

Université de Montréal

**Rôle de la pression pulsée dans la détérioration des
fonctions cérébrovasculaires et cognitives, avec l'âge et
en association avec des facteurs de risque vasculaires**

Par :

Olivia de Montgolfier

Département de Pharmacologie et Physiologie

Faculté de Médecine

Thèse présentée à la Faculté de Médecine en vue de l'obtention du grade de
Doctorat en Pharmacologie

Mars 2019

©Olivia de Montgolfier, 2019

Université de Montréal
Département de Pharmacologie et Physiologie, Faculté de médecine

Cette thèse intitulée :

Rôle de la pression pulsée dans la détérioration des fonctions cérébrovasculaires et cognitives, avec l'âge et en association avec des facteurs de risque vasculaires

Présentée par :

Olivia de Montgolfier

A été évaluée par un jury composé des personnes suivantes :

Louis-Éric Trudeau
Président-rapporteur

Éric Thorin
Directeur de recherche

Hélène Girouard
Membre du jury

Frédéric Calon
Examineur externe

Daniel Gagnon
Représentant de la doyenne

Résumé

Au cours du vieillissement, la rigidification des artères élastiques entraîne une augmentation de l'amplitude de la pression pulsée centrale, qui se propage dans la microcirculation cérébrale. De façon chronique, l'élévation anormale de la pression pulsée endommage les fonctions vasculaires et cérébrales, pouvant être impliquée dans le développement d'une déficience cognitive d'origine vasculaire. Ceci est supporté par l'observation d'anomalies cérébrovasculaires chez les individus atteints de démence vasculaire et de la maladie d'Alzheimer. De plus, les individus exposés aux facteurs de risque vasculaires (hypertension, obésité, diabète, athérosclérose), démontrent une vascularisation fragilisée, une augmentation de la pression pulsée centrale et présentent un déclin cognitif. Il est donc probable qu'en association avec l'âge, les facteurs de risque vasculaires favorisent de façon mécanistique la propagation de la pression pulsée dans la circulation cérébrale et révèlent de façon prématurée le déclin cognitif. Le lien mécanistique entre l'augmentation de la pression pulsée cérébrale, les facteurs de risque vasculaires, les dommages cérébrovasculaires et l'incidence de la démence reste à être plus clairement investigué. La présente thèse vise ainsi à étudier l'hypothèse biomécanique du rôle délétère de la pression pulsée dans la détérioration des fonctions cérébrovasculaires et cognitives, avec l'âge et en association avec les facteurs de risque vasculaires, en élucidant la cascade des événements pathologiques depuis l'élévation de la pression pulsée centrale jusqu'à l'incidence de la démence. Afin de vérifier notre hypothèse, nous avons entrepris dans une première étude d'étudier chez la souris WT, l'impact de l'augmentation *in vivo* d'un stress mécanique pulsatile central (par chirurgie TAC) sur la vasculature cérébrale, le tissu cérébral et les fonctions cognitives. Ce stress a été induit en parallèle dans le modèle de souris transgénique APP/PS1 de la maladie d'Alzheimer. Nous avons pu démontrer que les vaisseaux cérébraux des souris WT et APP/PS1 sont vulnérables au stress mécanique de la pression pulsée, caractérisé par une diminution de la réponse vasodilatatrice des artères piales, une raréfaction des capillaires due à une apoptose, l'incidence de micro-hémorragies, une rupture de la barrière hémato-encéphalique et une hypoperfusion cérébrale. Ces dommages cumulatifs à la

microcirculation cérébrale sont associés à une inflammation cérébrale et à une diminution des performances d'apprentissage et de mémoire de travail et spatiale des souris. De plus, le phénotype Alzheimer des souris APP/PS1 est exacerbé en présence du stress vasculaire, exprimé par l'augmentation des dépôts bêta-amyloïdes, ainsi que la dysfonction endothéliale cérébrale et l'inflammation cérébrale déjà présentes dans ce modèle.

