

MEMOIRE
POUR LE DIPLOME D'ETUDES SPECIALISEES
D'INNOVATION PHARMACEUTIQUE ET RECHERCHE

Soutenu publiquement le 28 mai 2014

Par ALVES PIRES Claire

Conformément aux dispositions du Décret du 10 septembre 1990

tient lieu de

THESE EN VUE DU DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

**EFFET DES AGENTS ANESTHESIQUES DANS LA SURVENUE DES DEMENCES
COGNITIVES POSTOPERATOIRES ET DE LA MALADIE D'ALZHEIMER.**

Membres du jury :

Président : Decaudin Bertrand, PU-PH pharmacien, Lille

Assesseurs : Schraen-Maschke Susanna, MCU-PH pharmacien, Lille

Chillon Jean-Marc, PU-PH pharmacien, Amiens

Lefebvre Marie-Noëlle, PH pharmacien, Lille

Buée Luc, DR1 CNRS biologiste, Lille

Remerciements

Par ces quelques lignes, je tiens à remercier toutes les personnes qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce projet.

En premier lieu, je souhaite remercier vivement les personnes ayant accepté de juger ce travail : le Professeur Bertrand Decaudin, président du jury, ainsi que le Professeur Jean-Marc Chillon et le Docteur Marie-Noëlle Lefebvre, assesseurs.

Je remercie tout aussi vivement le Docteur Susanna Schraen-Maschke, qui a dirigé ce mémoire de DES, ainsi que le Docteur Luc Buée, qui m'a accueillie dans son équipe de recherche depuis maintenant 3 ans et demi, et a co-encadré ces travaux.

Merci au Docteur Jonathan Brouillette, pour m'avoir proposé cette collaboration passionnante !

Merci également au Docteur Christelle Monaca-Charley, pour ses conseils avisés, ses relectures et son écoute bienveillante.

Merci à Manon, mon rayon de soleil, pour ton courage, pour nos rires et nos fous rires, pour les Poucatrucs, et pour nos projets... Ceux que nous avons réalisés, ceux qui sont en cours et qui grandissent bien, et ceux que nous n'avons pas encore imaginés. Merci pour ton soutien de chaque instant, « Moins je ne t'aime pas non plus »...

Merci aux Poulettes, pour votre bonne humeur, votre tolérance et votre amitié sincère : Vanessa, Nadège, Sophie et Solène (docteur deux heures avant moi, félicitations !). C'est une chance de savoir que l'on peut toujours compter sur quelqu'un.

Merci à Kikou, à Chewbacca et à Pousspin. Vous êtes des frères et sœurs PARFAITS !

Merci à ma Beilbeil, ma sœur de cœur, je sais que tu es avec moi par la pensée et on se voit bientôt !

Merci à mes amis de longue date, pour avoir toujours été là, et répondre encore présent aujourd'hui, même s'il leur faut traverser le pays !!! J'ai de la chance d'avoir des amis comme vous !

Merci à ma famille, qui reste proche malgré la distance, pour votre amour et votre soutien. Je pense aujourd'hui à ceux qui ne sont plus là, j'espère que là où ils sont, ils sont fiers de moi.

Merci aussi à ma belle-famille, je suis bien tombée avec vous !

Enfin, je voudrais adresser un grand MERCI à tous les gens avec qui je suis amenée à travailler au quotidien. Mes « co-bureautiers » pour leur bonne humeur quotidienne : Elo, Max, Simon et Roby. Merci aux Docteurs Marie-Christine Galas et Valérie Buée-Scherrer, pour leur implication dans ce projet. Merci à l'ensemble de l'équipe 1 : Raph, Cédrick, Domi, Toto & Banban (mamie a parlé) et les autres, vous citer tous serait trop long, mais merci à tous, étudiants, chercheurs et ITA.

Merci également à l'équipe de l'animalerie, spécialement Delphine et Yann, sans vous les manips *in vivo* seraient impossibles !

Pour finir, je souhaite remercier la super équipe administrative du centre : Sophie, Céline, Michèle, Nathalie et Staëlle pour votre gentillesse, votre attention et votre écoute quand j'en ai eu besoin. Vous êtes géniales !

Merci !

LISTE DES ABREVIATIONS.....	3
AVANT PROPOS.....	5
I. INTRODUCTION.....	6
A. La maladie d'Alzheimer.....	6
1. Epidémiologie.....	6
2. Symptômes cliniques.....	7
3. Diagnostic.....	7
4. Physiopathologie de la MA.....	9
5. Description des lésions histopathologiques.....	10
6. Traitements pharmacologiques.....	14
7. Interventions non pharmacologiques.....	17
B. Les altérations cognitives postopératoires.....	18
1. Le syndrome confusionnel (SC).....	18
2. La dysfonction cognitive postopératoire (DCPO).....	20
C. Anesthésie générale en clinique humaine.....	21
1. Introduction.....	21
2. Principes de l'anesthésie générale.....	21
3. Molécules utilisées au cours des anesthésies générales.....	21
4. Mécanismes d'action des agents anesthésiques.....	24
II. OBJECTIFS.....	25
III. RESULTATS.....	26
A. Partie 1 – Etude bibliographique : Anesthésie, Troubles cognitifs postopératoires et Maladie d'Alzheimer.....	26
1. Etudes cliniques.....	26
2. Compréhension des mécanismes physiopathologiques sous-jacents : études expérimentales.....	27
B. Partie 2 – Recherche expérimentale : Etude des agents anesthésiques <i>in vivo</i>. ...	31
1. Contexte scientifique / Objectifs.....	31
2. Matériel et Méthodes.....	31
3. Résultats expérimentaux.....	37
4. Discussion.....	42
IV. CONCLUSION.....	43
V. REFERENCES.....	44
VI. ANNEXES.....	52
A. Annexe 1 : Mini Mental State Examination.....	52
B. Annexe 2 : Echelle IADL simplifiée.....	53

LISTE DES ABREVIATIONS

Aa : Acide aminé

ADAM : A Disintegrin And Metalloproteinase

AICD : Domaine Intracellulaire de l'APP

AMM : Autorisation de Mise sur le Marché

APOE2, APOE4 : Allèles 2 et 4 du gène de l'apolipoprotéine E

APP : Protéine Précurseur de l'Amyloïde

ARNm : ARN messenger

AVC : Accident Vasculaire Cérébral

A β : peptide β -amyloïde

BACE1 : Beta Secretase 1

BIN1 : Bridging Integrator 1 / Amphiphysine 2

Cdk5 : Cyclin-dependent kinase 5

CEC : Circulation Extra-Corporelle

CEEA : Comité d'Ethique en Expérimentation Animale

CTFs : Fragments carboxy-terminaux

DCPO : Dysfonction Cognitive PostOpératoire

DNF : Dégénérescence NeuroFibrillaire

DRS : Delirium Rating Scale

DSI : Delirium Symptom Interview

DSM-IV : Diagnostic and Statistical Manual of mental disorders – 4ème édition

FDR : Facteurs De Risques

GABA : Acide γ -aminobutyrique

GABA_A, GABA_B : Récepteurs GABA de type A ou B

GSK3 β : Glycogen Synthase Kinase 3 β

HAS : Haute Autorité de Santé

HCN (canaux) : Hyperpolarization-activated, Cyclic Nucleotide-gated

HTA : Hypertension artérielle

IADL : Echelle d'Activités Instrumentales de la vie courante

IP : Intra-Péritonéale

ISPOCD : International Study of PostOperative Cognitive Dysfunction

JNK : c-Jun N-terminal Kinase

LCR : Liquide CéphaloRachidien

MA : Maladie d'Alzheimer

MAPK : Mitogen Activated Protein Kinase

MAPT : Microtubule-Associated Protein Tau

MMSE : Mini Mental State Examination

NINCDS-ADRDA : National Institute of Neurological Disorders and Stroke-Alzheimer Disease and Related Disorders

NMDA : N-méthyl-D-aspartate

OF : Open Field

PAT : Passive Avoidance Task

PHF : Paires de Filaments appariés en Hélices

PP2A : Protein Phosphatase 2A

PS1, PS2 : Présénilines 1 et 2

SAS : Syndrome d'Apnées du Sommeil

SC : Syndrome Confusionnel

SFAR : Société Française d'Anesthésie et Réanimation

SMR : Service Médical Rendu

SNC : Système Nerveux Central

SORL1 : Sortilin-Related Receptor 1

SSPI : Salle de Surveillance Post-Interventionnelle

Tau : Tubulin-associated unit

WT : Wild Type

AVANT PROPOS

Naissance d'une histoire...

En 1907, dans son article intitulé « *Über eine eigenartige Erkrankung der Hirnrinde* » (Une maladie particulière du cortex cérébral), le docteur Aloïs Alzheimer décrivit le cas de M^{me} Auguste Deter ; patiente internée dans un asile d'aliénés à Francfort ¹.

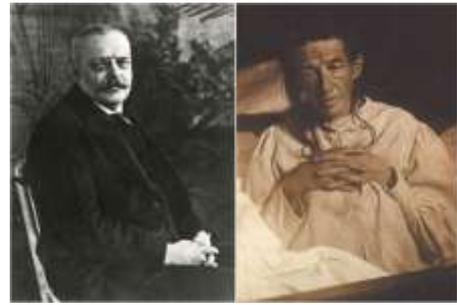


FIGURE 1 : DR ALOÏS ALZHEIMER (GAUCHE) ET SA PATIENTE AUGUSTE DETER (DROITE).

Il étudia son cas pendant plusieurs années, du 25 novembre 1901 jusqu'au décès de la patiente, le 08 avril 1906 (Fig. 1), et fit un rapport clinique d'une nouvelle forme de démence, ne permettant à l'époque aucun diagnostic de pathologie connue.

Les premiers symptômes de la patiente associaient entre autres une altération rapide de la mémoire et une désorientation spatiale. Pendant son internement, l'état de santé de M^{me} Deter se dégrada, et Aloïs Alzheimer décrivit alors une dégradation progressive des facultés cognitives, des troubles de la compréhension et du comportement (potentiellement liés à l'existence vraisemblable d'hallucinations auditives), et une désorientation spatiotemporelle. Il indiqua que la survenue de ces troubles était épisodique, alternant avec des phases de rémission partielle sur le plan clinique, au cours desquelles la patiente était calme et s'excusait de ne pas avoir terminé les tâches ménagères, tout en indiquant ne pas très bien comprendre la situation dans laquelle elle se trouvait. La pathologie avançant, de nouveaux symptômes apparurent, en parallèle de l'aggravation majeure des capacités mnésiques de la patiente. Ainsi le rapport du Dr Alzheimer indiquait la présence d'une aphasie (troubles du langage) et une aggravation de « l'imbécilité » de la patiente. Pour autant, ces différents troubles cognitifs restaient inexplicables, la patiente ne présentant pas de symptômes somatiques malgré un léger durcissement des artères radiales (réactivité des pupilles et réflexes rotuliens normaux, pas d'allongement de l'impulsion systolique, et absence d'albumine). Peu de temps avant son décès, la patiente restait alitée dans une position fœtale « complètement pathétique », elle était devenue incontinente et avait développé des escarres, malgré les soins infirmiers qui lui étaient prodigués.

Au décès de la patiente, son cerveau fut remis au Dr Alzheimer par M^r Sioli, le directeur de l'asile. Lors de l'autopsie du cerveau, Aloïs Alzheimer décrivit une atrophie cérébrale majeure, et mit en évidence au plan histologique des lésions cérébrales caractéristiques de la maladie : *[Au centre d'une cellule apparemment normale se dressent une ou plusieurs fibrilles caractérisées par leur épaisseur et leur imprégnabilité particulière]*, qu'il reproduisit (Fig. 2).

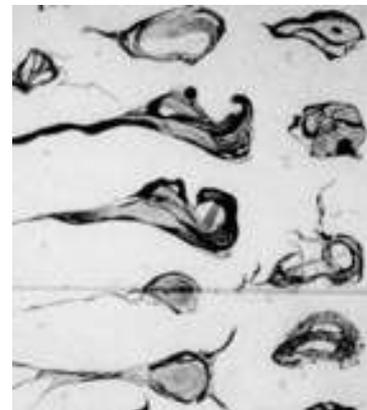


FIGURE 2 : LÉSIONS HISTOLOGIQUES OBSERVÉES PAR ALOÏS ALZHEIMER, 1907.

107 ans plus tard, de nombreuses questions subsistent au sujet de cette maladie...

I. INTRODUCTION

A. LA MALADIE D'ALZHEIMER

1. EPIDEMIOLOGIE

a) QUELQUES CHIFFRES

La maladie d'Alzheimer (MA) est une pathologie neurodégénérative à l'origine de 60% à 80% des démences. Avec environ 850 000 patients en France, et plus de 25 000 000 à travers le monde, les démences constituent un réel problème socio-économique, avec des besoins en recherche considérables, tant sur le plan diagnostique que sur le plan thérapeutique. Ces besoins seront d'autant plus importants à l'avenir, puisque l'on estime que le nombre de cas de démences aura triplé d'ici à 2040, atteignant alors près de 80 millions de personnes dans le monde^{2,3}.

Les efforts réalisés par la communauté scientifique internationale pour diagnostiquer, comprendre, prévenir et traiter cette pathologie sont en constante augmentation depuis les années 1980 (Fig. 3).

A ce jour, plus de 97500 articles relatifs à la MA ont été publiés (mots clés : « Alzheimer's disease », recherche Pubmed, mars 2014), contre environ 45000 il y a 10 ans (2004) et seulement 14600 il y a 20 ans (1994), soit une augmentation de 660% au cours des deux dernières décennies.

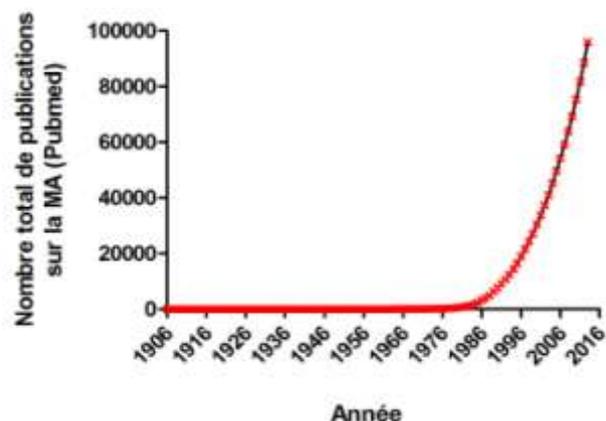


FIGURE 3 : REPRESENTATION DU NOMBRE TOTAL DE PUBLICATIONS RELATIVES A LA MALADIE D'ALZHEIMER PAR ANNEE (RECHERCHE EFFECTUEE SUR PUBMED).

La figure 3 représente le nombre total de publications traitant de la MA par année, depuis sa description en 1906.

b) FACTEURS DE RISQUES GENETIQUES

S'il existe des formes familiales de MA, pour lesquelles on retrouve des mutations autosomiques dominantes du gène de l'APP (protéine précurseur de l'amyloïde)⁴ ou des présénilines 1 et 2 (PS1, PS2)⁵, celles-ci ne représentent qu'une infime partie (moins de 1%) des cas de MA.

Les études d'association du génome à la MA ont permis d'identifier plusieurs gènes impliqués dans les processus pathologiques. Ainsi, les patients porteurs du génotype APOE4 (allèle 4 du gène de l'apolipoprotéine E) sont plus à risque de développer une MA que les autres⁶, alors que le génotype APOE2 (allèle 2 du gène de l'apolipoprotéine E) est protecteur vis-à-vis de la MA⁷.

D'autres gènes ont été identifiés⁸ (Fig. 4), comme BIN1 (Bridging Integrator 1, aussi retrouvé sous le nom d'Amphiphysine 2), ou SORL1 (Sortilin-Related Receptor 1). Ces gènes sont notamment impliqués dans la pathologie Tau et le trafic

intracellulaire de l'APP (pour BIN1 et SORL1), ainsi que la synthèse et l'élimination des peptides A β (pour SORL1).

Major GWAS studies performed.

Study	Ethnic group	Sample size	Genes identified outside APOE region
[31]	Caucasian	Stage 1: 2032 AD cases; 5328 controls Stage 2: 3978 AD cases; 3297 controls	CLU, CR1
[30]	Caucasian	Stage 1: 3941 AD cases; 7848 controls Stage 2: 2023 AD cases; 2340 controls	CLU, PICALM
[32]	Caucasian	Stage 1: 3006 AD cases; 4642 controls Stage 2: 2032 AD cases; 5328 controls Stage 3: 3333 AD cases; 6995 controls	BIN1, XOC3L2/BLOC1S3/MARK4, CLU, PICALM
[41]	Caucasian	Stage 1: 8309 AD cases; 7366 controls Stage 2: 3531 AD cases; 3565 controls	MS4A4A, CD2AP, CD33 and EPHA1, CR1, CLU, BIN1, PICALM
[40]	Caucasian	Stage 1: 6688 AD cases; 13,685 controls Stage 2: 4896 AD cases; 4903 controls Stage 3: 8286 AD cases; 21,258 controls	ABCA7, MS4A6A/MS4A4E, EPHA1, CD33, CD2AP
[54]	Caucasian	Stage 1: 17,008 AD cases; 37,646 controls Stage 2: 8572 AD cases; 11,312 controls	CR1, CD33, BIN1, CD2AP, CLU, EPHA1, PICALM, MS4, ABCA7/HLA-DRB5/HLA-DRB1, PTK2B, SORL1, SL_C24A4/RIN3, DSG2
[59]	Caribbean Hispanic	549 AD cases; 544 controls	CLU, PICALM, BIN1, CUGBP2, loci on 2p25.1; 3q25.2; 7p21.1; 10q23.1
[60]	African American	1968 AD cases; 3928 controls	ABCA7, intergenic locus on 5q35.2

FIGURE 4 : TABLE RÉSUMANT LES RÉSULTATS DES DIFFÉRENTES ÉTUDES D'ASSOCIATION DU GÉNOME À LA MALADIE D'ALZHEIMER (EXTRAITE DE LA REVUE DE REITZ *ET AL.*, 2014).

c) AUTRES FACTEURS DE RISQUES

Il apparaît aujourd'hui que la MA est une maladie multifactorielle, pour laquelle plusieurs FDR ont été identifiés, dont le premier est l'âge⁹.

Parmi les FDR identifiés, on retrouve notamment l'obésité, la consommation d'alcool, l'hypertension artérielle (HTA), l'hypercholestérolémie, les antécédents d'accident vasculaire cérébral (AVC) et le diabète de type 2¹⁰⁻¹³.

D'autres facteurs sont en revanche protecteurs vis-à-vis de la MA, comme la réserve cognitive (haut niveau d'éducation, niveau occupationnel élevé, etc.)¹⁴, le régime méditerranéen¹⁵, ou encore le fait de pratiquer une activité physique¹⁶.

Plusieurs facteurs aggravants de la MA ont aussi été décrits, comme par exemple le fait de vivre seul, d'être inactif, les changements de lieux, etc. Il apparaît aujourd'hui de plus en plus évident que les anesthésies générales peuvent également aggraver une MA existante, voire être à l'origine de l'apparition des symptômes cliniques d'une MA préexistante mais jusqu'alors silencieuse.

2. SYMPTOMES CLINIQUES

Sur le plan clinique, la MA se manifeste par un ensemble de troubles cognitifs d'évolution progressive : amnésie (perte de mémoire), aphasie (troubles du langage), apraxie (difficulté à effectuer un mouvement sur demande), et agnosie (perte de la capacité de reconnaissance). Par ailleurs, les patients atteints de la MA présentent des troubles du comportement associés, d'expression variable, pouvant aller de l'apathie et l'anxiété à l'agressivité, ou encore de la dépression aux épisodes délirants et aux hallucinations.

3. DIAGNOSTIC

A l'heure actuelle, le diagnostic de certitude de la MA n'est possible que lors de l'analyse anatomopathologique du cerveau des patients *post-mortem*, par la mise en évidence de plaques séniles et de dégénérescence neurofibrillaire *in situ* (voir chapitre suivant).

Sur le plan macroscopique, les cerveaux des patients atteints de la maladie d'Alzheimer présentent une atrophie majeure (Fig. 5).

Malgré tout, les efforts considérables sur le plan diagnostique réalisés par la communauté scientifique ont permis d'établir des critères diagnostiques de la MA de plus en plus précoces, grâce à la combinaison de plusieurs approches : évaluation du statut cognitif des patients, imagerie cérébrale et étude des biomarqueurs dans le liquide céphalorachidien (LCR).

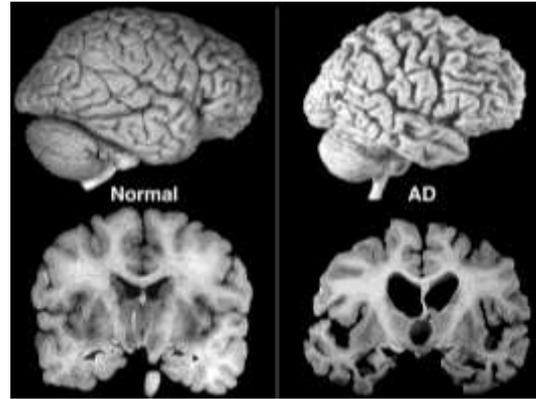


FIGURE 5 : ATROPHIE CÉRÉBRALE OBSERVÉE CHEZ UN PATIENT ATTEINT DE LA MA (DROITE) COMPARATIVEMENT À UN CERVEAU SAIN (GAUCHE).

