.

- Wang, Jian-Zhi, Inge Grundke-Iqbal, and Khalid Iqbal. 2007. Kinases and phosphatases and tau sites involved in Alzheimer neurofibrillary degeneration. *The European journal of neuroscience* 25(1): 59–68.
- Wang, S Y, N Fukagawa, M Hossain, and W L Ooi. 1997. Longitudinal weight changes, length of survival, and energy requirements of long-term care residents with dementia. *Journal of the American Geriatrics Society* 45(10): 1189–1195.
- Weingarten, M D, A H Lockwood, S Y Hwo, and M W Kirschner. 1975. A protein factor essential for microtubule assembly. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 72(5): 1858–1862.
- Wellman, Nancy S, and Barbara Friedberg. 2002. Causes and consequences of adult obesity: health, social and economic impacts in the United States. *Asia Pacific journal of clinical nutrition* 11 Suppl 8: S705–9.
- Whitmer, R A, D R Gustafson, E Barrett-Connor, M N Haan, E P Gunderson, and K Yaffe. 2008. Central obesity and increased risk of dementia more than three decades later. *Neurology* 71(14): 1057–1064.
- Whitmer, Rachel A, Erica P Gunderson, Elizabeth Barrett-Connor, Charles P Quesenberry, and Kristine Yaffe. 2005. Obesity in middle age and future risk of dementia: a 27 year longitudinal population based study. *BMJ (Clinical research ed.)* 330(7504): 1360.
- Wischik, C M, M Novak, H C Thøgersen, P C Edwards, M J Runswick, R Jakes, J E Walker, C Milstein, M Roth, and A Klug. 1988. Isolation of a fragment of tau derived from the core of the paired helical filament of Alzheimer disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 85(12): 4506–4510.
- Wischik, C M, M Novak, P C Edwards, A Klug, W Tichelaar, and R A Crowther. 1988. Structural characterization of the core of the paired helical filament of Alzheimer disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 85(13): 4884–4888.
- Wolozin, B, W Kellman, P Ruosseau, G G Celesia, and G Siegel. 2000. Decreased prevalence of Alzheimer disease associated with 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors. *Archives of neurology* 57(10): 1439–1443.
- Woods, Stephen C, Randy J Seeley, Denis G Baskin, and Michael W Schwartz. 2003. Insulin and the blood-brain barrier. *Current pharmaceutical design* 9(10): 795–800.
- Wyss-Coray, Tony. 2006. Inflammation in Alzheimer disease: driving force, bystander or beneficial response? *Nature medicine* 12(9): 1005–1015.
- Wyss-Coray, Tony, and Joseph Rogers. 2012. Inflammation in Alzheimer disease—a brief review of the basic science and clinical literature. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine* 2(1): a006346.

X

- Xu, J, S Sato, S Okuyama, R J Swan, M T Jacobsen, E Strunk, and T Ikezu. 2010. Tau-

tubulin kinase 1 enhances prefibrillar tau aggregation and motor neuron degeneration in P301L FTDP-17 tau-mutant mice *The FASEB Journal* 24(8): 2904–2915.

Y

Yaffe, Kristine, Alka Kanaya, Karla Lindquist, Eleanor M Simonsick, Tamara Harris, Ronald I Shorr, Frances A Tylavsky, and Anne B Newman. 2004. The metabolic syndrome, inflammation, and risk of cognitive decline. *JAMA : the journal of the American Medical Association* 292(18): 2237–2242.

Yarnell, J W, C C Patterson, H F Thomas, and P M Sweetnam. 2001. Central obesity: predictive value of skinfold measurements for subsequent ischaemic heart disease at 14 years follow-up in the Caerphilly Study. *International journal of obesity and related metabolic disorders : journal of the International Association for the Study of Obesity* 25(10): 1546–1549.

Yoon, Seung-Yong, Jeong-Su Park, Jung-Eun Choi, Jin-Myung Choi, Woo-Je Lee, Seong-Who Kim, and Dong-Hou Kim. 2010. Rosiglitazone reduces tau phosphorylation via JNK inhibition in the hippocampus of rats with type 2 diabetes and tau transfected SH-SY5Y cells. *Neurobiology of disease* 40(2): 449–455.

Yoshimura, Yoshiyuki, Tatsuya Ichinose, and Takashi Yamauchi. 2003. Phosphorylation of tau protein to sites found in Alzheimer's disease brain is catalyzed by Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase II as demonstrated tandem mass spectrometry. *Neuroscience Letters* 353(3): 185–188.