Dans une deuxième étude, nous avons caractérisé les fonctions cérébrovasculaires et cognitives des souris transgéniques LDLR^{-/-};hApoB₁₀₀^{+/+} avec l'ajout ou non d'un stress mécanique pulsatile central *in vivo* (par chirurgie TAC). Ces souris présentent des facteurs de risques des maladies cardiovasculaires (hypertension et dyslipidémie) menant au développement d'athérosclérose et miment un vieillissement artériel central accéléré (rigidité aortique et des carotides, dysfonction endothéliale, augmentation de la pression pulsée). Nous avons démontré que les souris LDLR^{-/-};hApoB₁₀₀^{+/+} exhibent des anomalies cérébrovasculaires structurelles et fonctionnelles, dont une atrophie cérébrale, une dysfonction endothéliale cérébrale, une hypoperfusion cérébrale, une augmentation de la perméabilité de la barrière hémato-encéphalique, des micro-hémorragies corticales, la présence d'inflammation, de sénescence et de stress oxydant au niveau vasculaire et parenchymateux. L'ensemble de ces altérations majoritairement vasculaires, sont associées à une diminution des performances cognitives et sont exacerbées en présence d'un stress vasculaire additif. Nos deux études chez la souris démontrent qu'en présence d'une pression pulsée élevée, les dommages à la microvasculature cérébrale conduisent à une perte fonctionnelle de l'homéostasie cérébrale et à un déclin cognitif, dont l'incidence est accélérée soit dans un modèle de démence ou soit de vieillissement artériel central et en présence de facteurs de risque des maladies cardiovasculaires. Nos études fournissent la démonstration mécanistique d'un continuum entre une augmentation de pression pulsée et un déclin cognitif vasculaire.

Mots-clés : pression pulsée, stress mécanique, stress hémodynamique, âge, facteurs de risque des maladies cardiovasculaires, facteurs de risque vasculaires, hypertension, athérosclérose, microcirculation cérébrale, endothélium, dysfonction endothéliale,

couplage neurovasculaire, démence vasculaire, maladie d'Alzheimer, inflammation, stress oxydant, sénescence, hypoperfusion cérébrale, déclin cognitif.

Abstract

With advancing age, the large elastic arteries undergo significant stiffening, resulting in increased central pulse pressure waves that penetrates deeper the cerebral microcirculation and may result in cerebrovascular and neuronal tissue damages, likely contributing to the development of cognitive impairment from vascular injury origin. This is compatible with strong evidence between impaired cerebrovascular structure and function in the brain of patients with vascular dementia or Alzheimer's disease. In addition, elderly individuals are subjected in their lifetime to multiple vascular risk factors (hypertension, obesity, diabetes, atherosclerosis), all of which are known to be deleterious to the vascular function, are associated with an increase in central pulse pressure and with cognitive decline. Therefore, it is likely that with age, risk factors for vascular diseases may mechanistically promote the propagation of pulse pressure into the cerebrovascular system and reveal prematurely the brain susceptibility to cognitive decline. The present thesis was conducted to study the biomechanical hypothesis of the deleterious role of the pulse pressure in the deterioration of cerebrovascular and cognitive functions, with age and in association with vascular risk factors, by elucidating the cascade of pathological events linking the increase in central pulse pressure to the expression of dementia. To validate our hypothesis, we first studied in mice the impact of the *in vivo* increase of central pulsatile mechanical stress (achieved by trans-aortic constriction surgery) on the cerebral vasculature, brain tissue and cognitive functions. This stress was also induced in the APP/PS1 transgenic mouse model of Alzheimer's disease. We have shown that cerebral vessels of WT and APP/PS1 mice are vulnerable to the mechanical stress of the increased pulse pressure, which is characterized by a decrease in the vasodilatory response of the pial arteries, a rarefaction of the capillaries due to apoptosis, the incidence of micro-hemorrhages, a rupture of the blood-brain barrier and cerebral hypoperfusion. These cumulative damages to the cerebral

microcirculation are associated with brain inflammation and poorer learning and working and spatial memory performances in mice. The Alzheimer's phenotype of APP/PS1 mice was exacerbated in the presence of elevated pulse pressure, as shown by the increase in beta-amyloid deposits, the decreased in endothelial cerebral vasodilatory responses and brain inflammation, which are already present in this model.

In a second study, we sought to characterize the cerebrovascular and cognitive functions in the transgenic mouse model $LDLR^{-/-};hApoB_{100}^{+/+}$, subjected or not *in vivo* to a central pulsatile mechanical stress (by trans-aortic constriction surgery). These mice exhibit risk factors for cardiovascular diseases (hypertension and dyslipidemia), develop atherosclerosis and mimic premature central arterial aging (aortic and carotid stiffness, endothelial dysfunction, increased pulse pressure). We reported that $LDLR^{-/-};hApoB_{100}^{+/+}$ mice were characterized by structural and functional brain vascular abnormalities, including cerebral hypoperfusion, increased permeability of the blood-brain barrier, endothelial cerebral dysfunction, microhemorrhages, but also cerebral atrophy and the presence of inflammation, senescence and high oxidative stress at the vascular and parenchymal level. In addition, all these alterations, which are mainly vascular, were associated with a decrease in the cognitive performance of mice. Also, these vascular, parenchymal and cognitive changes were exacerbated in the presence of the vascular stress induced by transverse aortic constriction. Altogether, our two studies in mice demonstrated that, in the presence of an increase in pulse pressure, the damages to the micro-cerebrovascular system lead to loss of cerebral homeostasis and to cognitive decline, which are accelerated in a model of dementia or a model of central vascular aging and in presence of vascular risk factors. Our studies highlight the mechanistic demonstration of a continuum between an increase in pulse pressure and vascular cognitive decline.