Une révision des critères diagnostics du NINCDS-ADRDA (National Institute of Neurological Disorders and Stroke-Alzheimer Disease and Related Disorders) de 1984 a été proposée en 2007¹⁷ puis en 2011¹⁸.

Ces critères diagnostiques définissent comme probable la MA en présence :

- d'un début insidieux et progressif,
- de troubles cognitifs objectifs (évalués par des tests neuropsychologiques),
- d'une présentation clinique :
 - o soit amnésique : les troubles cognitifs affectent essentiellement la mémoire des patients, et sont associés à une atteinte d'au moins un autre domaine cognitif,
 - o soit non amnésique : les patients présentent au moins 2 atteintes parmi les 3 domaines suivants : troubles du langage, troubles visuo-constructifs et dysfonctions exécutives.

Les patients ne doivent en outre pas présenter de critère d'exclusion (pouvant expliquer la symptomatologie présente) :

- présence concomitante d'une pathologie cérébro-vasculaire,
- caractéristiques importantes d'un autre type de démence (démence à corps de Lewy, démence fronto-temporale, etc.),
- existence d'une co-morbidité non-neurologique ou utilisation de médicaments pouvant avoir un effet sur la cognition.

En outre, la probabilité de MA sera renforcée si un déclin cognitif est documenté, et/ou en présence d'une mutation génétique du gène codant pour l'APP ou de ceux codant pour les présénilines.

Enfin, le dosage de biomarqueurs dans le LCR associé aux études de neuro-imagerie fonctionnelle viennent de plus en plus conforter le diagnostic de la MA. Par ailleurs, le dosage des biomarqueurs dans le LCR a permis en 2011 de définir un nouveau concept de « MA prodromale », stade précédant celui de démence¹⁹.

Lors du diagnostic, l'atteinte cognitive des patients est appréciée grâce à l'utilisation d'une batterie de tests d'évaluation cognitive. Par la suite, le suivi cognitif est le plus souvent réalisé en utilisant le Mini Mental State Examination (MMSE – Annexe 1). Ce test est rapide et il permet d'explorer différents domaines cognitifs : orientation temporo-spatiale, apprentissage, mémorisation, attention, calcul, raisonnement, langage et praxies constructives.

L'atteinte fonctionnelle est quant à elle généralement appréciée à l'aide de l'échelle simplifiée des activités instrumentales de la vie quotidienne de Lawton (IADL simplifiée – Annexe 2), qui évalue les 4 items suivants : utilisation du téléphone, utilisation des transports, prise de médicaments et gestion des finances. Ce dépistage de la dépendance peut permettre de proposer une prise en charge adaptée à la situation du patient (aides à domicile, placement en institution, etc.).

4. PHYSIOPATHOLOGIE DE LA MA

La MA est une maladie neurodégénérative d'évolution progressive, dans laquelle l'apparition des premiers symptômes est postérieure à celle des différentes atteintes cérébrales.

Parmi celles-ci, il a été décrit depuis longtemps que les patients atteints de la MA présentent une perte d'activité cholinergique au niveau cérébral²⁰. Ces observations ont d'ailleurs été à l'origine du développement des traitements anticholinergiques utilisés dans la MA (voir chapitre sur les traitements). Par ailleurs, plusieurs études²¹ ont démontré l'existence de processus inflammatoires au niveau central (neuroinflammation), ainsi que des dysfonctions mitochondriales²² chez ces patients.

D'un point de vue histologique, la MA est caractérisée par l'existence de deux types de lésions : les dépôts amyloïdes (plaques séniles) et la dégénérescence neurofibrillaire (DNF), qu'Aloïs Alzheimer observa en 1907 (Fig. 2). Dans la MA, ces deux types de lésions vont se développer progressivement, ce qui a donné lieu à une classification des différents stades de la MA, qui a été proposée en 1991 par Braak et Braak²³ (stades de Braak – Fig. 6) :

- La pathologie amyloïde peut être classée en 3 stades : A, B et C, en fonction des zones cérébrales touchées et de la charge amyloïde (quantité de peptides β amyloïdes ($A\beta$) déposés).
- La DNF peut être classée en 6 stades : I, II, III, IV, V et VI, en fonction des régions cérébrales atteintes et de la quantité de paires de filaments appariés en hélices (PHF – voir chapitre suivant).

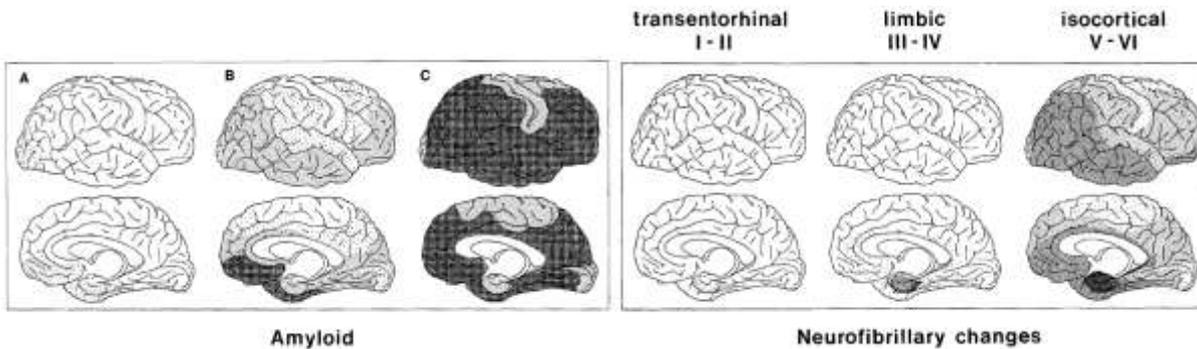


FIGURE 6 : STADES DE BRAAK PROPOSÉS EN 1991 (MODIFIÉ D'APRÈS BRAAK ET BRAAK, 1991).

Sur le plan clinique, la propagation de la DNF dans le cerveau est corrélée avec le déclin cognitif observé chez les patients atteints de la MA²⁴, et la pathologie amyloïde pourrait agir en synergie avec la DNF, permettant l'extension de cette dernière à l'ensemble des territoires corticaux²⁵.

5. DESCRIPTION DES LÉSIONS HISTOPATHOLOGIQUES

a) PATHOLOGIE AMYLOÏDE

Les dépôts amyloïdes (ou plaques séniles, Fig. 7) observés au niveau cérébral chez les patients atteints de la MA sont constitués de peptides A β , produits à partir de l'APP (pour revue : Zhang *et al.*, 2011²⁶).

Chez l'homme, le gène codant pour l'APP est situé sur le chromosome 21.

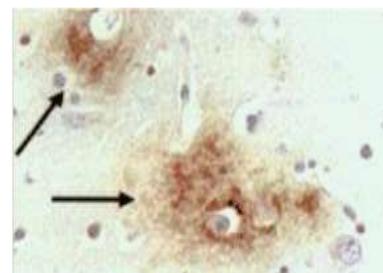


FIGURE 7 : MARQUAGE IMMUNOHISTOCHEMIE DES DÉPÔTS AMYLOÏDES, PR. MAURAGE (CHRU LILLE)

Comme nous l'avons vu précédemment, des mutations autosomiques dominantes sont connues pour ce gène, et elles sont à l'origine de certaines formes familiales de la MA.

L'APP est une protéine transmembranaire présentant une courte extrémité C-terminale cytoplasmique et une extrémité N-terminale extracellulaire beaucoup plus longue.

Trois isoformes protéiques sont produites après épissage alternatif de l'ARN messenger (ARNm), contenant alors 695, 751 ou 770 acides aminés (aa) (APP695, APP751 et APP770, respectivement). L'APP695 est exprimée de façon prédominante dans les neurones, alors que les isoformes APP751 et APP770 sont retrouvées dans la plupart des tissus.

Métabolisme de l'APP (Fig. 8) :

Physiologiquement, l'APP va subir un clivage par une α -sécrétase au niveau du domaine A β (voie non amyloïdogénique), générant l'APP α soluble (sAPP α). Parmi les α -sécrétases identifiées, on retrouve plusieurs protéases de la famille ADAM (A Disintegrin And Metalloproteinase) telles qu'ADAM10 et ADAM17.

Des perturbations d'ADAM10 ont été décrites chez des patients atteints de la MA. L'APP α soluble possède un rôle important dans la plasticité neuronale et protège les neurones des phénomènes d'excitotoxicité²⁷.

Dans la MA, l'APP va être orienté vers la voie amyloïdogénique, et son clivage par une β -sécrétase (Beta Secretase 1 : BACE1) puis une γ -sécrétase (voir ci-après) va générer le peptide A β (principalement les formes A β ₁₋₄₀ et A β ₁₋₄₂), ainsi que la forme soluble APP β (sAPP β).

Des taux élevés de BACE1 ont été décrits dans les régions cérébrales affectées par la MA²⁸. Il a de plus été montré que l'APP β soluble pouvait jouer un rôle dans la mort neuronale²⁹.

Dans les deux voies (non amyloïdogénique et amyloïdogénique), les fragments carboxy-terminaux (CTFs) de l'APP (respectivement α CTF et β CTF) vont subir un second clivage par une γ -sécrétase au niveau du domaine transmembranaire. Les γ -sécrétases sont un complexe composé pour partie des PS1 et PS2. Le clivage par une γ -sécrétase génère le fragment P83 (clivage de l'APP par une α -, puis une γ -sécrétase) ou le peptide A β (clivage de l'APP par une β -, puis une γ -sécrétase), ainsi que le domaine intracellulaire de l'APP (APP intracellular domain, AICD). Le fragment P83 est rapidement dégradé et ne semble pas posséder de fonction importante. Les domaines AICD, quant à eux, peuvent réguler la transcription de plusieurs gènes, incluant ceux codant pour l'APP³⁰, la GSK3 β ³¹ (dont le rôle sera décrit dans le chapitre suivant : pathologie Tau), BACE1 ou encore la néprilysine³² (enzyme de dégradation des peptides A β), et ils peuvent induire l'apoptose³³.

Dans la MA, le métabolisme perturbé de l'APP conduit à une accumulation des peptides amyloïdes au niveau intracellulaire (minoritaire) mais surtout extracellulaire, où ils vont alors s'oligomériser puis s'agréger pour former les plaques séniles. Les données de la littérature actuelles indiquent que les formes oligomériques seraient les plus toxiques³⁴.

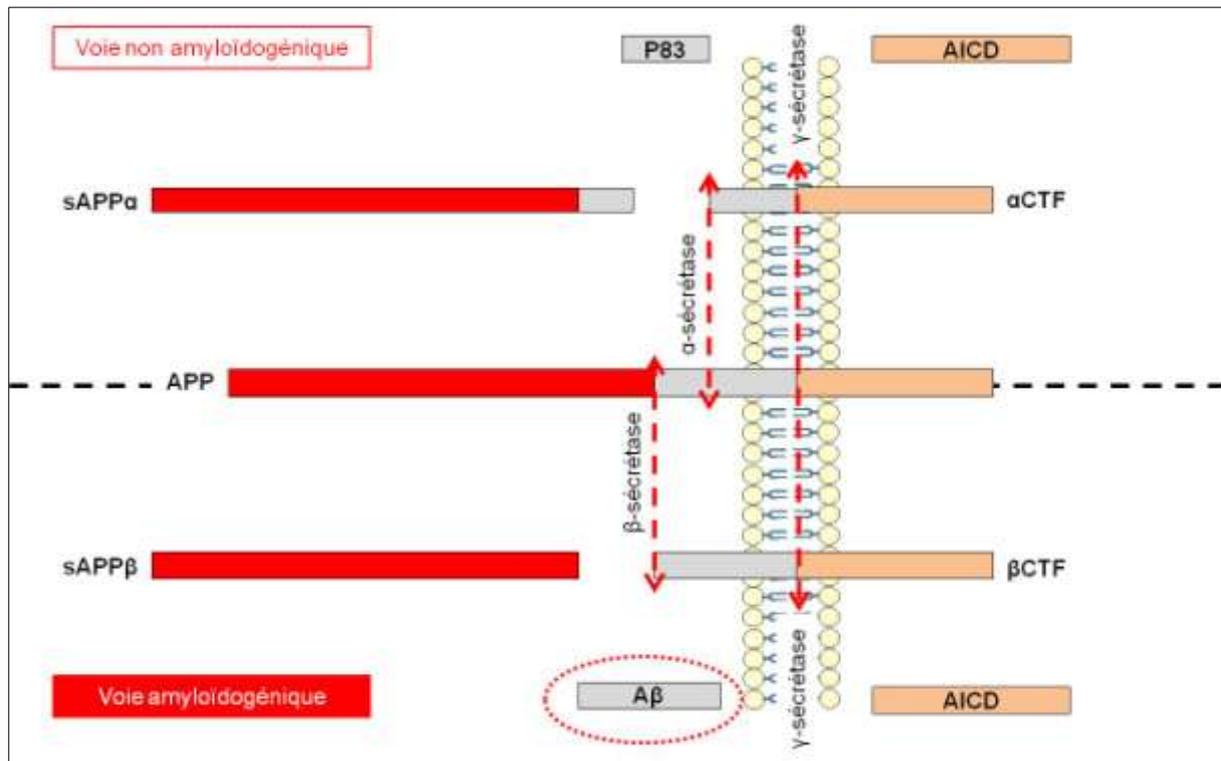


FIGURE 8: MÉTABOLISME DE L'APP. VOIES NON AMYLOÏDOGÉNIQUE (HAUT) ET AMYLOÏDOGÉNIQUE (BAS). MODIFIÉ D'APRÈS ZHANG ET AL., 2011.

b) DÉGÉNÉRESCENCE NEUROFIBRILLAIRE (PATHOLOGIE TAU)

La dégénérescence neurofibrillaire (DNF, Fig. 9) observée dans la MA correspond à une accumulation intra-neuronale de fibrilles formées de PHF.

Les PHF sont constituées par l'agrégation de la protéine Tau (Tubulin-associated unit), dont l'état de phosphorylation est altéré (pour revue : Buée et al., 2000³⁵, Sergeant et al., 2008³⁶).

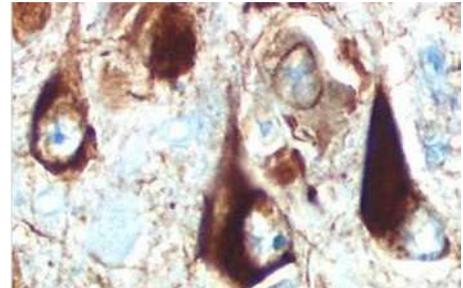


FIGURE 9 : MARQUAGE IMMUNOHISTOCHIMIQUE DE LA DNF, PR. MAURAGE (CHRU LILLE)

Il existe plusieurs pathologies dans lesquelles on retrouve une agrégation cérébrale de protéine Tau décrites chez l'homme. Ces pathologies sont regroupées sous le nom de Tauopathies. Si la principale Tauopathie est la MA, on peut également citer la maladie de Parkinson, les démences fronto-temporales (dont la maladie de Pick), les démences à corps de Lewy, la démence à grains argyrophiles ou encore la paralysie supra-nucléaire progressive³⁷.

Chez l'homme, le gène MAPT (Microtubule-Associated Protein Tau) codant pour la protéine Tau est situé sur le chromosome 17, en position 17q21.

La transcription du gène MAPT conduit à la formation d'un pré-ARNm de 16 exons qui subit un épissage alternatif (Fig. 10). Trois séquences codant pour les exons 2, 3 et 10 sont alternativement épissées et conduisent au niveau du système nerveux central (SNC) à l'expression de 6 isoformes majeures de la protéine Tau, de taille comprise entre 352 et 441 aa: $2^+3^-10^-$; $2^+3^+10^-$; $2^-3^-10^-$; $2^-3^+10^-$; $2^+3^+10^+$; $2^-3^-10^+$. L'exon 3 n'est inclus qu'en présence de l'exon 2 au niveau du cerveau humain.

L'épissage alternatif de l'exon 10 conduit à l'incorporation de 3 à 4 motifs répétés (R₁ à R₄) suivant les isoformes. Ces motifs représentent les domaines de liaison aux microtubules.

L'isoforme la plus courte (2³10⁷) est la seule qui soit retrouvée chez le fœtus, d'où son appellation d'« isoforme foétale ».

Après traduction, la protéine Tau va subir un certain nombre de modifications post-traductionnelles, les deux principales étant l'O-glycosylation et la phosphorylation. En particulier, cette dernière joue un rôle crucial à la fois en condition physiologique mais aussi en situation pathologique. Physiologiquement, l'état de phosphorylation de la protéine Tau va réguler sa liaison aux microtubules^{38,39}. Sous forme déphosphorylée, la protéine Tau est fortement liée aux microtubules, assurant ainsi leur polymérisation (stabilisation). A ce titre, la protéine Tau est un acteur important dans le maintien du transport axonal. En revanche, dans des conditions pathologiques telles que la MA, la protéine Tau va être retrouvée sous forme hyper- et anormalement phosphorylée, et elle va alors se détacher des microtubules puis s'agréger dans les neurones sous la forme des PHF⁴⁰.

L'hyperphosphorylation correspond à une phosphorylation plus importante sur des sites de phosphorylation dits « physiologiques ». Ces sites « physiologiques » correspondent à des Sérines, Thréonines ou Tyrosines retrouvées sous forme phosphorylée chez les sujets sains. Dans la MA, c'est par exemple le cas de la Sérine 202 et de la Thréonine 205 (S202/T205) ou encore des Sérines 396 et 404 (S396/S404). A l'inverse, la phosphorylation anormale correspond à une phosphorylation sur des Sérines, des Thréonines ou des Tyrosines qui ne sont pas retrouvées sous forme phosphorylée chez les sujets sains. Dans la MA, c'est par exemple le cas de la Sérine 422 (S422).

La protéine Tau possède 85 sites potentiels de phosphorylation sur son isoforme la plus longue (441 aa). A ce jour, plus de 20 protéines kinases différentes ont été décrites comme pouvant phosphoryler la protéine Tau, parmi lesquelles on retrouve la Glycogen Synthase Kinase 3 β (GSK3 β), qui constitue une cible thérapeutique (voir chapitre sur les molécules en développement), ou encore des Mitogen Activated Protein Kinases (MAPK), les c-Jun N-terminal Kinases (JNK) et la Cyclin-dependent kinase 5 (Cdk5), pour n'en citer que quelques unes. La déphosphorylation de la protéine Tau est quant à elle prise en charge par différentes phosphatases, dont la Protein Phosphatase 2A (PP2A).

A l'heure actuelle, il existe de nombreux outils immunologiques (anticorps dirigés contre différents épitopes, physiologiques ou non, phosphorylés ou déphosphorylés, de la protéine Tau) nous permettant des analyses de plus en plus fines de son état de phosphorylation.

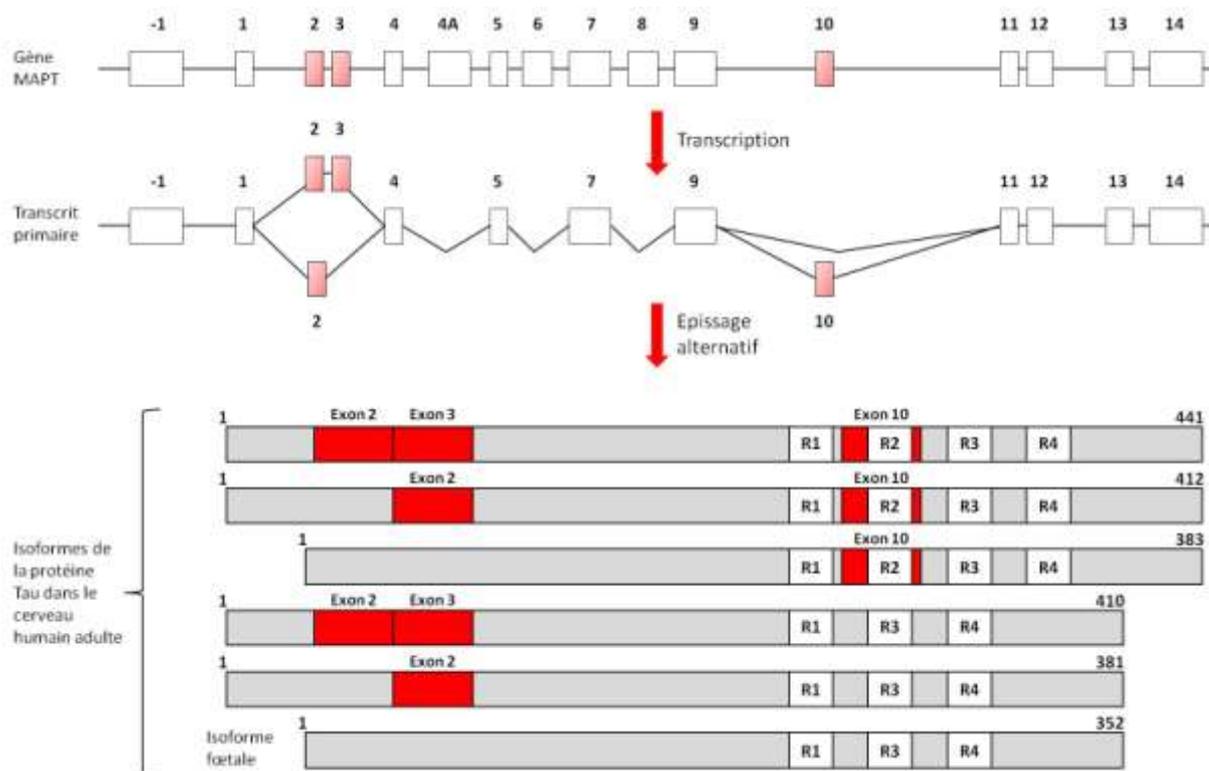


FIGURE 10 : REPRÉSENTATIONS SCHÉMATIQUES DU GÈNE CODANT POUR LA PROTÉINE TAU HUMAINE, DE SON TRANSCRIT PRIMAIRE ET DES 6 ISOFORMES PROTÉIQUES RÉSULTANT DE L'ÉPISSAGE ALTERNATIF. MODIFIÉ D'APRÈS BUÉE ET AL., 2000 ET SERGEANT ET AL., 2008.