Z

Zhang, Y, R Proenca, M Maffei, M Barone, L Leopold, and J M Friedman. 1994. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 372(6505): 425–432.

Zhang, Yi, Ben Zhou, Fang Zhang, Jingxia Wu, Yanan Hu, Yang Liu, and Qiwei Zhai. 2012. Amyloid- β Induces Hepatic Insulin Resistance by Activating JAK2/STAT3/SOCS-1 Signaling Pathway. *Diabetes*.

Zhao, W Q, F G De Felice, S Fernandez, H Chen, M P Lambert, M J Quon, G A Krafft, and W L Klein. 2007. Amyloid beta oligomers induce impairment of neuronal insulin receptors *The FASEB Journal* 22(1): 246–260.

ANNEXES

Les résultats de la première partie de ce travail de thèse font l'objet d'un article accepté pour publication dans le journal *Diabetes*.

Article 1 : Detrimental effects of Diet-induced obesity on Tau pathology is independent of insulin resistance in Tau transgenic mice.

Antoine Leboucher, Cyril Laurent, Francisco-José Fernandez-Gomez, Sylvie Burnouf, Laetitia Troquier, Sabiha Eddarkaoui, Dominique Demeyer, Raphaëlle Caillierez, Nadège Zommer, Kadiombo Bantubungi, Christophe Breton, Pascal Pigny, Valérie Buée-Scherrer, Bart Staels, Malika Hamdane, Anne Tailleux, Luc Buée, David Blum.

Par ailleurs, au cours de ces 3 années de thèse j'ai été amené à participer aux travaux de mes collègues portant sur l'étude du modèle THY-Tau22. Les articles 2 et 3 s'intéressent à la physiologie de la neurotrophine BDNF chez la souris THY-Tau22. Les effets bénéfiques de l'exercice physique volontaire sur les aspects physiopathologiques du modèle de souris THY-Tau22 ont fait l'objet de la publication de l'article 4.

Article 2 : NMDA receptor dysfunction contributes to impaired BDNF-induced facilitation of hippocampal synaptic transmission in a Tau transgenic model.

Sylvie Burnouf, Alberto Martire, Maxime Derisbourg, Cyril Laurent, Karim Belarbi, **Antoine Leboucher**, Francisco José Fernandez-Gomez, Laetitia Troquier, Sabiha Eddarkaoui, Marie-Eve Grosjean, Dominique Demeyer, Anne Muhr- Tailleux, Alain Buisson, Nicolas Sergeant, Malika Hamdane, Sandrine Humez, Patrizia Popoli, Luc Buée, David Blum. *Aging Cell*, 2012.

Article 3 : Hippocampal BDNF Expression in a Tau Transgenic Mouse Model.

Sylvie Burnouf, Karim Belarbi, Laetitia Troquier, Maxime Derisbourg, Dominique Demeyer, **Antoine Leboucher**, Cyril Laurent, Malika Hamdane, Luc Buée, David Blum. *Current Alzheimer Research*, 2012

Article 4 : Beneficial effects of exercise in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease-like Tau pathology

Karim Belarbi, Sylvie Burnouf, Francisco-Jose Fernandez-Gomez, Cyril Laurent, Sophie Lestavel, Martin Figeac, Audrey Sultan, Laetitia Troquier, **Antoine Leboucher**, Raphaëlle Caillierez, Marie-Eve Grosjean, Dominique Demeyer, Hélène Obriot, Ingrid Brion, Béranger Barbot, Marie-Christine Galas, Bart Staels, Sandrine Humez, Nicolas Sergeant, Susanna Schraen-Maschke, Anne Muhr-Tailleux, Malika Hamdane, Luc Buée, David Blum. *Neurobiology of disease*, 2011.

1. Leboucher, A. *et al.* Detrimental Effects of Diet-Induced Obesity on τ Pathology Is Independent of Insulin Resistance in τ Transgenic Mice. *Diabetes* (2012).doi:10.2337/db12-0866
2. Burnouf, S. *et al.* NMDA receptor dysfunction contributes to impaired BDNF-induced facilitation of hippocampal synaptic transmission in a Tau transgenic model. *Aging Cell* n/a–n/a (2012).doi:10.1111/accel.12018
3. Burnouf, S. *et al.* Hippocampal BDNF expression in a tau transgenic mouse model. *Curr Alzheimer Res* **9**, 406–410 (2012).
4. Belarbi, K. *et al.* Beneficial effects of exercise in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease-like Tau pathology. *Neurobiol. Dis.* **43**, 486–494 (2011).