6. TRAITEMENTS PHARMACOLOGIQUES

A l'heure actuelle, et malgré les efforts de la communauté scientifique, il n'existe toujours aucun traitement curatif ou permettant de stopper l'évolution de la MA.

On dénombre néanmoins plusieurs spécialités permettant une prise en charge de la symptomatologie, classées selon leur famille pharmacologique, ainsi que plusieurs molécules en phases d'essais cliniques, porteuses d'espoir pour les patients et leurs proches.

a) TRAITEMENTS SPECIFIQUES DISPONIBLES

(1) ANTICHOLINESTÉRASIQUES

Les anticholinestérasiques constituent la plus ancienne des familles pharmacologiques disponibles sur le marché dans le traitement de la MA. Comme leur nom l'indique, ils agissent en inhibant les cholinestérases, en particulier l'acétylcholinestérase, responsable de la dégradation de l'acétylcholine au niveau des synapses. Les molécules de cette famille permettent ainsi de ralentir la dégradation de l'acétylcholine, donc d'augmenter sa disponibilité pour les neurones, et d'améliorer la transmission cholinergique défectueuse dans la MA.

Trois molécules sont à ce jour indiquées dans la prise en charge des formes légères à modérément sévères de la MA, avec un score au MMSE compris entre 10 et 26 :

- La Rivastigmine (Exelon[®]), mise sur le marché en 1998
- Le Donepezil (Aricept[®]), mis sur le marché en 1998
- La Galantamine (Reminyl[®]), mise sur le marché en 2001.

Ces différentes spécialités permettent en général une légère amélioration des fonctions cognitives associée à une réduction de l'apathie pendant quelques mois⁴¹. En raison de leur efficacité modeste, la Commission de la transparence de la Haute Autorité de Santé (HAS) a défini le Service Médical Rendu (SMR) des anticholinestérasiques de niveau faible.

(2) ANTAGONISTES DES RECEPTEURS NMDA

La seule molécule disponible dans cette famille pharmacologique est la Mémantine, commercialisée sous le nom d'Ebixa[®] depuis 2003. Elle est indiquée dans les formes modérées à sévères de la MA, chez des patients présentant un MMSE compris entre 3 et 14.

La Mémantine est un acide aminé dérivé de l'Amantadine, antagoniste des récepteurs N-méthyl-D-aspartate (NMDA) du glutamate. Elle réduit donc l'excitotoxicité glutamatergique dans la MA.

Plusieurs études ont montré une amélioration cognitive des patients sous Mémantine pendant 6 mois⁴¹. Cette efficacité restant modeste, le SMR de la Mémantine est également de niveau faible.

(3) UTILISATION COMBINEE DES ANTICHOLINESTERASIQUES ET DE LA MEMANTINE

Bien que les dernières recommandations de la HAS (Décembre 2011 ; Maladie d'Alzheimer et maladie apparentées : diagnostic et prise en charge) concernant la prise en charge thérapeutique des patients atteints de la MA ne valident pas la prescription d'une bithérapie, plusieurs études ont montré des effets bénéfiques à associer la Mémantine à un anticholinestérasique^{42,43}.

b) TRAITEMENTS NON SPECIFIQUES

Les médecins prenant en charge des patients atteints de la MA et présentant des troubles du comportement persistants (dépression, agressivité, anxiété, insomnie, troubles de l'humeur, etc.) peuvent être amenés à prescrire différents psychotropes, généralement hors du cadre réglementaire (prescription hors de leur Autorisation de Mise sur le Marché – AMM). La seule molécule présentant une indication chez les patients atteints de la MA est la Risperidone (Risperdal[®]), dans la prise en charge de l'agressivité associée à la MA.

Dans ce contexte particulier, et en raison du faible nombre d'études sur le sujet, la HAS recommande toutefois de limiter l'utilisation des psychotropes chez ces patients et d'établir des prescriptions les plus courtes possibles (Mai 2009 ; Maladie d'Alzheimer et maladies apparentées : prise en charge des troubles du comportement perturbateurs).

c) MOLECULES EN DEVELOPPEMENT

A l'heure actuelle, des dizaines de molécules font l'objet d'essais cliniques pour le traitement de la MA⁴⁴. L'idée de cette section n'est pas d'établir une liste exhaustive des différentes molécules, mais plutôt de décrire les différentes pistes thérapeutiques actuelles.

(1) THERAPEUTIQUES ANTI-AMYLOÏDE

De nombreuses molécules visant à ralentir ou stopper le développement des plaques séniles, ainsi qu'à éliminer les lésions amyloïdes déjà existantes, sont en cours de développement⁴⁴. Leurs modes d'action sont de :

- Diminuer la synthèse du peptide A β , en inhibant la voie amyloïdogénique (inhibition des β -sécrétases (BACE1), inhibition ou modulation des γ -sécrétases), ou en favorisant la voie non-amyloïdogénique (activation des α -sécrétases).
- Prévenir l'agrégation du peptide A β , grâce à des molécules agissant soit : en se liant aux monomères de peptides A β , empêchant leur oligomérisation et, par conséquent, leur agrégation, ou bien : en neutralisant la toxicité des oligomères déjà existants.
- Éliminer le peptide A β , par immunothérapie active ou passive.
 - o L'immunothérapie active consiste en l'administration de peptides A β , afin que l'organisme synthétise des anticorps dirigés contre ces peptides, permettant ainsi leur élimination. Les premiers essais vaccinaux chez l'homme avaient entraîné le développement d'un titre important d'anticorps anti-A β , mais ils ont dû être interrompus en phase 2 des essais cliniques en raison du risque de méningo-encéphalites. De nouvelles molécules font actuellement l'objet d'essais cliniques en phase 2.
 - o L'immunothérapie passive consiste en l'administration d'anticorps monoclonaux ou polyclonaux qui vont reconnaître le peptide A β et promouvoir son élimination. Parmi les molécules testées dans ce cadre, citons le Bapineuzumab (anticorps monoclonal humanisé, dont les essais cliniques ont été interrompus en phase 3 en 2012, en raison d'un manque d'efficacité chez les patients⁴⁵) et le Solanezumab (anticorps monoclonal qui, à l'heure actuelle, est toujours en cours d'essais cliniques de phase 3, même si les données récentes semblent indiquer une inefficacité clinique, comme pour le Bapineuzumab⁴⁶). D'autres anticorps sont actuellement à l'étude.

(2) THERAPEUTIQUES ANTI-TAU

Plusieurs approches thérapeutiques dans le développement de traitements de la MA ciblent la protéine Tau⁴⁷, à des niveaux différents, notamment :

- Phosphorylation de la protéine Tau. La phosphorylation des protéines est régulée par l'activité des kinases et celle des phosphatases, et ce type de modification post-traductionnelle est le plus affecté dans les Tauopathies. Aussi, l'inhibition des kinases et/ou l'activation des phosphatases ayant pour cible la protéine Tau constitue une cible thérapeutique intéressante dans le traitement de la MA⁴⁸. L'une des kinases les plus importantes est la GSK3, qui peut être inhibée par le Lithium et l'Acide Valproïque. Ces deux molécules peuvent réduire l'hyperphosphorylation de la protéine Tau et prévenir le développement des Tauopathies dans des modèles animaux. Elles possèdent également des propriétés neuroprotectrices. Néanmoins, leur efficacité dans

les modèles animaux⁴⁹ n'a pas été retrouvée chez l'homme, et les essais cliniques ont été interrompus en phase 2. D'autres inhibiteurs de GSK3 sont actuellement en cours de développement.

- Agrégation de la protéine Tau : parmi les premières molécules testées pour bloquer l'agrégation de la protéine Tau, nous pouvons citer le bleu de méthylène, dont les essais cliniques ont été interrompus en phase 2 en raison de son inefficacité *in vivo*⁵⁰. D'autres molécules ont démontré leur efficacité pour inhiber l'agrégation de la protéine Tau *in vitro*, parmi lesquelles on retrouve deux agents anticancéreux déjà commercialisés en clinique humaine (Daunorubicine et Adriamycine), mais sans essais cliniques dans le traitement de la MA chez l'homme à l'heure actuelle.
- Immunothérapie : dans le cadre du traitement des Tauopathies, cette approche thérapeutique doit se confronter d'emblée à la difficulté de localisation – intraneuronale – des lésions Tau (DNF), ce qui les rend peu accessibles. Malgré tout, plusieurs études expérimentales ont démontré une efficacité des immunothérapies active et passive dans différents modèles murins de Tauopathies⁵¹⁻⁵³. A l'heure actuelle, ces études d'immunothérapie en sont encore au stade préclinique mais présentent des résultats encourageants, notamment au regard de leur efficacité sur le plan cognitif.

D'autres pistes thérapeutiques sont également à l'étude, notamment dans le but de stabiliser les microtubules⁵⁴.

(3) AUTRES THERAPEUTIQUES

Parmi les pistes thérapeutiques ne ciblant pas les lésions anatomopathologiques de la MA⁵⁵ (plaques séniles et DNF), on retrouve des études ciblant la dysfonction mitochondriale, la neuroinflammation, d'autres pour promouvoir la neurogenèse ou encore des approches diététiques (supplémentation en antioxydants et en acides gras polyinsaturés Oméga 3), cette liste n'étant pas exhaustive.

7. INTERVENTIONS NON PHARMACOLOGIQUES

La prise en charge non médicamenteuse de la MA est multidisciplinaire, et fait appel aux différents acteurs de la chaîne de soins (neurologues, gériatres, psychiatres, psychologues, kinésithérapeutes, ergothérapeutes, infirmières, orthophonistes, etc.).

A l'heure actuelle, devant le manque évident de traitements pharmacologiques, la principale prise en charge de la MA repose essentiellement sur des mesures préventives. Ainsi, il est indispensable de bien identifier et prendre en charge les comorbidités constituant des FDR de la MA pouvant être traités (HTA, hypercholestérolémie, diabète de type 2, etc.).

De même, dans la mesure du possible, les facteurs pouvant aggraver la MA doivent être évités au maximum. Ainsi, il est préférable de ne pas perturber les habitudes du patient (par exemple en déménageant) afin qu'il conserve le plus possible ses repères. Toujours dans ce contexte d'interventions préventives, il convient aujourd'hui de reconsidérer la place des anesthésies générales chez les patients atteints de la MA, en utilisant des procédures d'anesthésie plus adaptées, et avec un

contrôle optimisé des FDR périopératoires (choix des molécules utilisées, durée d'intervention réduite, hypothermie limitée, etc.)⁵⁶⁻⁵⁹.

Afin de ralentir la perte d'autonomie des patients, et ainsi d'améliorer leur qualité de vie et celle de leur entourage, des stimulations cognitives adaptées aux différents stades de la maladie et des exercices physiques peuvent être proposés.

Enfin, différentes approches telles que la musicothérapie⁶⁰ ou la lumbinothérapie pourraient avoir un effet bénéfique sur le comportement des patients, et peuvent également être envisagées chez les patients atteints de la MA.

B. LES ALTERATIONS COGNITIVES POSTOPERATOIRES

Les altérations cognitives postopératoires ont été décrites pour la première fois en 1955 dans un article publié dans le journal *The Lancet*⁶¹. Le docteur Bedford y rapportait le cas de 18 de ses patients qui, à la suite d'une anesthésie générale, avaient présenté une atteinte cognitive persistante, alors que leur statut cognitif était parfaitement normal avant l'intervention chirurgicale.

Depuis ces travaux, les études s'intéressant à ces troubles cognitifs postopératoires sont de plus en plus nombreuses, reflétant à la fois la prise de conscience du corps médical vis-à-vis de la nécessité de prise en charge de ces troubles, mais aussi l'augmentation croissante de leur survenue, liée au nombre croissant des anesthésies, et en particulier celles réalisées chez des patients de plus de 60 ans, qui concernaient en 1996 un tiers des anesthésies en France⁶². Il apparaît aujourd'hui de plus en plus évident que la survenue d'un trouble cognitif postopératoire chez les patients présentant un statut cognitif préopératoire normal est associé à un risque accru de démence⁶³.

Les altérations cognitives postopératoires peuvent être réparties en deux catégories distinctes : le Syndrome Confusionnel (SC) et la Dysfonction Cognitive PostOpératoire (DCPO – aussi appelée syndrome amnésie/démence). Dans les deux cas, peu de choses sont connues sur le plan physiopathologique. Plusieurs hypothèses sont néanmoins formulées pour expliquer ces troubles cognitifs, impliquant des mécanismes moléculaires neuro-inflammatoires, pro-apoptotiques ou encore pro-amyloïdogéniques.

1. LE SYNDROME CONFUSIONNEL (SC)

a) CHRONOLOGIE

Le SC apparaît généralement de façon brutale, le plus souvent dans les 24 à 48h postopératoires, et dans tous les cas, au décours de la première semaine postopératoire (<7 jours). Sa durée est en général de quelques jours à quelques semaines.

b) SIGNES CLINIQUES

Sur le plan clinique, les patients présentent des perturbations cognitives fluctuantes au cours de la journée, à type de déficits de mémorisation, désorientation

spatiotemporelle ou encore troubles du comportement. Des hallucinations visuelles ou auditives sont aussi fréquemment rapportées.

Le diagnostic du SC est défini dans le DSM-IV (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders – 4ème édition), et peut être réalisé grâce à l'utilisation de différents questionnaires, comme le DSI (Delirium Symptom Interview) ou encore le DRS (Delirium Rating Scale), prenant en compte les différentes fonctions cognitives affectées (orientation, agitation, mémoire, langage, etc.). De plus, la mise en évidence d'une élévation des concentrations sériques de la protéine S100B (protéine synthétisée par les astrocytes au niveau cérébral) constituerait un facteur prédictif d'un SC, et pourrait à l'avenir être utilisée à des fins diagnostiques⁶⁴.

c) PREVALENCE

On estime la prévalence moyenne du SC aux environs de 35-40%⁶⁵. Toutefois, certaines données indiquent qu'il pourrait concerner jusqu'à 52% des patients ayant bénéficié d'une chirurgie cardiaque⁶⁶, et 65% des patients ayant bénéficié d'une intervention chirurgicale orthopédique⁶⁷ (fracture de hanche). Chez les patients hospitalisés en soins intensifs, la prévalence des SC atteint 80 à 90%⁶⁸.

d) FACTEURS DE RISQUE

De nombreux FDR ont été décrits comme pouvant prédisposer les patients à un SC^{69,70}. Parmi ceux-ci, on retrouve notamment l'existence d'une atteinte cognitive préexistante⁷¹, d'une dépression, et un âge > 70 ans. D'autres facteurs peuvent accroître le risque de survenue d'un SC, tels que l'utilisation de benzodiazépines⁷², des antécédents de délire, une mauvaise qualité de sommeil, une alcoolodépendance ou encore la douleur. L'utilisation d'antalgiques opioïdes (Morphine, Fentanyl, Oxycodone, etc.) en périopératoire est quant à elle controversée. Dans certaines études, elle apparaît comme un facteur de risque du SC^{73,74}, mais dans d'autres, non⁷⁵. Dans tous les cas, elle s'avère indiscutablement être un allié précieux dans le cadre de la prise en charge de la douleur qui, elle, constitue un FDR non discutable du SC.

Le syndrome confusionnel est associé à un pronostic défavorable, avec une augmentation de la morbidité, de la durée d'hospitalisation et de la mortalité^{76,77}.

e) PREVENTION ET PRISE EN CHARGE

La prise en charge des SC repose avant tout sur la prévention (utilisation appropriée des prémédications, prévention de la douleur). Il est en effet estimé qu'un tiers des cas de SC pourraient être prévenus par une meilleure prise en charge des patients en amont de l'anesthésie, en se concentrant sur une réduction des FDR modifiables (qualité du sommeil, stratégies pharmacologiques prophylactiques plus spécifiques, etc.)⁷⁸.

Le traitement du SC (en particulier pour les formes délirantes sévères) repose sur l'utilisation d'antipsychotiques^{79,80} mais également sur des mesures non pharmacologiques⁸¹ (réorientation spatio-temporelle, adaptation des soignants aux capacités de compréhension du patient, etc.).

2. LA DYSFONCTION COGNITIVE POSTOPERATOIRE (DCPO)

a) CHRONOLOGIE

La DCPO est un trouble cognitif survenant généralement après la première semaine postopératoire (>7 jours). La DCPO évolue de manière progressive et peut être définitive.

b) SIGNES CLINIQUES

La présentation clinique de la DCPO est variable. Ses symptômes peuvent aller de l'amnésie légère (pertes de mémoire transitoires) à la démence avérée, avec altérations sévères de la personnalité et perte complète d'autonomie. Dans tous les cas, la symptomatologie est constante au cours de la journée.

Le diagnostic de la DCPO est plus complexe que celui du SC, en raison de la grande variabilité clinique qui lui est associée. Néanmoins les chercheurs de l'étude ISPOCD (International Study of Postoperative Cognitive Dysfunction) ont associé une batterie de tests permettant d'évaluer un large éventail de dimensions cognitives, telles que la mémoire, l'attention et les fonctions exécutives⁸².

c) PREVALENCE

L'une des plus grandes études sur le sujet, l'étude ISPOCD1 (<http://www.sps.ele.tue.nl/ispcd/>) a estimé la prévalence des DCPO aux alentours de 25% 7 jours après anesthésie, et une persistance après 3 mois chez 10% des patients.

d) FACTEURS DE RISQUE

L'un des premiers FDR des DCPO concerne le type de chirurgie. Ainsi, il apparaît clairement que la chirurgie cardiaque est celle la plus risquée au regard des DCPO, comme en témoignent les chiffres d'incidence plus élevés que pour les autres types de chirurgie. Ce risque majoré est notamment imputable à l'utilisation de la circulation extracorporelle (CEC) et au risque embolique qui lui est propre.

L'âge avancé et l'existence d'un déficit cognitif antérieur⁷¹ sont, comme pour le SC, des FDR de la DCPO. Parmi les autres FDR décrits, on retrouve l'hypotension, l'hypoxie, la neuro-inflammation et les infections postopératoires.

e) PRISE EN CHARGE

Comme pour le SC, la prise en charge des DCPO repose avant tout sur la prévention.

Il n'existe en revanche pas de recommandations thérapeutiques médicamenteuses spécifiques des DCPO. Il convient en règle générale de limiter l'usage des psychotropes, d'adapter la prise en charge au cas par cas et d'utiliser des mesures non pharmacologiques pour soutenir psychologiquement le patient et son entourage.

C. ANESTHESIE GENERALE EN CLINIQUE HUMAINE

1. INTRODUCTION

L'anesthésie, du grec an- (privatif) et aïesthêsis (sensibilité), se définit par la suppression momentanée, générale ou partielle, de la sensibilité.

On estime le nombre d'anesthésies générales à 9 millions chaque année en France. Le taux de mortalité imputable à l'anesthésie elle-même est de 1 cas pour 150 000 interventions.

2. PRINCIPES DE L'ANESTHESIE GENERALE

Une anesthésie générale doit assurer à la fois :

- une perte de conscience et un maintien de l'inconscience, obtenus grâce aux agents hypnotiques ;
- une analgésie, assurée par les agents morphiniques ;
- une myorelaxation, obtenue grâce aux agents myorelaxants ou curares.

L'anesthésie à proprement parler comporte 3 phases : induction, entretien et réveil.

L'induction est le plus souvent réalisée par voie intraveineuse, la voie inhalée étant moins fréquente (source Société Française d'Anesthésie et Réanimation - SFAR). Dans tous les cas, le choix du type d'induction (médicament, posologie et voie d'administration) dépend essentiellement de l'état physique du patient, et est déterminé lors de la consultation d'anesthésie (obligatoire avant toute intervention chirurgicale programmée), puis confirmé lors de la visite préanesthésique.

L'entretien se caractérise par la surveillance clinique et hémodynamique du patient, il doit faciliter le travail du chirurgien (myorelaxation) et assurer l'inconscience et l'amnésie du patient. La phase d'entretien est imprévisible et les anesthésistes doivent s'adapter en temps réel à la situation du patient et celle du chirurgien.

Enfin, le réveil doit se faire obligatoirement en salle de surveillance post-interventionnelle (SSPI), où l'on surveille notamment la récupération des fonctions vitales (respiration, circulation, conscience) et l'analgésie du patient. Si une confusion ou une agitation postopératoire sont fréquentes lors de la phase de réveil, elles peuvent en revanche constituer des indices de SC si elles persistent, d'où la nécessité de surveillance.

3. MOLECULES UTILISEES AU COURS DES ANESTHESIES GENERALES

Historiquement, les premiers agents anesthésiques utilisés furent l'Ether et le Chloroforme, dans les années 1840.

A l'heure actuelle, de nombreuses spécialités sont commercialisées, permettant aux anesthésistes réanimateurs d'optimiser les protocoles d'anesthésie en fonction du patient et du type de chirurgie, afin de réduire au maximum les risques inhérents à l'acte d'anesthésie en lui-même.

En pratique, les anesthésistes associent toujours plusieurs molécules, afin d'induire puis de maintenir chez les patients un état d'inconscience et une amnésie associés à une analgésie et une myorelaxation.

a) AGENTS ANESTHESIQUES (HYPNOTIQUES)

Les hypnotiques utilisables par voie intraveineuse sont :

- le Thiopental (anciennement commercialisé sous le nom de Pentothal[®]). Il s'agit d'un barbiturique qui a été utilisé empiriquement pendant plus de 40 ans, de sa commercialisation en 1934 jusqu'à la fin des années 1980, où sont apparus le Propofol et l'Etomidate. Il est de nos jours peu utilisé, et exclusivement en induction de l'anesthésie (jamais en entretien en raison de son accumulation importante).
- le Propofol (Diprivan[®]). Le Propofol est une molécule hypnotique d'action rapide, pouvant être utilisée chez l'adulte, mais aussi chez l'enfant et le nourrisson de plus de 1 mois. Du fait de son élimination rapide (demi-vie d'élimination moyenne de 30 min chez l'adulte), il est très utilisé en induction et entretien de l'anesthésie générale.
- l'Etomidate (Hypnomidate[®]). L'Etomidate est un hypnotique pur à bref délai d'action (30 secondes) et brève durée d'action (5 – 15 minutes) très utilisé dans l'induction de l'anesthésie générale.
- la Kétamine (anciennement commercialisée sous le nom de Kétalar[®]). La Kétamine peut être utilisée en induction et en entretien de l'anesthésie, notamment chez la femme enceinte. Elle possède, en plus de ses propriétés anesthésiantes, des propriétés analgésiques.
- l'Hydroxy-4 butyrate de sodium (Gamma-OH[®]). Il est peu utilisé, mais on le retrouve parfois en entretien de l'anesthésie.
- le Midazolam (Hypnovel[®]). Le Midazolam est une benzodiazépine utilisée en pour ses propriétés hypnotiques (induction de l'anesthésie), mais aussi amnésiantes et anxiolytiques (utilisation en prémédication). En cas de besoin, les anesthésistes peuvent administrer du Flumazénil (Anexate[®]), antagoniste des benzodiazépines, aux patients.

En plus des agents anesthésiques utilisables par voie parentérale, les anesthésistes disposent de plusieurs agents anesthésiques halogénés volatils, utilisés par inhalation. Ils sont essentiellement utilisés en induction de l'anesthésie. On retrouve l'Halothane (Halothane[®]), l'Isoflurane (Isoflurane[®]), le Sévoflurane (Sévorane[®]) et le Desflurane (Suprane[®]). Si les quatre molécules peuvent être utilisées pour l'induction de l'anesthésie, en pratique on utilise préférentiellement l'Halothane et surtout l'Isoflurane. Le Sévoflurane et le Desflurane sont déconseillés lors de l'induction en raison de leurs effets irritants. De la même façon, les quatre molécules peuvent être utilisées pour l'entretien de l'anesthésie, bien que l'Halothane soit moins utilisé en raison des risques de dépression myocardique et de troubles du rythme qu'il peut entraîner. Enfin, concernant la phase de réveil, le Desflurane et le Sévoflurane sont les plus avantageux car leur élimination plus rapide réduit le délai de réveil, en comparaison aux autres agents anesthésiques halogénés.

Enfin, le protoxyde d'azote (N₂O) est un gaz anesthésique qui possède également des propriétés analgésiques. Également connu sous le nom de « gaz hilarant » en raison de son effet euphorisant lors de l'inhalation, il est indiqué comme adjuvant de l'anesthésie générale et de l'analgésie, y compris l'analgésie lors du travail chez la femme enceinte. Il faut noter également l'utilisation possible du xénon en tant que gaz anesthésique, même si cette utilisation reste rare, notamment en raison de son coût.

b) AGENTS ANALGESIQUES

Les agents analgésiques utilisés dans l'induction et l'entretien de l'anesthésie générale sont le Fentanyl (Fentanyl[®]), le Sufentanil (Sufenta[®]), le Rémifentanil (Ultiva[®]) et l'Alfentanil (Rapifen[®]). Tous sont des dérivés morphiniques très puissants, d'action rapide (pic d'effet entre 1 et 5 minutes), et s'éliminant rapidement (demi-vie d'élimination comprise entre 9 minutes pour le Rémifentanil et 3,7 heures pour le Fentanyl).

Il existe une synergie entre les agents anesthésiques hypnotiques et les morphiniques, ce qui permet de réduire leurs posologies respectives.

Si nécessaire, en cas de dépression respiratoire majeure due aux opiacés, les anesthésistes peuvent administrer de la Naloxone (Narcan[®]), pour antagoniser l'effet des dérivés morphiniques.

Remarque : la Morphine n'est pas utilisée lors de l'anesthésie, mais elle l'est fréquemment dans le cadre de l'analgésie postopératoire.

c) AGENTS MYORELAXANTS

Les curares sont fréquemment utilisés lors des anesthésies générales pour faciliter l'intubation trachéale des patients, et ils sont indispensables dans certaines chirurgies telles que la chirurgie abdominale. Toutefois, en raison des craintes de réactions allergiques graves aux curares, certains anesthésistes préfèrent, quand c'est possible, réaliser une anesthésie sans curares. En France, la fréquence des accidents anaphylactiques liés aux curares est estimée à 1 pour 5000.

On distingue deux familles de curares :

- les curares dépolarisants : la Succinylcholine (ou Suxaméthonium – Célocurine[®]) est le seul curare dépolarisant utilisé en anesthésie. Sa durée d'action est d'environ 4 minutes, mais en raison des risques de choc anaphylactique et d'atteintes musculaires, elle n'est guère plus utilisée que pour l'anesthésie d'urgence chez le patient avec estomac plein.
- les curares non-dépolarisants : ce sont les plus utilisés en anesthésie. On retrouve dans cette famille : le Vécuronium (Norcuron[®]), le Rocuronium (Esmeron[®]), l'Atracurium (Tracrium[®]), le Cisatracurium (Nimbex[®]) et le Mivacurium (Mivacron[®]).

La décurarisation postopératoire peut être effectuée par administration de Néostigmine (Prostigmine[®]).

4. MECANISMES D'ACTION DES AGENTS ANESTHESIQUES

Bien que les mécanismes exacts par lesquels les agents anesthésiques altèrent la conscience et la mémoire demeurent mal connus, certaines cibles moléculaires et certains sites d'action anatomiques ont été identifiés pour expliquer leurs effets cliniques⁸³.

a) CIBLES MOLECULAIRES DES AGENTS ANESTHESIQUES

(1) ACTION SUR LES RECEPTEURS GABA_A

L'acide γ -aminobutyrique (GABA) est le principal neurotransmetteur inhibiteur au niveau du système nerveux central (SNC). Il peut se fixer sur deux types de récepteurs : les récepteurs GABA de type A (GABA_A) et les récepteurs GABA de type B (GABA_B).

Les récepteurs GABA_A sont ubiquitaires au niveau du SNC et retrouvés au niveau post-synaptique. Ils sont constitués de 5 sous-unités disposées autour d'un canal chlorure (Cl⁻). A l'heure actuelle, 19 sous-unités (α , β , δ , γ , etc.) au total ont été identifiées chez l'homme. Classiquement, chez les mammifères, les récepteurs GABA_A sont composés d'une sous unité α , 2 sous unités β , et 2 sous unités γ .

La fixation du GABA sur son récepteur GABA_A entraîne une entrée d'ions Cl⁻ dans la cellule, donc une hyperpolarisation membranaire du neurone post-synaptique, diminuant ainsi son excitabilité.

La plupart des agents anesthésiques disponibles ont une action au niveau de ces récepteurs. Ainsi, les anesthésiques halogénés inhalés (Isoflurane, Sévoflurane, Desflurane, Halothane) potentialiseraient la fonction des récepteurs GABA_A en augmentant l'ouverture du canal Cl⁻, tandis que la majorité agents anesthésiques intraveineux (dont le Propofol et l'Etomidate) moduleraient leur fonction en augmentant et prolongeant la fixation du GABA.

(2) ACTION SUR LES RECEPTEURS NMDA

Les récepteurs NMDA sont l'une des grandes familles de récepteurs au glutamate (avec les récepteurs AMPA et les récepteurs au kaïnate). On retrouve ces récepteurs aux niveaux pré- et post-synaptiques. Les récepteurs NMDA sont des tétramères généralement formés de 2 sous-unités NR1 et 2 sous-unités NR2 (NR2A, NR2B, NR2C ou NR2D). Il existe également des sous-unités NR3 (NR3A et NR3B) mais elles sont d'expression très restreinte. Ces récepteurs sont perméables aux ions sodium (Na⁺), potassium (K⁺) et calcium (Ca²⁺).

Les récepteurs NMDA jouent un rôle dans la plasticité synaptique et les processus mnésiques.

Les agents anesthésiques inhalés (en particulier les gaz anesthésiques : protoxyde d'azote et xénon) ainsi que la Kétamine inhiberaient les récepteurs NMDA.

(3) ACTION SUR LES CANAUX POTASSIQUES DOUBLE-PORE

Les canaux potassiques double-pore sont constitués de deux sous-unités, chacune composée de 4 segments transmembranaires et 2 boucles P. Ces canaux génèrent des courants impliqués dans la régulation de l'excitabilité cellulaire.

Il a été mis en évidence une action des agents anesthésiques sur ces canaux, en particulier en ce qui concerne l'Halothane, le xénon et le protoxyde d'azote. Ces agents anesthésiques activeraient les canaux potassiques double-pore, entraînant une augmentation de la conductance aux ions potassium (K^+), leur sortie de la cellule, une hyperpolarisation de la membrane, et donc une diminution de l'excitabilité synaptique, ainsi qu'une altération de la synchronisation neuronale.

(4) AUTRES CIBLES MOLECULAIRES

Pour finir, plusieurs études ont suggéré une action des agents anesthésiques sur les canaux HCN (hyperpolarization-activated, cyclic nucleotide-gated) et les canaux sodiques (Na^+), mais les mécanismes d'action sur ces cibles sont encore mal connus.

b) SITES D'ACTION ANATOMIQUES DES AGENTS ANESTHESIQUES

L'immobilité, l'état d'inconscience et l'amnésie engendrés par les agents anesthésiques semblent dus à leur action sur les cibles moléculaires précédemment décrites au niveau de différentes structures du SNC (pour revue : Grasshoff et al., 2005⁸⁴).

Ainsi, l'immobilité observée sous anesthésie générale (abolition des mouvements spontanés ou induits par un stimulus) serait due à un blocage des voies réflexes au niveau spinal. A ce niveau, les agents anesthésiques favoriseraient la neurotransmission inhibitrice^{85,86} (agonistes des récepteurs $GABA_A$) et/ou affaibliraient la neurotransmission excitatrice (antagonistes des récepteurs NMDA) au niveau des neurones spinaux.

De son côté, l'état d'inconscience des patients anesthésiés serait du à l'action sur les récepteurs $GABA_A$ au niveau des neurones du cortex somatosensoriel⁸⁷.

Enfin, l'amnésie serait quant à elle causée par l'action des agents anesthésiques au niveau de l'hippocampe⁸⁸ (sur des récepteurs $GABA_A$) et au niveau de l'amygdale⁸⁹ (sur des récepteurs $GABA_A$ et NMDA).

II. OBJECTIFS

Les objectifs de ces travaux de DES en pharmacie spécialité Innovation Pharmaceutique et Recherche étaient à la fois :

- d'analyser les données de la littérature sur la relation entre les anesthésies générales et la survenue de la Maladie d'Alzheimer,
- de réaliser des études *in vivo* (chez la souris) de l'effet de différents anesthésiques, dans la continuité des travaux déjà réalisés dans ce cadre au sein du laboratoire, par le Dr Hélène Le Frêche et le Dr Jonathan Brouillette, et supervisés par le Dr Luc Buée.

III. RESULTATS

A. PARTIE 1 – ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE : ANESTHESIE, TROUBLES COGNITIFS POSTOPERATOIRES ET MALADIE D'ALZHEIMER

1. ETUDES CLINIQUES

Au cours des années 1990, plusieurs études ont suggéré que l'anesthésie et la chirurgie pourraient accélérer le développement des maladies neurodégénératives, telles que la MA^{90,91} et la maladie de Parkinson⁹².

Dans une population de patients atteints de la MA, il a été montré que l'existence d'un épisode de SC était associée à une accélération du déclin cognitif⁹³.

Les études d'association de l'anesthésie générale à la MA ont montré un risque accru de développer une MA après une anesthésie générale^{91,94}. Ainsi, Bufill et ses collaborateurs⁹⁴ ont estimé le risque de développer une MA chez les patients ayant un antécédent d'anesthésie générale supérieur à celui de la population témoin sans anesthésie générale (Odds Ratio : 3,22; Intervalle de Confiance : 1.03-10.09; p < 0.05).

En 2010, Palotás et ses collaborateurs⁹⁵ ont étudié pendant 6 mois une cohorte de patients ayant bénéficié d'un pontage aorto-coronarien. Ils ont observé un déclin cognitif progressif, associé à des modifications des biomarqueurs de la MA dans le LCR des patients, 6 mois post-chirurgie (réduction significative des taux de peptides A β et augmentation significative des taux de protéine Tau).

Les ratios A β_{40} /Tau et A β_{42} /Tau dans le LCR en préopératoire seraient par ailleurs des marqueurs prédictifs des troubles cognitifs postopératoires⁹⁶. De plus, il a récemment été décrit que le ratio A β_{42} /Tau était un excellent indicateur de la MA⁹⁷.

Plusieurs essais cliniques s'intéressent d'ailleurs actuellement à l'étude des biomarqueurs sériques et/ou dans le LCR ainsi qu'au statut cognitif de diverses populations de patients (MA, autres démences, patients sans troubles cognitifs préopératoires) exposés à des agents anesthésiques (Propofol, Isoflurane, Sévoflurane, Desflurane) :

- NCT01993836 : *Markers of Alzheimers Disease and Cognitive Outcomes After Propofol or Isoflurane Anesthesia*
- NCT01640275 : *Markers of Alzheimers Disease After Propofol or Isoflurane Anesthesia*
- NCT01903421 : *Inhalational Anesthesia and Precipitation of Dementia: is There a Link?*
- NCT01870453 : *Differential Effects of Various Anesthetic Agents on Cognitive Function in Patients With Alzheimer's Disease*
- NCT01772537 : *The Effects of Anesthesia on Patients Undergoing Surgery for Repair of a Thoracoabdominal Aneurysm.*

2. COMPREHENSION DES MECANISMES PHYSIOPATHOLOGIQUES SOUS-JACENTS : ETUDES EXPERIMENTALES

Les hypothèses formulées pour expliquer le lien entre anesthésie et MA suggèrent un rôle potentiel des facteurs périopératoires tels que l'hypoxie et l'hypothermie, mais aussi une action directe des agents anesthésiques, sur le développement des plaques amyloïdes et de la DNF⁹⁸.

a) ROLE DES HYPOXIES

Le rôle des hypoxies dans les troubles cognitifs et la MA a été suggéré depuis de nombreuses années. A l'origine, les observations réalisées chez des patients présentant un antécédent d'AVC ischémique avaient montré que :

- Les antécédents d'AVC ischémiques constituent un FDR de la MA⁹⁹,
- Les lésions histopathologiques de la MA (plaques séniles et DNF) sont plus étendues chez les patients présentant une MA associée à une ischémie cérébrale¹⁰⁰.

Par ailleurs, les patients ayant présenté des épisodes hypoxiques (arythmies cardiaques, pneumonies, épilepsie, ...) ou ischémiques (AVC) prolongés semblent plus à même de développer une MA¹⁰¹.

Remarque : études expérimentales de l'effet d'un stress hypoxique sur la cognition et le développement des lésions histopathologiques de la MA.

D'un point de vue expérimental, l'utilisation de tests comportementaux a permis de mettre en évidence une atteinte mnésique dans des modèles animaux soumis à des hypoxies chroniques¹⁰² et intermittentes^{103,104}.

Afin de déterminer si le stress hypoxique pouvait impacter le développement des lésions amyloïdes au niveau cérébral (telles que retrouvées dans la MA), plusieurs études ont été réalisées, *in vitro* et *in vivo*. Ces études ont montré qu'un stress hypoxique pouvait :

- faciliter la voie amyloïdogénique^{105,106},
- inhiber la voie non-amyloïdogénique¹⁰⁷,
- réduire l'élimination du peptide A β ^{108,109}.

Néanmoins il n'existe à ce jour que quelques rares études de la pathologie Tau en conditions hypoxiques, notamment *in vivo*, et ce malgré la corrélation prouvée entre le développement de la DNF et celui des troubles cognitifs observés en clinique humaine.

Dans ce contexte scientifique, et grâce à la possibilité offerte par mon internat en pharmacie d'intégrer un laboratoire de recherche et de réaliser une thèse de sciences pendant 3 ans, nous avons pu évaluer l'effet d'un stress hypoxique *in vitro* et *in vivo* sur le développement de la DNF et la survenue des troubles cognitifs. Ces travaux ont ainsi été menés sur des lignées cellulaires et – essentiellement – sur des lignées murines sauvages et transgéniques (modèle THY-Tau22 de pathologie Tau, disponible dans le laboratoire du Dr Luc Buée) soumises à un protocole d'hypoxie intermittente (modèle de syndrome d'apnées du sommeil – SAS). Ils ont constitué la majeure partie de mes travaux expérimentaux, et feront l'objet d'une thèse spécialité

neurosciences co-encadrée par le Dr Luc Buée et le Dr Christelle Monaca-Charley (neurophysiologiste au CHRU de Lille) qui sera défendue à la fin de l'année 2014.

Ces travaux nous ont permis de mettre en évidence une atteinte mnésique sous hypoxie chez les animaux, et de relier cette atteinte mnésique à des altérations du métabolisme de la protéine Tau.

En parallèle du lien entre le SAS et la MA, ces travaux viennent ici conforter l'hypothèse du rôle des hypoxies péri-opératoires (dans un contexte d'anesthésie générale) dans la physiopathologie de la MA.

b) EFFET DES AGENTS ANESTHESIQUES SUR LA PATHOLOGIE AMYLOÏDE

(1) OLIGOMERISATION DES PEPTIDES A β

Les agents anesthésiques étudiés *in vitro* et *in vivo* sont capables de promouvoir la synthèse des peptides A β et leur oligomérisation.

Ainsi, l'Halothane et l'Isoflurane favoriseraient la formation des oligomères¹¹⁰, réduiraient les taux de monomères solubles¹¹⁰ et potentialiseraient alors la cytotoxicité amyloïde¹¹¹.

A des fortes concentrations, ces agents anesthésiques interagiraient directement avec des régions spécifiques des peptides A β , permettant leur oligomérisation^{112,113}. Des résultats similaires ont été décrits à des concentrations cliniques d'Isoflurane et de Desflurane^{113,114}.

(2) PRODUCTION DE PEPTIDES A β

Les études réalisées *in vitro* ont démontré que l'Isoflurane, le Desflurane et le Protoxyde d'azote pouvaient promouvoir la synthèse de peptides A β , et que cette potentialisation de la voie amyloïdogénique était à l'origine d'une activation des caspases 3 et d'une apoptose¹¹⁵⁻¹¹⁷.

De plus, l'apoptose elle-même peut entraîner une augmentation des taux de β - et γ -sécrétases, ayant pour conséquence une surproduction de peptides A β , perpétuant alors un cercle vicieux¹¹⁸.

In vivo, différents modèles animaux ont été soumis à des protocoles d'anesthésie, afin d'étudier l'effet des agents anesthésiques sur la pathologie amyloïde.

Ainsi, les études réalisées sur le modèle Tg2576 (modèle murin de pathologie amyloïde) ont mis en évidence une augmentation des plaques amyloïdes suite à une exposition pendant 5 jours à l'Halothane¹¹⁹.

D'autres études ont été réalisées sur le modèle transgénique Tg2576, notamment des administrations répétées d'Isoflurane, qui ont entraîné une surmortalité chez les animaux, associée à une augmentation des phénomènes apoptotiques et une agrégation des peptides amyloïdes¹²⁰.

Par ailleurs, une administration de Sévoflurane chez des souris sauvages (Wild Type – WT) entraîne une augmentation des taux de peptides A β associée à une activation des caspases 3 et une augmentation des taux de BACE (β -sécrétases)^{121,122}.

c) EFFET DES AGENTS ANESTHESIQUES SUR LA PATHOLOGIE TAU ET ROLE DE L'HYPOTHERMIE

Les études réalisées chez l'animal ont montré un puissant effet des agents anesthésiques sur la phosphorylation de la protéine Tau, potentialisant ainsi le développement de la DNF¹²³⁻¹²⁶.

Ainsi, une exposition de courte durée de souris ou de rats WT à l'isoflurane est responsable d'une hyperphosphorylation de la protéine Tau dans l'hippocampe des animaux, mais il a été démontré que cette hyperphosphorylation était en réalité la conséquence de l'hypothermie induite par l'anesthésie^{123,125-127}. En effet, dans ces études, le retour à la condition de normothermie restaure l'état de phosphorylation d'origine de la protéine Tau. Les mécanismes conduisant à cette hyperphosphorylation de la protéine Tau en situation d'hypothermie impliquent une inhibition de l'activité de la phosphatase PP2A sans activation des kinases^{123,126}. Des résultats similaires ont été observés après exposition de souris transgéniques qui expriment une isoforme de la protéine Tau humaine mutée (JNLP3, P301L¹²⁸) pendant 4 heures à l'isoflurane¹²⁹.

Remarque : Si la PP2A apparaît clairement impliquée dans l'hyperphosphorylation de la protéine Tau sous hypothermie, il faut également noter qu'une inhibition de son activité est décrite depuis plusieurs années dans la MA, et qu'elle semble être chez les patients un facteur important d'évolution de la maladie^{130,131}.

Néanmoins, une hyperphosphorylation de la protéine Tau a pu être observée avec différents agents anesthésiques (Ether, Pentobarbital, Propofol, Sévoflurane, etc.) en condition de normothermie^{125,127,132-134}, et elle serait dans ces circonstances liée à une activation de certaines protéines kinases telles que JNK ou certaines MAPK¹²⁵, et non à une inhibition de l'activité des phosphatases.

Sur le plan fonctionnel, cette hyperphosphorylation de la protéine Tau sous hypothermie entraînerait :

- chez les souris WT, une réduction de sa capacité à se lier aux microtubules et à les polymériser,
- dans un modèle transgénique murin hTau (exprimant les 6 isoformes non mutées de la protéine Tau humaine¹³⁵) et dans le modèle JNLP3, son détachement des microtubules¹²⁴.

d) EFFET DES AGENTS ANESTHESIQUES SUR LA COGNITION : ETUDES *IN VIVO*

Les études comportementales réalisées chez des animaux anesthésiés sont difficiles à recouper, en raison de la grande variabilité des protocoles (agents anesthésiques utilisés, durée d'utilisation, etc.), de l'âge et de la lignée (WT/transgénique, rats/souris). Néanmoins il apparaît qu'indépendamment de l'âge ou de la lignée des animaux, les différents agents anesthésiques étudiés dans le cadre des évaluations cognitives s'avèrent capables d'altérer la mémoire des animaux. Afin d'illustrer cela, nous proposons ici de citer différentes études en fonction de l'âge des animaux testés.

(1) ANIMAUX JEUNES

En 2003, Jevtovic-Todorovic et ses collaborateurs¹³⁶ ont exposé des rats WT âgés de 7 jours à un mélange Midazolam + Protoxyde d'azote + Isoflurane pendant 6 heures, en maintenant les animaux en condition de normothermie. Les capacités cognitives des animaux ont ensuite été évaluées régulièrement pendant 5 mois chez les animaux anesthésiés comparativement au groupe contrôle. De façon intéressante, ils ont observé une atteinte cognitive chez les rats exposés aux agents anesthésiques, associée à une mort neuronale et une dysfonction synaptique au niveau de l'hippocampe.

(2) ANIMAUX ADULTES

En 2004, les travaux de Culley et ses collaborateurs¹³⁷ ont montré que l'exposition de rats WT âgés de 6 mois pendant 2 heures à un mélange Isoflurane + Protoxyde d'azote entraînait une atteinte cognitive persistante 2 semaines post-anesthésie.

Les études chez la souris ont également permis de mettre en évidence une atteinte cognitive après exposition à l'Isoflurane en conditions normothermes chez des souris WT^{119,138} et dans un modèle transgénique de pathologie amyloïde (Tg2576)¹²⁰.

Au sein du laboratoire du Dr Luc Buée, des études réalisées par le Dr Hélène Le Frêche en 2010 sur des souris âgées de 6 mois ont montré une atteinte cognitive après anesthésies répétées au Sévoflurane en conditions normothermes¹³⁴.

(3) ANIMAUX AGES

En parallèle de l'expérience réalisée sur des rats WT de 6 mois, Culley et ses collaborateurs¹³⁷ ont également étudié l'effet de l'exposition à leur protocole d'anesthésie (Isoflurane + Protoxyde d'azote pendant 2 heures) chez des rats âgés de 20 mois. Ils ont noté une atteinte cognitive semblable à leurs observations sur les animaux âgés de 6 mois.

Chez des souris WT âgées de 18 mois, Xiao et ses collaborateurs¹³⁹ ont comparé la mémoire des animaux après anesthésies répétées (Pentobarbital ou Propofol) avec ou sans contrôle de la température corporelle. Ils ont mis en évidence une atteinte cognitive ainsi qu'une hyperphosphorylation de la protéine Tau dans le cerveau des souris anesthésiées et présentant une hypothermie associée, alors que chez les souris anesthésiées pour lesquelles la température a été maintenue en normothermie, les résultats étaient identiques à ceux du groupe contrôle.

B. PARTIE 2 – RECHERCHE EXPERIMENTALE : ETUDE DES AGENTS ANESTHESIQUES *IN VIVO*.

1. CONTEXTE SCIENTIFIQUE / OBJECTIFS

Comme décrit précédemment, il est aujourd'hui bien établi que différents agents anesthésiques peuvent modifier la phosphorylation de la protéine Tau *in vivo*. Les processus biochimiques conduisant à une hyperphosphorylation de cette protéine sont multiples (activation des protéines kinases et/ou inhibition des protéines phosphatases), et ils sont également sensibles aux conditions de température corporelle (hypothermie ou normothermie) pendant l'anesthésie des animaux.

Les données de la littérature nous indiquent que jusqu'à présent, la grande majorité des études expérimentales sur le sujet ont concerné les agents anesthésiques volatils (essentiellement l'isoflurane et le sévoflurane). Quelques chercheurs se sont aussi intéressés à l'effet des agents anesthésiques injectables (surtout le propofol), mais il nous est apparu que l'effet de la kétamine sur la phosphorylation de la protéine Tau et la cognition des animaux n'avait jusqu'alors été que très peu investiguée. La seule étude s'étant intéressée à la phosphorylation de la protéine Tau sous kétamine a été publiée en 2010 et concerne une administration chronique chez la souris et le singe (administration quotidienne de kétamine pendant 6 mois)¹⁴⁰.

Or, la kétamine est une molécule très largement utilisée chez l'animal dans les protocoles expérimentaux *in vivo* ainsi qu'en médecine vétérinaire, et elle est habituellement associée à la xylazine, un agoniste α_2 -adrénergique, qui possède des propriétés sédatives et myorelaxantes (ainsi qu'un faible pouvoir anesthésique)¹⁴¹. Chez l'homme, la kétamine est principalement utilisée en anesthésie générale pédiatrique et obstétrique, et elle l'est également dans la prise en charge des douleurs chroniques¹⁴².

Dans ce contexte et dans le cadre d'une collaboration avec le Dr Jonathan Brouillette, nous avons souhaité étudier l'effet d'une anesthésie par kétamine et xylazine sur la phosphorylation de la protéine Tau dans l'hippocampe de souris adultes. Par la suite, nous nous sommes également intéressés à l'effet de cette anesthésie sur la mémoire à court et à long terme des animaux.

2. MATERIEL ET METHODES

a) ANIMAUX

Les animaux utilisés dans cette étude sont des souris mâles sauvages (lignée C57Bl/6J, laboratoires Charles River) âgées de 5 – 6 mois.

Les animaux ont été hébergés dans les conditions conventionnelles (cages standards, accès à volonté à l'eau et à la nourriture, cycles jour/nuit de 12 heures, température de 22°C). Toutes les expérimentations ont été préalablement approuvées par le CEEA (Comité d'Éthique en Expérimentation Animale).

b) PROTOCOLES D'ANESTHESIE

Les animaux ont été anesthésiés par voie intrapéritonéale (IP) avec un mélange préparé extemporanément de Kétamine (Kétamine 1000[®], 100 mg/mL, Virbac France) et Xylazine (Sedaxylan[®], 20 mg/mL, CEVA) dans du sérum physiologique (NaCl 0,9%).



FIGURE 11 : ANIMAUX ANESTHÉSÉS PLACÉS SUR UN COUSSIN CHAUFFANT.

Deux posologies ont été utilisées :

- 100 mg/kg de Kétamine et 10 mg/kg de Xylazine : il s'agit de la dose la plus utilisée en expérimentation animale. Elle induit une anesthésie de courte durée avec une récupération rapide des animaux.
- 140 mg/kg de Kétamine et 14 mg/kg de Xylazine : cette dose est plus proche de la réalité car il est fréquent en expérimentation animale de réinjecter l'équivalent d'une demi-dose au cours de l'anesthésie, voire d'administrer d'emblée une dose et demie, pour obtenir une anesthésie plus profonde et plus longue chez les animaux.

Les deux posologies ont été utilisées pour évaluer la phosphorylation de la protéine Tau dans l'hippocampe des animaux, en revanche nous n'avons utilisé que la posologie la plus élevée (K/X ; 140/14 mg/kg) pour les évaluations cognitives, cette dose étant la plus proche de la réalité des expérimentations animales.

Pendant l'anesthésie, les animaux ont conservé une respiration spontanée.

La température rectale a été contrôlée à l'aide d'une sonde adaptée et maintenue entre 36,0°C et 37,0°C grâce à un coussin chauffant, afin de conserver des conditions normothermes (Fig. 11).

Les animaux du groupe contrôle ont reçu une injection par voie IP de sérum physiologique (NaCl 0,9%), le volume de solution administré étant fonction du poids des animaux, et donc comparable à celui des animaux anesthésiés.

c) TESTS COMPORTEMENTAUX

Suite à l'anesthésie par voie IP avec la préparation de Kétamine (140 mg/kg) et Xylazine (14 mg/kg), nous avons évalué le statut cognitif des animaux par la réalisation de trois tests comportementaux successifs :

- l'open field (OF), réalisé 7 heures après induction de l'anesthésie,
- le test du labyrinthe en Y (Y maze), réalisé environ 8 heures après induction de l'anesthésie,
- le test d'évitement passif (Passive Avoidance Task – PAT), dont la phase d'apprentissage s'est déroulée environ 11 heures après induction de l'anesthésie.

Un total de 6 animaux par groupe (groupe contrôle et groupe KX ; 140/14 mg/kg) a été utilisé pour les tests comportementaux.

(1) OPEN FIELD

Objectif :

L'OF est un test qui permet d'évaluer plusieurs paramètres, notamment la motricité des animaux. Nous avons utilisé ce test comme contrôle, afin de s'assurer que les animaux n'étaient plus soumis aux effets des agents anesthésiques et qu'ils se déplaçaient de la même façon que les animaux du groupe contrôle.



FIGURE 12 : DISPOSITIF UTILISÉ POUR L'OPEN FIELD.

Description du dispositif :

Les arènes utilisées pour ce test sont des arènes cubiques blanches et opaques de 50 x 50 x 50 cm. Le dispositif est composé de 4 arènes identiques, ce qui permet de tester 4 animaux simultanément (Fig. 12).

Protocole :

Les animaux ont été placés dans l'arène pour une durée de 15 minutes. La vitesse de déplacement et la distance parcourue en 15 minutes par les animaux ont été mesurées grâce au logiciel EthoVision[®] XT (système de tracking visuel des animaux, Noldus, Netherlands).

(2) Y MAZE

Objectif :

Le test du Y maze permet d'évaluer la mémoire spatiale hippocampique à court terme des animaux.

Description du dispositif :

Comme son nom l'indique, le labyrinthe utilisé dans ce test à la forme d'un Y (Fig. 13). Afin de tester la mémoire spatiale des souris, plusieurs repères visuels sont placés sur les murs de la pièce dans laquelle se trouve le labyrinthe, et le fond de celui-ci est recouvert de litière identique à celle des cages d'hébergement des animaux, ce qui permet d'éliminer les indices olfactifs en mélangeant la litière entre chaque passage des animaux.



FIGURE 13 : DISPOSITIF UTILISÉ POUR LE Y MAZE.

Protocole :

Ce test se déroule en deux phases. Au cours de la première phase du test, les animaux ont été placés dans le labyrinthe pour une durée de 5 minutes, avec un accès restreint à seulement 2 des 3 bras du Y (bras de « départ » et bras « autre »), le troisième bras (bras « nouveau ») étant fermé par une porte opaque. A l'issue des 5 minutes d'exploration, les animaux ont été replacés dans leur cage d'hébergement pour une durée de 2 minutes, puis à nouveau placés dans le labyrinthe pour une durée de 5 minutes, avec cette fois un accès aux 3 bras du Y.

Le temps passé dans le bras « nouveau » comparativement aux deux autres bras lors de la seconde phase du test a ensuite été mesuré grâce au logiciel EthoVision[®] XT (système de tracking visuel des animaux, *Noldus, Netherlands*).

Un animal ne présentant pas de déficit cognitif passera plus de temps dans le bras nouveau que dans les autres bras lors de la phase de test.

(3) TEST D'ÉVITEMENT PASSIF

Objectif :

Le PAT permet d'évaluer la mémoire hippocampique à long terme des animaux.

Description du dispositif :

Le dispositif utilisé pour ce test est composé de 2 compartiments dont le sol est constitué d'une grille, et séparés par une porte dont l'ouverture est contrôlée par le logiciel ShutAvoid[®] (*Panlab, Spain*).

Le premier compartiment, de couleur blanche, est fortement éclairé par ajout d'une source lumineuse au dessus du dispositif.



FIGURE 14 : DISPOSITIF UTILISÉ POUR LE TEST D'ÉVITEMENT PASSIF.

Le second compartiment, plus petit, est de couleur noire, et clos (la seule ouverture existante est la porte qui sépare les deux compartiments). La grille du sol de ce second compartiment est reliée à un système permettant de délivrer un choc électrique aux animaux lorsqu'ils se trouvent dans le compartiment sombre (Fig. 14).

Protocole :

Comme pour le Y maze, ce test se déroule également en deux phases. Lors de la première phase du test, les souris sont placées dans le compartiment éclairé. Lorsque l'animal est détecté par le logiciel, la porte séparant les deux compartiments s'ouvre, et reste ouverte pour une durée maximale de 300 secondes. Ce test utilise la préférence des souris pour les endroits sombres et confinés, et leur aversion pour les espaces ouverts et très lumineux.

Ainsi, lors de l'ouverture de la porte, les animaux entrent assez rapidement dans le compartiment sombre. Lorsque le logiciel détecte les animaux dans ce second compartiment, il commande la fermeture de la porte, et délivre ensuite un choc électrique d'une intensité de 0,3 mA et d'une durée de 2 secondes. Lors de ce premier jour de test, la latence d'entrée des animaux dans le compartiment sombre a été enregistrée. Après 24 heures, les animaux sont replacés dans le dispositif dans les conditions identiques à celles de la première phase du test. A nouveau, la porte séparant les deux compartiments reste ouverte pour une durée maximale de 300 secondes, et la latence d'entrée des animaux dans le compartiment sombre est alors mesurée (remarque : lors de la seconde phase, les animaux ne subissent évidemment pas de second choc électrique lors de leur entrée dans le compartiment sombre).

La mémoire à long terme est ainsi évaluée par comparaison des latences d'entrée dans le compartiment sombre lors de la phase d'apprentissage (le premier jour) et lors de la phase de test (après 24 heures). Un animal ne présentant pas de déficit cognitif aura une latence d'entrée lors de la phase de test plus longue que lors de sa phase d'apprentissage.

d) WESTERN BLOT

Afin d'étudier l'état de phosphorylation de la protéine Tau en fonction de la dose d'agents anesthésiques reçue et son évolution dans le temps, nous avons utilisé un total de 36 animaux, répartis comme suivant :

- 12 souris contrôle (Ctl),
- 12 souris anesthésiées par Kétamine et Xylazine à dose moyenne (K/X ; 100/10 mg/kg),
- 12 souris anesthésiées par Kétamine et Xylazine à dose élevée (K/X ; 140/14 mg/kg).

La moitié des animaux de chaque groupe a été sacrifiée 1 heure post-injection, l'autre moitié l'a été 6 heures post-injection, soit un total de 6 animaux dans chaque condition.

Notre seconde étude s'est intéressée spécifiquement à la phosphorylation de la protéine Tau, 1 heure après induction de l'anesthésie par Kétamine et Xylazine à dose élevée (K/X ; 140/14 mg/kg). Pour cette étude, nous avons utilisé 16 nouveaux animaux (8 animaux pour le groupe contrôle et 8 animaux pour le groupe anesthésié).

Après sacrifice par élongation cervicale, les hippocampes ont été rapidement disséqués sur glace et congelés immédiatement à -80°C. Ils ont ensuite été repris dans un tampon d'extraction (RIPA buffer, *Pierce, IL, USA*) supplémenté en inhibiteurs de protéases (*Roche, Germany*) afin de préserver l'intégrité des protéines. Les échantillons ont alors été soniqués, homogénéisés à 4°C, puis centrifugés à 11500 x g pendant 20 minutes à 4°C. Les surnageants contenant les extraits protéiques totaux ont ensuite été dosés en utilisant un kit de dosage BCA (*Pierce, IL, USA*).

Après dosage, 30 µg de chaque échantillon protéique ont été déposés sur gels d'électrophorèse SDS-NuPage® Novex 4-12% Bis-Tris (*Invitrogen, CA, USA*), puis soumis à un champ électrique, permettant une séparation des protéines en fonction de leur poids moléculaire. A l'issue de la migration des protéines, celles-ci ont été transférées depuis le gel d'électrophorèse sur des membranes de nitrocellulose Hybond-ECL® (*GE Healthcare, UK*).

Les membranes ont ensuite été incubées pendant 1 heure à température ambiante avec une solution de saturation contenant 5% de lait écrémé, puis incubées avec un anticorps primaire toute la nuit à 4°C.

Les anticorps primaires utilisés dans cette étude nous ont permis d'étudier l'état de phosphorylation de la protéine Tau sur différents épitopes (Fig. 15) :

- Anticorps AT8 (S202/T205) (*Pierce, IL, USA*)
- Anticorps AT270 (T181) (*Pierce, IL, USA*)
- pTau S396 (S396) (*Invitrogen, CA, USA*)
- pTau S262 (S262) (*Invitrogen, CA, USA*)
- pTau S199 (S199) (*Invitrogen, CA, USA*)
- AD2 (S396/S404) (*Bio-Rad, CA, USA*).

D'autres anticorps primaires ont été utilisés :

- Pour évaluer la quantité totale de protéine Tau (anticorps produits et caractérisés au sein du laboratoire) :
 - o M19G : reconnaît 19 aa phospho-indépendants dans la région N-terminale de la protéine Tau
 - o Tau C-ter : reconnaît les 15 derniers aa phospho-indépendants de la région C-terminale de la protéine Tau
- Pour étudier la phosphatase PP2A (*Millipore, MA, USA*)
- Pour étudier différentes protéines kinases : pCaMKII α et β , CaMKII α et β , pMARK1 et 2, MARK1 et 2, pERK1 et 2, ERK1 et 2, pGSK3 α et β , GSK3 α et β , CDK5, p35, pPKA, PKA (*Cell Signaling Technology, MA, USA*)
- Comme témoin de charge (contrôle interne) : GAPDH (*Santa Cruz, CA, USA*).

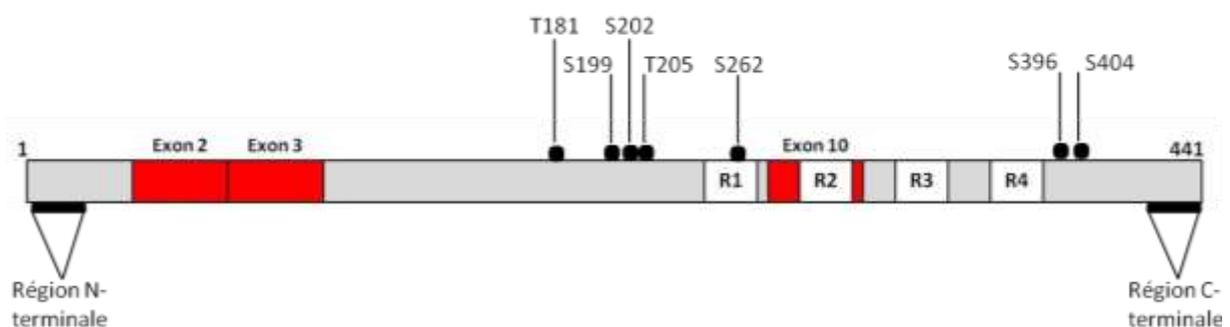


FIGURE 15 : REPRÉSENTATION SCHÉMATIQUE DES DIFFÉRENTS SITES DE PHOSPHORYLATION DE LA PROTÉINE TAU ANALYSÉS DANS CETTE ÉTUDE.

Suite à l'incubation avec les différents anticorps primaires, les membranes ont été lavées puis incubées avec un anticorps secondaire anti-souris ou anti-lapin couplé à une peroxydase (*Vector laboratories, CA, USA*) pendant 1 heure à température ambiante, puis de nouveau lavées. Enfin, l'immunomarquage a pu être visualisé grâce à l'application sur les membranes d'un kit de détection ECL[®] (*GE Healthcare, UK*), et la détection du signal par l'appareil Image Reader LAS-3000[®] (*Fujifilm, Tokyo, Japan*). Les signaux obtenus ont pu être quantifiés à l'aide du logiciel ImageJ[®] (*Scion, USA*), et les résultats exprimés ont été normalisés sur la GAPDH.

e) ACTIVITE DES PHOSPHATASES

L'activité de la phosphatase PP2A a été déterminée en utilisant un système de dosage produit par *Promega* (Référence catalogue #V2460, WI, USA). Les hippocampes des souris utilisés pour ce dosage ont été immédiatement homogénéisés et traités pour éliminer les phosphatases libres endogènes. Les tissus ont ensuite été mis en présence d'un phospho-peptide de synthèse pendant 15 minutes, et les phosphates libérés ont ensuite pu être quantifiés par grâce à une méthode colorimétrique.

f) STATISTIQUES

Les histogrammes représentent les valeurs moyennes \pm écart type. Les analyses statistiques (ANOVA One Way et ANOVA Two Way) ont été réalisées à l'aide du logiciel GraphPad Prism 6[®] (*GraphPad Software Inc., USA*). Une valeur de $p > 0,05$ a été considérée comme significative.

3. RESULTATS EXPERIMENTAUX

a) EFFET DE L'ANESTHESIE SUR LA PHOSPHORYLATION DE LA PROTEINE TAU

Dans un premier temps, nous avons testé deux posologies de préparation de Kétamine/Xylazine (K/X ; 100/10 mg/kg, et K/X ; 140/14 mg/kg) et nous avons étudié le statut de phosphorylation de la protéine Tau après sacrifice des animaux 1 heure ou 6 heures après induction de l'anesthésie.

Ces travaux nous ont permis de mettre en évidence une hyperphosphorylation de la protéine Tau dose-dépendante, au niveau des Sérines 396 et 404 (anticorps AD2), sans augmentation des quantités de protéine Tau totale (étudiée grâce à l'anticorps M19G). Cette hyperphosphorylation s'est avérée être réversible à 6 heures pour la posologie la plus faible (K/X ; 100/10 mg/kg), et partiellement réversible à 6 heures pour la posologie la plus élevée (K/X ; 140/14 mg/kg) (Fig. 16).

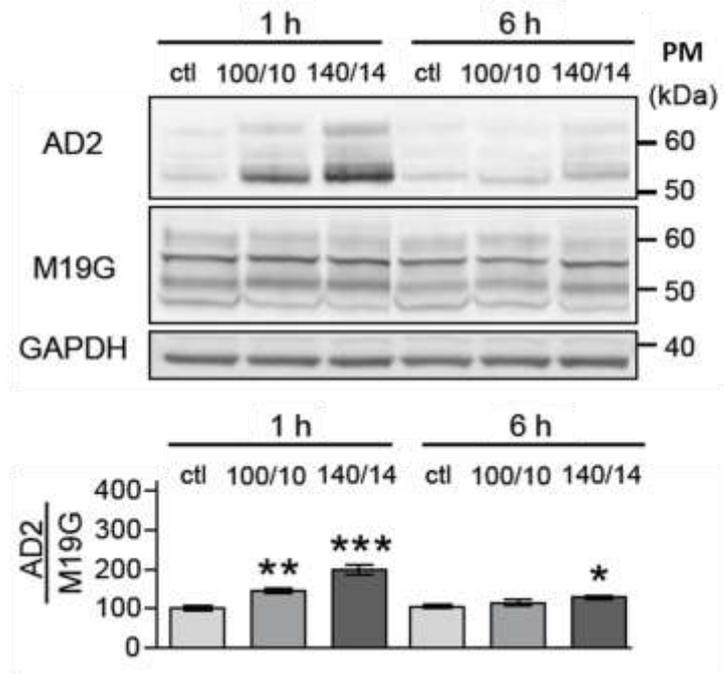


FIGURE 16 : IMMUNOMARQUAGES REPRESENTATIFS DE L'HYPERPHOSPHORYLATION DE LA PROTEINE TAU SUR LES SERINES 396 ET 404 (ANTICORPS AD2) OBSERVEE DANS L'HIPPOCAMPE DES ANIMAUX 1H OU 6H SUIVANT L'INJECTION PAR VOIE IP DE KETAMINE/XYLAZINE (K/X; 100/10 MG/KG OU 140/14 MG/KG). LES HISTOGRAMMES REPRESENTENT LE RATIO MOYEN DES QUANTIFICATIONS DU MARQUAGE AD2 SUR LE MARQUAGE M19G (REPRESENTANT LA PROTEINE TAU TOTALE), CHAQUE MARQUAGE AYANT ETE LUI MEME PREALABLEMENT CORRIGE SUR CELUI DE LA GAPDH (TEMOIN DE CHARGE). N = 6 PAR GROUPE. ANOVA TWO-WAY, * P < 0,05; ** P < 0,01; *** P < 0,001.

Suite à ces observations, nous nous sommes intéressés plus spécifiquement à la phosphorylation de la protéine Tau avec la dose la plus élevée (K/X ; 140/14 mg/kg). Nous avons ainsi évalué la phosphorylation ainsi que la quantité totale de protéine Tau sur de multiples épitopes, 1 heure après induction de l'anesthésie en conditions normothermes. Nous avons ainsi observé une forte hyperphosphorylation sur plusieurs épitopes : S396/S404 (anticorps AD2), S396, S262, T181 (anticorps AT270) et S202/T205 (anticorps AT8). En revanche nous n'avons pas observé de changement dans la phosphorylation de la protéine Tau sur l'épitope S199. De même, l'anesthésie des animaux par Kétamine/Xylazine à dose élevée (K/X ; 140/14 mg/kg) n'affecte pas la quantité totale de protéine Tau au niveau de l'hippocampe (Fig.17).

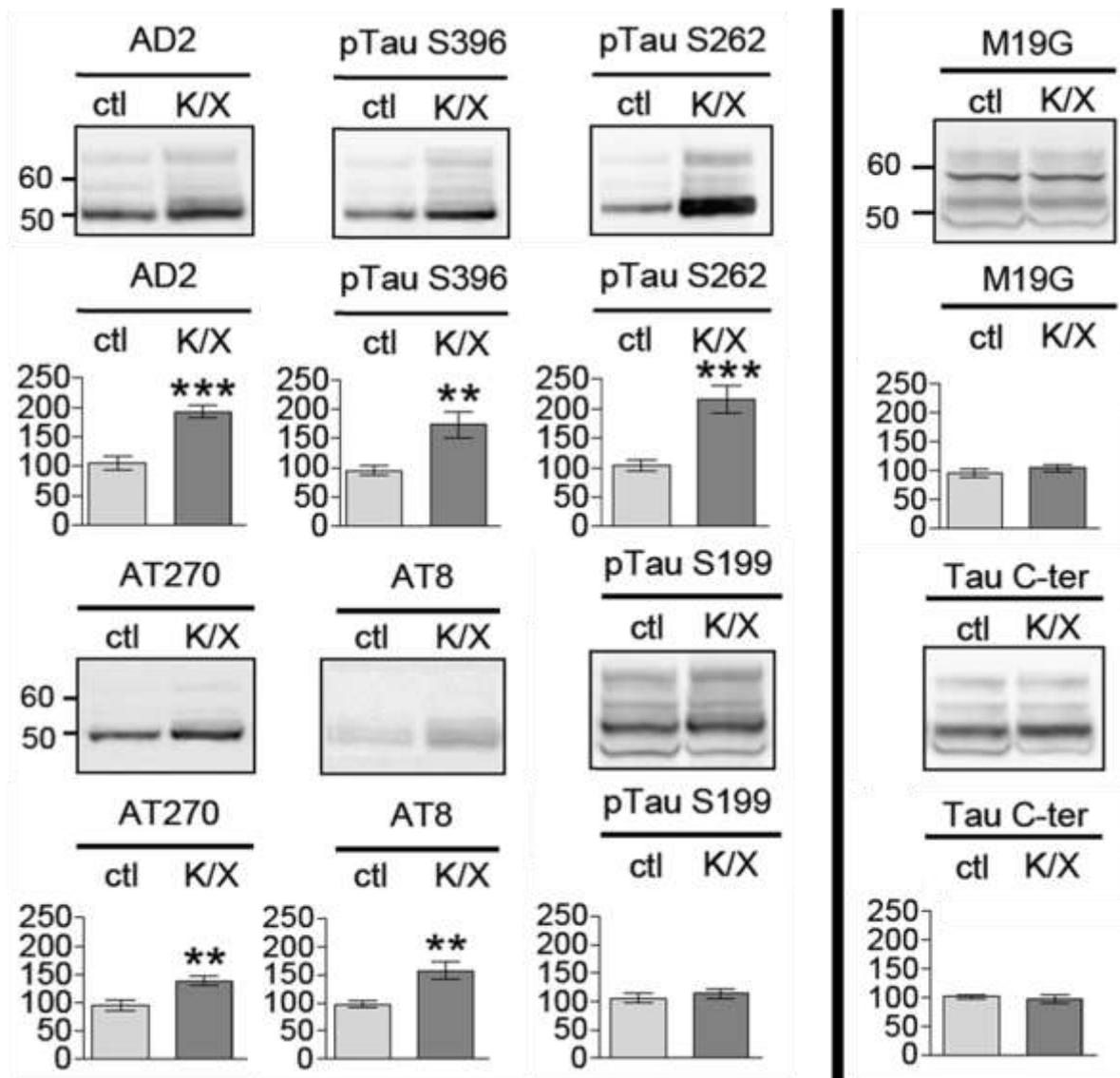


FIGURE 17 : IMMUNOMARQUAGES REPRESENTATIFS DE LA QUANTITE TOTALE ET DE L'ETAT DE PHOSPHORYLATION DE LA PROTEINE TAU DANS L'HIPPOCAMPE DES SOURIS 1 HEURE APRES INJECTION PAR VOIE IP DE KETAMINE/XYLAZINE (K/X; 140/14 MG/KG). LES HISTOGRAMMES REPRESENTENT LE RATIO MOYEN DES QUANTIFICATIONS DES IMMUNOMARQUAGES POUR CHAQUE EPITOPE SUR LE MARQUAGE M19G (REPRESENTANT LA PROTEINE TAU TOTALE), CHAQUE MARQUAGE AYANT ETE LUI MEME PREALABLEMENT CORRIGE SUR CELUI DE LA GAPDH (TEMOIN DE CHARGE). N = 8 PAR GROUPE. ANOVA TWO-WAY, ** P < 0,01; *** P < 0,001.

b) IMPLICATION DES KINASES SUR LA PHOSPHORYLATION DE LA PROTEINE TAU SOUS ANESTHESIE

De nombreuses kinases sont connues pour modifier la phosphorylation de la protéine Tau.

Parmi les kinases testées, nous avons observé une activation des kinases CaMKII et MARK (la phosphorylation de ces kinases étant activatrice) dans l'hippocampe des animaux soumis à anesthésie par voie IP par Kétamine et Xylazine (K/X ; 140/14 mg/kg) (Fig. 18). Ces kinases sont capables de phosphoryler la protéine Tau sur l'épitope S262, ainsi que sur les épitopes S396/S404 pour CaMKII¹⁴³.

L'activation de ces kinases pourrait ainsi expliquer l'hyperphosphorylation de Tau observée sur les épitopes précités. Inversement, l'anesthésie par Kétamine et Xylazine (K/X ; 140/14 mg/kg) a entraîné une inhibition des kinases ERK (une phosphorylation de ces kinases est activatrice) et GSK3 (une phosphorylation de ces kinases est inhibitrice) au niveau de l'hippocampe (Fig. 18).

Enfin, nous n'avons pas observé d'effet des agents anesthésiques sur les autres kinases testées (données non présentées).

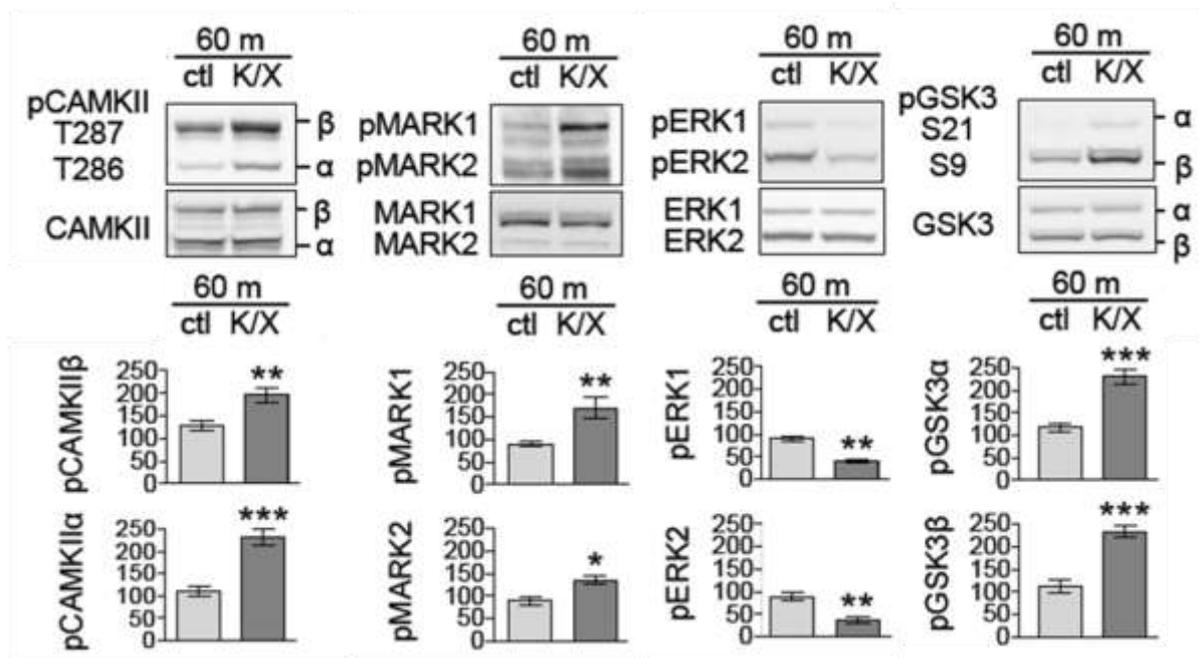


FIGURE 18 : IMMUNOMARQUAGES REPRESENTATIFS DE L'ACTIVATION DES KINASES CAMKII ET MARK ET DE L'INHIBITION DES KINASES ERK ET GSK3 DANS L'HIPPOCAMPE 1 HEURE APRES INDUCTION PAR VOIR IP DE L'ANESTHESIE PAR KETAMINE ET XYLAZINE (K/X; 140/14 MG/KG). LES HISTOGRAMMES REPRESENTENT LE RATIO MOYEN DES QUANTIFICATIONS DU MARQUAGE DES FORMES PHOSPHORYLEES SUR CELUI DES FORMES TOTALES, CHAQUE MARQUAGE AYANT ETE LUI MEME PREALABLEMENT CORRIGE SUR CELUI DE LA GAPDH (TEMOIN DE CHARGE). N = 8 PAR GROUPE. ANOVA TWO-WAY, * P < 0,05; ** P < 0,01; *** P < 0,001.

c) ACTIVITE DE LA PHOSPHATASE PP2A SUR LA PHOSPHORYLATION DE LA PROTEINE TAU SOUS ANESTHESIE

Plusieurs études ayant établi que la déphosphorylation de la protéine Tau est assurée essentiellement par la phosphatase PP2A, nous nous sommes intéressés aux taux de PP2A ainsi qu'à son activité dans l'hippocampe des animaux anesthésiés avec la dose la plus élevée (K/X ; 140/14 mg/kg).

Nous n'avons observé aucune variation ni de la quantité de PP2A, ni de son activité (Fig. 19). La PP2A n'est donc pas impliquée dans les modifications de l'état de phosphorylation de la protéine Tau dans les conditions d'anesthésie testées (K/X ; 140/14 mg/kg) en conditions normothermes.

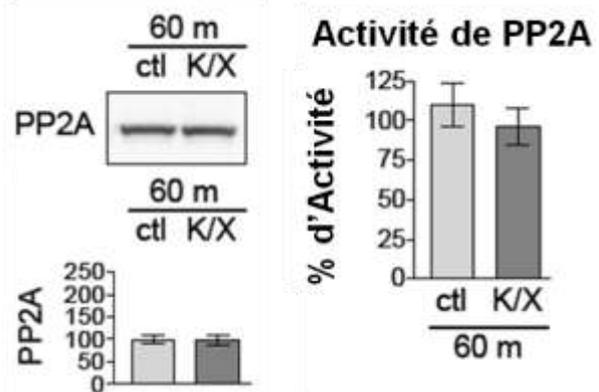


FIGURE 19 : IMMUNOMARQUAGES REPRESENTATIFS DES TAUX DE PP2A DANS L'HIPPOCAMPE 1 HEURE APRES INDUCTION PAR VOIR IP DE L'ANESTHESIE PAR KETAMINE ET XYLAZINE (K/X; 140/14 MG/KG). L' HISTOGRAMME SITUE EN DESSOUS REPRESENTE LE RATIO MOYEN DES QUANTIFICATIONS DU MARQUAGE CORRIGE SUR CELUI DE LA GAPDH (TEMOIN DE CHARGE). ACTIVITE DE LA PP2A DANS L'HIPPOCAMPE 1 HEURE APRES INDUCTION PAR VOIR IP DE L'ANESTHESIE PAR KETAMINE ET XYLAZINE (K/X; 140/14 MG/KG). N = 8 PAR GROUPE. ANOVA TWO-WAY.

d) EFFET DE L'ANESTHESIE SUR LA COGNITION DES ANIMAUX

A la suite de nos études biochimiques sur le statut de phosphorylation de la protéine Tau post-anesthésie, nous avons voulu savoir si les animaux anesthésiés présentaient une atteinte mnésique à court et long terme.

Dans un premier temps, nous nous sommes assurés que les animaux ne présentaient plus de sédation résiduelle 7 heures après induction de l'anesthésie, ce qui aurait constitué un biais évident pour les tests mnésiques réalisés immédiatement après.

Comme présenté dans la figure 20, nous n'avons observé aucune différence en termes de vitesse et de distance parcourue par les animaux lors du test OF (Fig.20) entre les deux groupes (contrôle : no K/X, et anesthésiés : K/X), ce qui traduit une récupération complète des fonctions locomotrices des animaux 7 heures après induction de l'anesthésie.

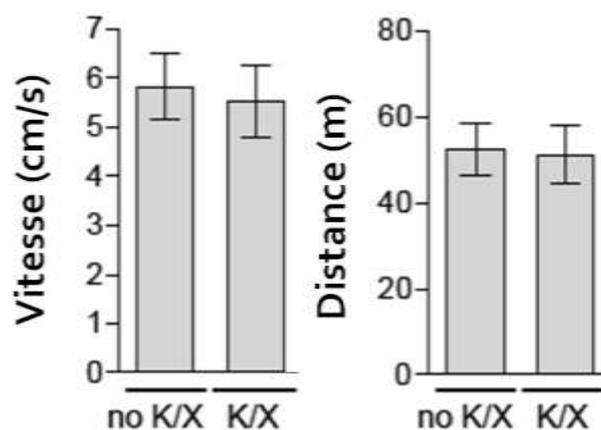


FIGURE 20 : ACTIVITE LOCOMOTRICE DES ANIMAUX 7 HEURES APRES INDUCTION DE L'ANESTHESIE PAR KETAMINE ET XYLAZINE (K/X; 140/14 MG/KG) EVALUEE PAR LE TEST D'OPEN FIELD. N = 6 PAR GROUPE. ANOVA TWO-WAY.

Immédiatement après l'OF, nous avons évalué la mémoire spatiale à court terme des animaux par le test du Y maze. Alors que l'apprentissage des souris contrôle (no K/X) était normal, nous n'avons pas observé de différence de temps passé entre les deux bras chez les animaux anesthésiés (K/X) (Fig. 21).

Ainsi, alors que les animaux du groupe contrôle passaient un temps significativement plus important dans le bras « nouveau » lors de la phase de test (traduisant un apprentissage et une mémorisation à court terme corrects), ceux du groupe soumis à l'anesthésie passaient autant de temps dans le bras « nouveau » que dans le bras « autre » (ce qui traduit une atteinte mnésique à court terme).

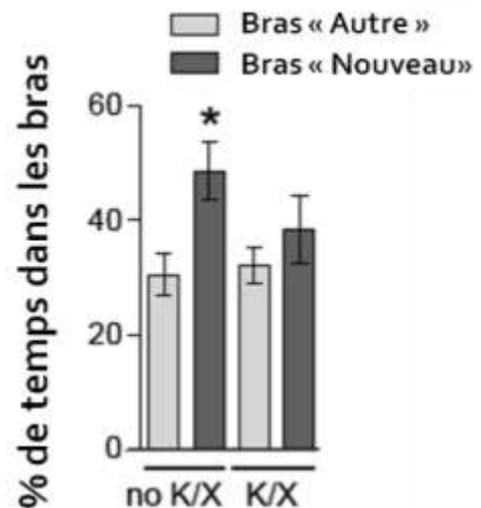


FIGURE 21 : MEMOIRE SPATIALE A COURT TERME DES ANIMAUX 7 HEURES APRES INDUCTION DE L'ANESTHESIE PAR KETAMINE ET XYLAZINE (K/X; 140/14 MG/KG) EVALUEE PAR LE Y MAZE. N = 6 PAR GROUPE. ANOVA THREE-WAY, * P < 0,05.

Enfin, à l'issue du Y maze, nous avons procédé à la première phase du test d'évitement passif, au cours de laquelle nous avons mesuré la latence d'entrée des animaux dans le compartiment sombre.

Lors de la première phase, nous n'avons pas observé de différence de latence d'entrée dans le compartiment sombre entre les deux groupes d'animaux (données non présentées). 7 heures après son induction, l'anesthésie n'avait donc pas d'effet sur le comportement des animaux vis-à-vis de ce test.

En revanche, nous avons observé une latence d'entrée significativement réduite chez les animaux anesthésiés (K/X) comparativement aux animaux du groupe contrôle (no K/X) lors de la seconde phase (retest après 24h) (Fig. 22).

Ceci traduit une altération de la mémoire à long terme chez les animaux soumis au protocole d'anesthésie par Kétamine et Xylazine.

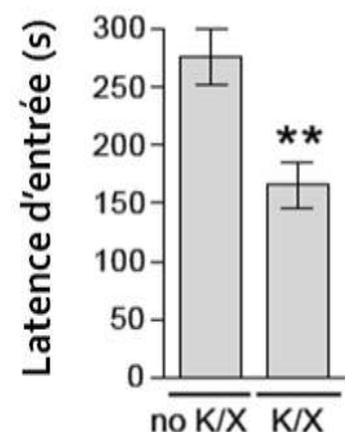


FIGURE 22 : MEMOIRE A LONG TERME DES ANIMAUX 7 HEURES APRES INDUCTION DE L'ANESTHESIE PAR KETAMINE ET XYLAZINE (K/X; 140/14 MG/KG) EVALUEE PAR LE PAT. N = 6 PAR GROUPE. ANOVA TWO-WAY, ** P < 0,01.

4. DISCUSSION

Nos travaux ont permis de démontrer pour la première fois que l'association Kétamine/Xylazine, à des doses couramment utilisées en expérimentation animale, pouvait entraîner une hyperphosphorylation dose-dépendante de la protéine Tau dans l'hippocampe associée à des troubles de la mémoire hippocampique à court et à long terme. Cette hyperphosphorylation, observée dans des conditions normothermes, est due à l'activation de plusieurs protéines kinases telles que la CaMKII ou encore MARK1 et MARK2, et n'est pas liée à une inhibition de l'activité de la phosphatase PP2A. Ces résultats sont en accord avec les données de la littérature actuelles portant sur divers agents anesthésiques, indiquant qu'en condition de normothermie, l'hyperphosphorylation de la protéine Tau observée est due à une activation de différentes kinases^{125,132-134}, alors qu'en condition d'hypothermie, elle est associée à une inhibition de l'activité des phosphatases^{123,125,127}.

Puisque cette association Kétamine/Xylazine est largement employée en expérimentation animale, nos travaux appellent à la prudence dans l'interprétation des résultats des études *in vivo* ayant nécessité une anesthésie avec ces molécules, en particulier lorsqu'il s'agit d'études s'intéressant au domaine des neurosciences. Une attention particulière doit ainsi être accordée à la dose d'agents anesthésiques employée, au temps d'exposition et à la température corporelle des animaux.

La CaMKII étant capable de phosphoryler d'autres protéines que la protéine Tau, et jouant un rôle dans d'autres domaines, notamment le domaine cardiovasculaire¹⁴⁴, nos résultats doivent encourager les expérimentateurs à bien contrôler les paramètres de leurs anesthésies par Kétamine et Xylazine, afin de réduire au maximum le risque de générer des résultats artéfactuels.

Parmi les facteurs périopératoires décrits comme pouvant intervenir dans la survenue des DCPO, nous retrouvons l'hypoxie. Il nous semble intéressant de reproduire des expériences d'anesthésie en contrôlant la SaO₂ des animaux. En effet, bien que les animaux aient conservé une ventilation spontanée, il est possible qu'au cours de l'anesthésie ils se soient trouvés en situation d'hypoventilation, donc d'hypoxie. Or, nos travaux sur le stress hypoxique indiquent qu'une désaturation des animaux est associée à une hyperphosphorylation de la protéine Tau dans l'hippocampe et à des troubles cognitifs chez des souris WT (Alves-Pires et coll., *en préparation*).

Par ailleurs, il serait à l'avenir intéressant de reproduire nos expérimentations sur des souris KO pour la protéine Tau, afin de déterminer si l'absence de protéine Tau protège ces animaux des troubles cognitifs induits par l'anesthésie, ou si les mécanismes compensatoires existant chez ces animaux pourraient eux aussi être affectés par les agents anesthésiques. Ceci fait l'objet d'une étude en cours de préparation au sein du laboratoire, toujours en collaboration avec le Dr Jonathan Brouillette.

IV. CONCLUSION

L'analyse de la littérature réalisée pour ce mémoire de DES ainsi que les résultats de nos travaux de recherche expérimentale renforcent l'hypothèse d'une relation existant entre les anesthésies générales et le développement de troubles cognitifs dans la population générale, et suggèrent un rôle majeur de la protéine Tau dans ces phénomènes.

Devant ce constat, il nous semble important de bien considérer la place des anesthésies générales (notamment d'en éviter la multiplication chez un même patient quand cela s'avère possible), et en particulier chez les personnes âgées démentes ou présentant un risque de démence.

A l'avenir, d'autres études cliniques seront nécessaires pour déterminer par quels moyens le risque de survenue de troubles cognitifs postopératoires et/ou de démence pourrait être minimisé, en se focalisant sur deux paramètres : les agents anesthésiques utilisés eux-mêmes, et la réduction des facteurs de risques périopératoires (contrôle de la température corporelle, correction des facteurs de risque préexistants, etc.).

V. REFERENCES

1. Alzheimer, A., Stelzmann, R. A., Schnitzlein, H. N. & Murtagh, F. R. An English translation of Alzheimer's 1907 paper, 'Über eine eigenartige Erkankung der Hirnrinde'. *Clin. Anat. N. Y. N* **8**, 429–431 (1995).
2. Ballard, C. *et al.* Alzheimer's disease. *Lancet* **377**, 1019–1031 (2011).
3. Mayeux, R. & Stern, Y. Epidemiology of Alzheimer disease. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* **2**, (2012).
4. Goate, A. *et al.* Segregation of a missense mutation in the amyloid precursor protein gene with familial Alzheimer's disease. *Nature* **349**, 704–706 (1991).
5. Schellenberg, G. D., D'Souza, I. & Poorkaj, P. The genetics of Alzheimer's disease. *Curr. Psychiatry Rep.* **2**, 158–164 (2000).
6. Corder, E. H. *et al.* Gene dose of apolipoprotein E type 4 allele and the risk of Alzheimer's disease in late onset families. *Science* **261**, 921–923 (1993).
7. Bonner-Jackson, A., Okonkwo, O., Tremont, G. & Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. Apolipoprotein E ϵ 2 and functional decline in amnesic mild cognitive impairment and Alzheimer disease. *Am. J. Geriatr. Psychiatry Off. J. Am. Assoc. Geriatr. Psychiatry* **20**, 584–593 (2012).
8. Reitz, C. & Mayeux, R. Alzheimer disease: Epidemiology, diagnostic criteria, risk factors and biomarkers. *Biochem. Pharmacol.* (2014). doi:10.1016/j.bcp.2013.12.024
9. Drachman, D. A. Aging of the brain, entropy, and Alzheimer disease. *Neurology* **67**, 1340–1352 (2006).
10. Beydoun, M. A., Beydoun, H. A. & Wang, Y. Obesity and central obesity as risk factors for incident dementia and its subtypes: a systematic review and meta-analysis. *Obes. Rev. Off. J. Int. Assoc. Study Obes.* **9**, 204–218 (2008).
11. Anstey, K. J., Mack, H. A. & Cherbuin, N. Alcohol consumption as a risk factor for dementia and cognitive decline: meta-analysis of prospective studies. *Am. J. Geriatr. Psychiatry Off. J. Am. Assoc. Geriatr. Psychiatry* **17**, 542–555 (2009).
12. Skoog, I. & Gustafson, D. Update on hypertension and Alzheimer's disease. *Neurol. Res.* **28**, 605–611 (2006).
13. Arvanitakis, Z., Wilson, R. S., Bienias, J. L., Evans, D. A. & Bennett, D. A. Diabetes mellitus and risk of Alzheimer disease and decline in cognitive function. *Arch. Neurol.* **61**, 661–666 (2004).
14. Stern, Y. *et al.* Influence of education and occupation on the incidence of Alzheimer's disease. *JAMA J. Am. Med. Assoc.* **271**, 1004–1010 (1994).
15. Scarmeas, N., Stern, Y., Mayeux, R. & Luchsinger, J. A. Mediterranean diet, Alzheimer disease, and vascular mediation. *Arch. Neurol.* **63**, 1709–1717 (2006).
16. Hamer, M. & Chida, Y. Physical activity and risk of neurodegenerative disease: a systematic review of prospective evidence. *Psychol. Med.* **39**, 3–11 (2009).
17. Dubois, B. *et al.* Research criteria for the diagnosis of Alzheimer's disease: revising the NINCDS-ADRDA criteria. *Lancet Neurol.* **6**, 734–746 (2007).
18. McKhann, G. M. *et al.* The diagnosis of dementia due to Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement. J. Alzheimers Assoc.* **7**, 263–269 (2011).
19. Sperling, R. A. *et al.* Toward defining the preclinical stages of Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement. J. Alzheimers Assoc.* **7**, 280–292 (2011).

20. Davies, P. & Maloney, A. J. Selective loss of central cholinergic neurons in Alzheimer's disease. *Lancet* **2**, 1403 (1976).
21. Fuster-Matanzo, A., Llorens-Martín, M., Hernández, F. & Avila, J. Role of neuroinflammation in adult neurogenesis and Alzheimer disease: therapeutic approaches. *Mediators Inflamm.* **2013**, 260925 (2013).
22. Chaturvedi, R. K. & Flint Beal, M. Mitochondrial diseases of the brain. *Free Radic. Biol. Med.* **63**, 1–29 (2013).
23. Braak, H. & Braak, E. Neuropathological staging of Alzheimer-related changes. *Acta Neuropathol. (Berl.)* **82**, 239–259 (1991).
24. Delacourte, A. *et al.* The biochemical pathway of neurofibrillary degeneration in aging and Alzheimer's disease. *Neurology* **52**, 1158–1165 (1999).
25. Delacourte, A. *et al.* Nonoverlapping but synergetic tau and APP pathologies in sporadic Alzheimer's disease. *Neurology* **59**, 398–407 (2002).
26. Zhang, Y., Thompson, R., Zhang, H. & Xu, H. APP processing in Alzheimer's disease. *Mol. Brain* **4**, 3 (2011).
27. Furukawa, K. *et al.* Increased activity-regulating and neuroprotective efficacy of alpha-secretase-derived secreted amyloid precursor protein conferred by a C-terminal heparin-binding domain. *J. Neurochem.* **67**, 1882–1896 (1996).
28. Johnston, J. A. *et al.* Expression and activity of beta-site amyloid precursor protein cleaving enzyme in Alzheimer's disease. *Biochem. Soc. Trans.* **33**, 1096–1100 (2005).
29. Nikolaev, A., McLaughlin, T., O'Leary, D. D. M. & Tessier-Lavigne, M. APP binds DR6 to trigger axon pruning and neuron death via distinct caspases. *Nature* **457**, 981–989 (2009).
30. Von Rotz, R. C. *et al.* The APP intracellular domain forms nuclear multiprotein complexes and regulates the transcription of its own precursor. *J. Cell Sci.* **117**, 4435–4448 (2004).
31. Kim, H.-S. *et al.* C-terminal fragments of amyloid precursor protein exert neurotoxicity by inducing glycogen synthase kinase-3beta expression. *FASEB J. Off. Publ. Fed. Am. Soc. Exp. Biol.* **17**, 1951–1953 (2003).
32. Pardossi-Piquard, R. *et al.* Presenilin-dependent transcriptional control of the Abeta-degrading enzyme neprilysin by intracellular domains of betaAPP and APLP. *Neuron* **46**, 541–554 (2005).
33. Kinoshita, A., Whelan, C. M., Berezovska, O. & Hyman, B. T. The gamma secretase-generated carboxyl-terminal domain of the amyloid precursor protein induces apoptosis via Tip60 in H4 cells. *J. Biol. Chem.* **277**, 28530–28536 (2002).
34. Kaye, R. & Lasagna-Reeves, C. A. Molecular mechanisms of amyloid oligomers toxicity. *J. Alzheimers Dis. JAD* **33 Suppl 1**, S67–78 (2013).
35. Buée, L., Bussièrè, T., Buée-Scherrer, V., Delacourte, A. & Hof, P. R. Tau protein isoforms, phosphorylation and role in neurodegenerative disorders. *Brain Res. Brain Res. Rev.* **33**, 95–130 (2000).
36. Sergeant, N. *et al.* Biochemistry of Tau in Alzheimer's disease and related neurological disorders. *Expert Rev. Proteomics* **5**, 207–224 (2008).
37. Sergeant, N., Delacourte, A. & Buée, L. Tau protein as a differential biomarker of tauopathies. *Biochim. Biophys. Acta* **1739**, 179–197 (2005).
38. Himmler, A., Drechsel, D., Kirschner, M. W. & Martin, D. W., Jr. Tau consists of a set of proteins with repeated C-terminal microtubule-binding domains and variable N-terminal domains. *Mol. Cell. Biol.* **9**, 1381–1388 (1989).
39. Gustke, N., Trinczek, B., Biernat, J., Mandelkow, E. M. & Mandelkow, E. Domains of tau protein and interactions with microtubules. *Biochemistry (Mosc.)* **33**, 9511–9522 (1994).
40. Trojanowski, J. Q. & Lee, V. M. Paired helical filament tau in Alzheimer's disease. The kinase connection. *Am. J. Pathol.* **144**, 449–453 (1994).

41. Di Santo, S. G., Prinelli, F., Adorni, F., Caltagirone, C. & Musicco, M. A meta-analysis of the efficacy of donepezil, rivastigmine, galantamine, and memantine in relation to severity of Alzheimer's disease. *J. Alzheimers Dis. JAD* **35**, 349–361 (2013).
42. Gareri, P. *et al.* Retrospective Study on the Benefits of Combined Memantine and cholinEsterase inhibitor treatMent in AGEd Patients affected with Alzheimer's Disease: The MEMAGE Study. *J. Alzheimers Dis. JAD* (2014). doi:10.3233/JAD-132735
43. Muayqil, T. & Camicioli, R. Systematic review and meta-analysis of combination therapy with cholinesterase inhibitors and memantine in Alzheimer's disease and other dementias. *Dement. Geriatr. Cogn. Disord. Extra* **2**, 546–572 (2012).
44. Mangialasche, F., Solomon, A., Winblad, B., Mecocci, P. & Kivipelto, M. Alzheimer's disease: clinical trials and drug development. *Lancet Neurol.* **9**, 702–716 (2010).
45. Salloway, S. *et al.* Two phase 3 trials of bapineuzumab in mild-to-moderate Alzheimer's disease. *N. Engl. J. Med.* **370**, 322–333 (2014).
46. Doody, R. S. *et al.* Phase 3 trials of solanezumab for mild-to-moderate Alzheimer's disease. *N. Engl. J. Med.* **370**, 311–321 (2014).
47. Götz, J., Ittner, A. & Ittner, L. M. Tau-targeted treatment strategies in Alzheimer's disease. *Br. J. Pharmacol.* **165**, 1246–1259 (2012).
48. Iqbal, K. & Grundke-Iqbal, I. Alzheimer neurofibrillary degeneration: significance, etiopathogenesis, therapeutics and prevention. *J. Cell. Mol. Med.* **12**, 38–55 (2008).
49. Caccamo, A., Oddo, S., Tran, L. X. & LaFerla, F. M. Lithium reduces tau phosphorylation but not A beta or working memory deficits in a transgenic model with both plaques and tangles. *Am. J. Pathol.* **170**, 1669–1675 (2007).
50. Van Bebber, F., Paquet, D., Hruscha, A., Schmid, B. & Haass, C. Methylene blue fails to inhibit Tau and polyglutamine protein dependent toxicity in zebrafish. *Neurobiol. Dis.* **39**, 265–271 (2010).
51. Asuni, A. A., Boutajangout, A., Quartermain, D. & Sigurdsson, E. M. Immunotherapy targeting pathological tau conformers in a tangle mouse model reduces brain pathology with associated functional improvements. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* **27**, 9115–9129 (2007).
52. Boutajangout, A., Ingadottir, J., Davies, P. & Sigurdsson, E. M. Passive immunization targeting pathological phospho-tau protein in a mouse model reduces functional decline and clears tau aggregates from the brain. *J. Neurochem.* **118**, 658–667 (2011).
53. Troquier, L. *et al.* Targeting phospho-Ser422 by active Tau Immunotherapy in the THY Tau22 mouse model: a suitable therapeutic approach. *Curr. Alzheimer Res.* **9**, 397–405 (2012).
54. Morris, M., Maeda, S., Vossel, K. & Mucke, L. The many faces of tau. *Neuron* **70**, 410–426 (2011).
55. Aisen, P. S., Cummings, J. & Schneider, L. S. Symptomatic and nonamyloid/tau based pharmacologic treatment for Alzheimer disease. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* **2**, a006395 (2012).
56. Holtzman, A. & Simon, E. W. Body temperature as a risk factor for Alzheimer's disease. *Med. Hypotheses* **55**, 440–444 (2000).
57. Baranov, D. *et al.* Consensus statement: First International Workshop on Anesthetics and Alzheimer's disease. *Anesth. Analg.* **108**, 1627–1630 (2009).
58. Di Nino, G. *et al.* Peri-operative risk management in patients with Alzheimer's disease. *J. Alzheimers Dis. JAD* **22 Suppl 3**, 121–127 (2010).
59. Funder, K. S., Steinmetz, J. & Rasmussen, L. S. Anesthesia for the patient with dementia. *J. Alzheimers Dis. JAD* **22 Suppl 3**, 129–134 (2010).

60. Guétin, S. *et al.* Effect of music therapy on anxiety and depression in patients with Alzheimer's type dementia: randomised, controlled study. *Dement. Geriatr. Cogn. Disord.* **28**, 36–46 (2009).
61. BEDFORD, P. D. Adverse cerebral effects of anaesthesia on old people. *Lancet* **269**, 259–263 (1955).
62. Auroy, Y. *et al.* [Anesthetics according to characteristics of patients, establishments and indications]. *Ann. Fr. Anesthésie Réanimation* **17**, 1311–1316 (1998).
63. Wacker, P., Nunes, P. V., Cabrita, H. & Forlenza, O. V. Post-operative delirium is associated with poor cognitive outcome and dementia. *Dement. Geriatr. Cogn. Disord.* **21**, 221–227 (2006).
64. Linstedt, U. *et al.* Serum concentration of S-100 protein in assessment of cognitive dysfunction after general anesthesia in different types of surgery. *Acta Anaesthesiol. Scand.* **46**, 384–389 (2002).
65. Dyer, C. B., Ashton, C. M. & Teasdale, T. A. Postoperative delirium. A review of 80 primary data-collection studies. *Arch. Intern. Med.* **155**, 461–465 (1995).
66. Lin, Y., Chen, J. & Wang, Z. Meta-analysis of factors which influence delirium following cardiac surgery. *J. Card. Surg.* **27**, 481–492 (2012).
67. Rudolph, J. L. & Marcantonio, E. R. Review articles: postoperative delirium: acute change with long-term implications. *Anesth. Analg.* **112**, 1202–1211 (2011).
68. Hosie, A., Davidson, P. M., Agar, M., Sanderson, C. R. & Phillips, J. Delirium prevalence, incidence, and implications for screening in specialist palliative care inpatient settings: a systematic review. *Palliat. Med.* **27**, 486–498 (2013).
69. Silverstein, J. H. & Deiner, S. G. Perioperative delirium and its relationship to dementia. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* **43**, 108–115 (2013).
70. O'Regan, N. A., Fitzgerald, J., Timmons, S., O'Connell, H. & Meagher, D. Delirium: a key challenge for perioperative care. *Int. J. Surg. Lond. Engl.* **11**, 136–144 (2013).
71. Bekker, A. *et al.* Does mild cognitive impairment increase the risk of developing postoperative cognitive dysfunction? *Am. J. Surg.* **199**, 782–788 (2010).
72. Marcantonio, E. R. *et al.* The relationship of postoperative delirium with psychoactive medications. *JAMA J. Am. Med. Assoc.* **272**, 1518–1522 (1994).
73. Crane, J. H. & Suda, K. J. Oxycodone induced delirium and agitation in an elderly patient following total right knee arthroplasty. *Int. J. Clin. Pharm.* **33**, 733–736 (2011).
74. O'Neil, C. K., Hanlon, J. T. & Marcum, Z. A. Adverse effects of analgesics commonly used by older adults with osteoarthritis: focus on non-opioid and opioid analgesics. *Am. J. Geriatr. Pharmacother.* **10**, 331–342 (2012).
75. Sieber, F. E., Mears, S., Lee, H. & Gottschalk, A. Postoperative opioid consumption and its relationship to cognitive function in older adults with hip fracture. *J. Am. Geriatr. Soc.* **59**, 2256–2262 (2011).
76. Monk, T. G. *et al.* Predictors of cognitive dysfunction after major noncardiac surgery. *Anesthesiology* **108**, 18–30 (2008).
77. Witlox, J. *et al.* Delirium in elderly patients and the risk of postdischarge mortality, institutionalization, and dementia: a meta-analysis. *JAMA J. Am. Med. Assoc.* **304**, 443–451 (2010).
78. Inouye, S. K. *et al.* A multicomponent intervention to prevent delirium in hospitalized older patients. *N. Engl. J. Med.* **340**, 669–676 (1999).
79. Seitz, D. P., Gill, S. S. & van Zyl, L. T. Antipsychotics in the treatment of delirium: a systematic review. *J. Clin. Psychiatry* **68**, 11–21 (2007).
80. Meagher, D. J. *et al.* What do we really know about the treatment of delirium with antipsychotics? ten key issues for delirium pharmacotherapy. *Am. J. Geriatr. Psychiatry Off. J. Am. Assoc. Geriatr. Psychiatry* **21**, 1223–1238 (2013).

81. Popp, J. & Arlt, S. Prevention and treatment options for postoperative delirium in the elderly. *Curr. Opin. Psychiatry* **25**, 515–521 (2012).
82. Rasmussen, L. S. *et al.* The assessment of postoperative cognitive function. *Acta Anaesthesiol. Scand.* **45**, 275–289 (2001).
83. Franks, N. P. General anaesthesia: from molecular targets to neuronal pathways of sleep and arousal. *Nat. Rev. Neurosci.* **9**, 370–386 (2008).
84. Grasshoff, C., Rudolph, U. & Antkowiak, B. Molecular and systemic mechanisms of general anaesthesia: the ‘multi-site and multiple mechanisms’ concept. *Curr. Opin. Anaesthesiol.* **18**, 386–391 (2005).
85. Jurd, R. *et al.* General anesthetic actions in vivo strongly attenuated by a point mutation in the GABA(A) receptor beta3 subunit. *FASEB J. Off. Publ. Fed. Am. Soc. Exp. Biol.* **17**, 250–252 (2003).
86. Sonner, J. M. *et al.* GABA(A) receptor blockade antagonizes the immobilizing action of propofol but not ketamine or isoflurane in a dose-related manner. *Anesth. Analg.* **96**, 706–712, table of contents (2003).
87. Hentschke, H., Schwarz, C. & Antkowiak, B. Neocortex is the major target of sedative concentrations of volatile anaesthetics: strong depression of firing rates and increase of GABAA receptor-mediated inhibition. *Eur. J. Neurosci.* **21**, 93–102 (2005).
88. Caraiscos, V. B. *et al.* Selective enhancement of tonic GABAergic inhibition in murine hippocampal neurons by low concentrations of the volatile anesthetic isoflurane. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* **24**, 8454–8458 (2004).
89. Ranft, A. *et al.* Isoflurane modulates glutamatergic and GABAergic neurotransmission in the amygdala. *Eur. J. Neurosci.* **20**, 1276–1280 (2004).
90. Bohnen, N. I., Warner, M. A., Kokmen, E., Beard, C. M. & Kurland, L. T. Alzheimer’s disease and cumulative exposure to anesthesia: a case-control study. *J. Am. Geriatr. Soc.* **42**, 198–201 (1994).
91. Bohnen, N., Warner, M. A., Kokmen, E. & Kurland, L. T. Early and midlife exposure to anesthesia and age of onset of Alzheimer’s disease. *Int. J. Neurosci.* **77**, 181–185 (1994).
92. Muravchick, S. & Smith, D. S. Parkinsonian symptoms during emergence from general anesthesia. *Anesthesiology* **82**, 305–307 (1995).
93. Fong, T. G. *et al.* Delirium accelerates cognitive decline in Alzheimer disease. *Neurology* **72**, 1570–1575 (2009).
94. Bufill, E. *et al.* [Genetic and environmental factors that may influence in the senile form of Alzheimer’s disease: nested case control studies]. *Neurol. Barc. Spain* **24**, 108–112 (2009).
95. Palotás, A. *et al.* Coronary artery bypass surgery provokes Alzheimer’s disease-like changes in the cerebrospinal fluid. *J. Alzheimers Dis. JAD* **21**, 1153–1164 (2010).
96. Xie, Z. *et al.* Cerebrospinal fluid a β to tau ratio and postoperative cognitive change. *Ann. Surg.* **258**, 364–369 (2013).
97. Duits, F. H. *et al.* The cerebrospinal fluid ‘Alzheimer profile’: Easily said, but what does it mean? *Alzheimers Dement. J. Alzheimers Assoc.* (2014). doi:10.1016/j.jalz.2013.12.023
98. Xie, Z. & Tanzi, R. E. Alzheimer’s disease and post-operative cognitive dysfunction. *Exp. Gerontol.* **41**, 346–359 (2006).
99. Kokmen, E., Whisnant, J. P., O’Fallon, W. M., Chu, C. P. & Beard, C. M. Dementia after ischemic stroke: a population-based study in Rochester, Minnesota (1960-1984). *Neurology* **46**, 154–159 (1996).
100. Snowdon, D. A. *et al.* Brain infarction and the clinical expression of Alzheimer disease. The Nun Study. *JAMA J. Am. Med. Assoc.* **277**, 813–817 (1997).
101. Moroney, J. T. *et al.* Risk factors for incident dementia after stroke. Role of hypoxic and ischemic disorders. *Stroke J. Cereb. Circ.* **27**, 1283–1289 (1996).

102. Gozal, D., Daniel, J. M. & Dohanich, G. P. Behavioral and anatomical correlates of chronic episodic hypoxia during sleep in the rat. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* **21**, 2442–2450 (2001).
103. Goldbart, A. *et al.* Intermittent hypoxic exposure during light phase induces changes in cAMP response element binding protein activity in the rat CA1 hippocampal region: water maze performance correlates. *Neuroscience* **122**, 585–590 (2003).
104. Nair, D., Dayyat, E. A., Zhang, S. X., Wang, Y. & Gozal, D. Intermittent hypoxia-induced cognitive deficits are mediated by NADPH oxidase activity in a murine model of sleep apnea. *PLoS One* **6**, e19847 (2011).
105. Zhang, X. *et al.* Hypoxia-inducible factor 1alpha (HIF-1alpha)-mediated hypoxia increases BACE1 expression and beta-amyloid generation. *J. Biol. Chem.* **282**, 10873–10880 (2007).
106. Guglielmotto, M. *et al.* The up-regulation of BACE1 mediated by hypoxia and ischemic injury: role of oxidative stress and HIF1alpha. *J. Neurochem.* **108**, 1045–1056 (2009).
107. Webster, N. J., Green, K. N., Peers, C. & Vaughan, P. F. T. Altered processing of amyloid precursor protein in the human neuroblastoma SH-SY5Y by chronic hypoxia. *J. Neurochem.* **83**, 1262–1271 (2002).
108. Fisk, L., Nalivaeva, N. N., Boyle, J. P., Peers, C. S. & Turner, A. J. Effects of hypoxia and oxidative stress on expression of neprilysin in human neuroblastoma cells and rat cortical neurones and astrocytes. *Neurochem. Res.* **32**, 1741–1748 (2007).
109. Wang, Z. *et al.* Hypoxia-induced down-regulation of neprilysin by histone modification in mouse primary cortical and hippocampal neurons. *PLoS One* **6**, e19229 (2011).
110. Carnini, A., Lear, J. D. & Eckenhoff, R. G. Inhaled anesthetic modulation of amyloid beta(1-40) assembly and growth. *Curr. Alzheimer Res.* **4**, 233–241 (2007).
111. Eckenhoff, R. G. *et al.* Inhaled anesthetic enhancement of amyloid-beta oligomerization and cytotoxicity. *Anesthesiology* **101**, 703–709 (2004).
112. Mandal, P. K. & Pettegrew, J. W. Abeta peptide interactions with isoflurane, propofol, thiopental and combined thiopental with halothane: a NMR study. *Biochim. Biophys. Acta* **1778**, 2633–2639 (2008).
113. Mandal, P. K. & Ahuja, M. Comprehensive nuclear magnetic resonance studies on interactions of amyloid- β with different molecular sized anesthetics. *J. Alzheimers Dis. JAD* **22 Suppl 3**, 27–34 (2010).
114. Mandal, P. K. & Fodale, V. Isoflurane and desflurane at clinically relevant concentrations induce amyloid beta-peptide oligomerization: an NMR study. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **379**, 716–720 (2009).
115. Xie, Z. *et al.* The common inhalation anesthetic isoflurane induces apoptosis and increases amyloid beta protein levels. *Anesthesiology* **104**, 988–994 (2006).
116. Zhang, B. *et al.* The inhalation anesthetic desflurane induces caspase activation and increases amyloid beta-protein levels under hypoxic conditions. *J. Biol. Chem.* **283**, 11866–11875 (2008).
117. Zhen, Y. *et al.* Nitrous oxide plus isoflurane induces apoptosis and increases beta-amyloid protein levels. *Anesthesiology* **111**, 741–752 (2009).
118. Xie, Z. *et al.* The inhalation anesthetic isoflurane induces a vicious cycle of apoptosis and amyloid beta-protein accumulation. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* **27**, 1247–1254 (2007).
119. Bianchi, S. L. *et al.* Brain and behavior changes in 12-month-old Tg2576 and nontransgenic mice exposed to anesthetics. *Neurobiol. Aging* **29**, 1002–1010 (2008).
120. Perucho, J. *et al.* Anesthesia with isoflurane increases amyloid pathology in mice models of Alzheimer's disease. *J. Alzheimers Dis. JAD* **19**, 1245–1257 (2010).

121. Dong, Y. *et al.* The common inhalational anesthetic sevoflurane induces apoptosis and increases beta-amyloid protein levels. *Arch. Neurol.* **66**, 620–631 (2009).
122. Dong, Y., Wu, X., Xu, Z., Zhang, Y. & Xie, Z. Anesthetic isoflurane increases phosphorylated tau levels mediated by caspase activation and A β generation. *PLoS One* **7**, e39386 (2012).
123. Planel, E. *et al.* Anesthesia leads to tau hyperphosphorylation through inhibition of phosphatase activity by hypothermia. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* **27**, 3090–3097 (2007).
124. Planel, E. *et al.* Acceleration and persistence of neurofibrillary pathology in a mouse model of tauopathy following anesthesia. *FASEB J. Off. Publ. Fed. Am. Soc. Exp. Biol.* **23**, 2595–2604 (2009).
125. Run, X. *et al.* Anesthesia induces phosphorylation of tau. *J. Alzheimers Dis. JAD* **16**, 619–626 (2009).
126. Tan, W. *et al.* Tau hyperphosphorylation is associated with memory impairment after exposure to 1.5% isoflurane without temperature maintenance in rats. *Eur. J. Anaesthesiol.* **27**, 835–841 (2010).
127. Whittington, R. A., Papon, M.-A., Chouinard, F. & Planel, E. Hypothermia and Alzheimer's disease neuropathogenic pathways. *Curr. Alzheimer Res.* **7**, 717–725 (2010).
128. Lewis, J. *et al.* Neurofibrillary tangles, amyotrophy and progressive motor disturbance in mice expressing mutant (P301L) tau protein. *Nat. Genet.* **25**, 402–405 (2000).
129. Menuet, C. *et al.* Isoflurane anesthesia precipitates tauopathy and upper airways dysfunction in pre-symptomatic Tau.P301L mice: possible implication for neurodegenerative diseases. *Neurobiol. Dis.* **46**, 234–243 (2012).
130. Gong, C. X., Singh, T. J., Grundke-Iqbal, I. & Iqbal, K. Phosphoprotein phosphatase activities in Alzheimer disease brain. *J. Neurochem.* **61**, 921–927 (1993).
131. Vogelsberg-Ragaglia, V., Schuck, T., Trojanowski, J. Q. & Lee, V. M. PP2A mRNA expression is quantitatively decreased in Alzheimer's disease hippocampus. *Exp. Neurol.* **168**, 402–412 (2001).
132. Ikeda, Y., Ishiguro, K. & Fujita, S. C. Ether stress-induced Alzheimer-like tau phosphorylation in the normal mouse brain. *FEBS Lett.* **581**, 891–897 (2007).
133. Run, X., Liang, Z. & Gong, C.-X. Anesthetics and tau protein: animal model studies. *J. Alzheimers Dis. JAD* **22 Suppl 3**, 49–55 (2010).
134. Le Freche, H. *et al.* Tau phosphorylation and sevoflurane anesthesia: an association to postoperative cognitive impairment. *Anesthesiology* **116**, 779–787 (2012).
135. Andorfer, C. *et al.* Hyperphosphorylation and aggregation of tau in mice expressing normal human tau isoforms. *J. Neurochem.* **86**, 582–590 (2003).
136. Jevtovic-Todorovic, V. *et al.* Early exposure to common anesthetic agents causes widespread neurodegeneration in the developing rat brain and persistent learning deficits. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* **23**, 876–882 (2003).
137. Culley, D. J., Baxter, M. G., Yukhananov, R. & Crosby, G. Long-term impairment of acquisition of a spatial memory task following isoflurane-nitrous oxide anesthesia in rats. *Anesthesiology* **100**, 309–314 (2004).
138. Zhang, Y. *et al.* Anesthetics isoflurane and desflurane differently affect mitochondrial function, learning, and memory. *Ann. Neurol.* **71**, 687–698 (2012).
139. Xiao, H. *et al.* Temperature control can abolish anesthesia-induced tau hyperphosphorylation and partly reverse anesthesia-induced cognitive impairment in old mice. *Psychiatry Clin. Neurosci.* **67**, 493–500 (2013).
140. Yeung, L. Y. *et al.* Hyperphosphorylated tau in the brains of mice and monkeys with long-term administration of ketamine. *Toxicol. Lett.* **193**, 189–193 (2010).

141. Stokes, E. L., Flecknell, P. A. & Richardson, C. A. Reported analgesic and anaesthetic administration to rodents undergoing experimental surgical procedures. *Lab. Anim.* **43**, 149–154 (2009).
142. Wolff, K. & Winstock, A. R. Ketamine □: from medicine to misuse. *CNS Drugs* **20**, 199–218 (2006).
143. Wang, J.-Z., Grundke-Iqbal, I. & Iqbal, K. Kinases and phosphatases and tau sites involved in Alzheimer neurofibrillary degeneration. *Eur. J. Neurosci.* **25**, 59–68 (2007).
144. Erickson, J. R. Mechanisms of CaMKII Activation in the Heart. *Front. Pharmacol.* **5**, 59 (2014).

VI. ANNEXES

A. ANNEXE 1 : MINI MENTAL STATE EXAMINATION

Mini Mental State Examination (MMSE) (Version consensuelle du GRECO)

Orientation

/ 10

Je vais vous poser quelques questions pour apprécier comment fonctionne votre mémoire. Les unes sont très simples, les autres un peu moins. Vous devez répondre du mieux que vous pouvez. Quelle est la date complète d'aujourd'hui ?

Si la réponse est incorrecte ou incomplète, posées les questions restées sans réponse, dans l'ordre suivant :

1. En quelle année sommes-nous ?
2. En quelle saison ?
3. En quel mois ?
4. Quel jour du mois ?
5. Quel jour de la semaine ?

Je vais vous poser maintenant quelques questions sur l'endroit où nous trouvons.

6. Quel est le nom de l'hôpital où nous sommes ?*
7. Dans quelle ville se trouve-t-il ?
8. Quel est le nom du département dans lequel est située cette ville ?**
9. Dans quelle province ou région est située ce département ?
10. A quel étage sommes-nous ?

Apprentissage

/ 3

Je vais vous dire trois mots ; je vous voudrais que vous me les répétiez et que vous essayiez de les retenir car je vous les redemanderai tout à l'heure.

- | | | | |
|------------|---------------|-----------------|--------------------------|
| 11. Cigare | <i>Citron</i> | <i>Fauteuil</i> | <input type="checkbox"/> |
| 12. Fleur | <i>Clé</i> | <i>Tulipe</i> | <input type="checkbox"/> |
| 13. Porte | <i>Ballon</i> | <i>Canard</i> | <input type="checkbox"/> |

Répéter les 3 mots.

Attention et calcul

/ 5

Voulez-vous compter à partir de 100 en retirant 7 à chaque fois ?*

14. 93
15. 86
16. 79
17. 72
18. 65

Pour tous les sujets, même pour ceux qui ont obtenu le maximum de points, demander : Voulez-vous épeler le mot MONDE à l'envers ?**

Rappel

/ 3

Pouvez-vous me dire quels étaient les 3 mots que je vous ai demandés de répéter et de retenir tout à l'heure ?

- | | | | |
|------------|---------------|-----------------|--------------------------|
| 11. Cigare | <i>Citron</i> | <i>Fauteuil</i> | <input type="checkbox"/> |
| 12. Fleur | <i>Clé</i> | <i>Tulipe</i> | <input type="checkbox"/> |
| 13. Porte | <i>Ballon</i> | <i>Canard</i> | <input type="checkbox"/> |

Langage

/ 8

- Montrer un crayon. 22. Quel est le nom de cet objet ?*
- Montrer votre montre. 23. Quel est le nom de cet objet ?**
24. Ecoutez bien et répétez après moi : « PAS DE MAIS, DE SI, NI DE ET »***

Poser une feuille de papier sur le bureau, la montrer au sujet en lui disant : « Ecoutez bien et faites ce que je vais vous dire :

25. Prenez cette feuille de papier avec votre main droite,
26. Pliez-la en deux,
27. Et jetez-la par terre. »****

Tendre au sujet une feuille de papier sur laquelle est écrit en gros caractère : « FERMEZ LES YEUX » et dire au sujet :

28. « Faites ce qui est écrit »

Tendre au sujet une feuille de papier et un stylo, en disant :

29. « Voulez-vous m'écrire une phrase, ce que vous voulez, mais une phrase entière. »

Praxies constructives

/ 1

Tendre au sujet une feuille de papier et lui demander :

30. « Voulez-vous recopier ce dessin ? »

B. ANNEXE 2 : ECHELLE IADL SIMPLIFIEE

Activités de la vie quotidienne IADL de LAWTON

Capacité à utiliser le téléphone

Je me sers du téléphone de ma propre initiative, cherche et compose les numéros 0

Je compose un petit nombre de numéros bien connus 1

Je réponds au téléphone mais je n'appelle pas 1

Je suis incapable d'utiliser le téléphone 1

Moyen de transport

Je peux voyager seul de façon indépendante (par les transports en commun, ou avec ma propre voiture) 0

Je peux me déplacer seul(e) en taxi, pas en autobus 1

Je peux prendre les transports en commun si je suis accompagné (e) 1

Transport limité au taxi ou à la voiture, en étant accompagné(e) 1

Je ne me déplace pas du tout 1

Responsabilité pour la prise des médicaments

Je m'occupe moi-même de la prise : dosage et horaire 0

Je peux les prendre moi-même, s'ils sont préparés et dosés à l'avance 1

Je suis incapable de les prendre moi-même 1

Capacité à gérer son budget

Je suis totalement autonome (gérer le budget, faire des chèques, payer des factures) 0

Je me débrouille pour les dépenses au jour le jour, mais j'ai besoin d'aide pour gérer mon budget à long terme (pour planifier les grosses dépenses) 1

Je suis incapable de gérer l'argent nécessaire à payer mes dépenses au jour le jour 1

Chaque item est coté en se basant sur les réponses du patient et en tenant compte de la personne vivant avec lui au quotidien.

MEMOIRE de DIPLOME D'ETUDES SPECIALISEES

(tenant lieu de Thèse en vue du Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie)

Année Universitaire 2013/2014

Nom : ALVES PIRES

Prénom : Claire

Titre du mémoire / thèse : Effet des agents anesthésiques dans la survenue des démences cognitives post opératoires et de la maladie d'Alzheimer.

Mots-clés : Maladie d'Alzheimer, Agents anesthésiques, Démences cognitives post-opératoires, Dégénérescence Neurofibrillaire

Résumé :

La maladie d'Alzheimer (MA) est une maladie neurodégénérative multifactorielle représentant 60 à 80% des démences, et atteignant plus de 600 000 patients en France.

Parmi les facteurs de risques de la MA, de plus en plus d'études indiquent aujourd'hui que les anesthésies générales, déjà connues pour engendrer des dysfonctions cognitives postopératoires chez les patients, pourraient également être responsables de la conversion des patients vers la MA.

Ce mémoire de DES rassemble les différentes données cliniques et expérimentales de la littérature sur ce sujet. A cette revue bibliographique viennent s'ajouter les résultats d'une étude expérimentale réalisée au sein du laboratoire du Dr Luc Buée à Lille, s'intéressant aux effets de certains agents anesthésiques sur la cognition des animaux, mais aussi sur l'état de phosphorylation de la protéine Tau (déjà connue dans la MA), et qui apparaît de plus en plus comme étant un acteur central dans la relation entre les agents anesthésiques et le risque de démence.

Membres du jury :

Président : Decaudin Bertrand, PU-PH pharmacien, Lille

Assesseur(s) : Schraen-Maschke Susanna, MCU-PH pharmacien, Lille

Chillon Jean-Marc, PU-PH pharmacien, Amiens

Lefebvre Marie-Noëlle, PH pharmacien, Lille

Buée Luc, DR1 CNRS biologiste, Lille