Keywords : pulse pressure, mechanical stress, age, cardiovascular risk factors, vascular risk factors, hypertension, atherosclerosis, cerebral microcirculation, endothelium, endothelial dysfunction, neurovascular coupling, vascular dementia, Alzheimer's disease, inflammation, oxidative stress, senescence, cerebral hypoperfusion, cognitive decline.

Table des matières

Résumé.....	III
Abstract.....	V
Liste des tableaux.....	X
Liste des figures.....	XI
Liste des abréviations.....	XIII
Remerciements.....	XVIII
1 Introduction générale.....	1
1.1 Physiologie du système artériel.....	2
1.1.1 Structure et propriétés mécaniques classiques de la paroi artérielle.....	2
1.1.2 Fonctions du système artériel.....	5
1.1.3 Caractéristiques hémodynamiques du système artériel.....	7
1.1.3.1 La pression artérielle pulsatile.....	7
1.1.3.2 Les forces mécaniques et leur rôle physiologique.....	8
1.2 Physiologie de la circulation cérébrale.....	11
1.2.1 Généralités.....	11
1.2.2 Anatomie de la circulation cérébrale.....	12
1.2.3 Caractéristiques structurales des vaisseaux cérébraux :.....	13
1.2.4 Caractéristiques fonctionnelles des vaisseaux cérébraux :.....	15
1.2.5 La microcirculation et l'unité neurovasculaire :.....	16
1.2.6 La barrière hémato-encéphalique :.....	20
1.2.7 Régulation du débit sanguin cérébral et des fonctions cérébrovasculaires :..	22
1.2.7.1 Régulation du débit sanguin cérébral en réponse à des variations	
systémiques :.....	22
- Variation de la composition sanguine.....	22
1.2.7.2 Variation de la pression de perfusion cérébrale : l'autorégulation.....	23
- Définition de l'autorégulation :.....	23
- Le mécanisme de l'autorégulation : la réponse conventionnelle	
myogénique.....	24
1.2.7.3 Autres régulateurs dans l'autorégulation du DSC :.....	27
- La réponse endothéliale.....	27
- La réponse neurogène.....	29
1.2.7.4 Régulation locale du débit sanguin cérébral : le couplage neurovasculaire	
ou hyperémie fonctionnelle.....	31
- Définition du couplage neurovasculaire.....	31
- Mécanismes de l'hyperémie fonctionnelle.....	31
1.3 Impact du vieillissement sur le système artériel et cérébral.....	37
1.3.1 Changements structuraux et fonctionnels des artères périphériques au cours	
du vieillissement :.....	37
1.3.1.1 Changements structuraux :.....	37
1.3.1.2 Changements fonctionnels : La dysfonction endothéliale vasculaire.....	39
1.3.1.3 De la dysfonction endothéliale au développement de l'athérosclérose :.....	43

1.3.2 Conséquences des changements artériels sur la fonction cardiovasculaire : .	46
1.3.3 Conséquences des changements artériels sur la fonction cérébrale : propagation de la pression pulsée dans la microcirculation au cours du vieillessement :.....	48
1.3.4 Changements des artères cérébrales au cours du vieillissement :.....	52
1.3.4.1 Changements structurels et fonctionnels des artères cérébrales.....	53
- Raréfaction des capillaires.....	53
- Dysfonction des mécanismes impliqués dans la réactivité cérébrovasculaire	53
- Perturbations du maintien de la barrière-hémato-encéphalique	55
- Diminution du débit sanguin cérébral	56
1.3.4.2 Autres changements structurels, fonctionnels et moléculaires dans le cerveau au cours du vieillissement :	57
- Atrophie cérébrale	57
- Altération neuronale et perte synaptique.....	57
- Déclin des fonctions cognitives	58
- Déclin dans la production des neurotransmetteurs.....	59
- Vulnérabilité du cerveau à l'inflammation, au stress oxydant et à la sénescence	60
1.3.5 Contribution des facteurs de risque cardiovasculaires dans la dysfonction cérébrale associée au déclin cognitif au cours du vieillissement	63
1.4 La démence : la démence vasculaire et la maladie d'Alzheimer	69
1.4.1 Définition de la démence	69
1.4.2 La maladie d'Alzheimer	69
1.4.2.1 Caractérisation histopathologique de la maladie d'Alzheimer	69
1.4.2.2 Causes et contribution des facteurs de risque vasculaires dans la MA....	72
1.4.2.3 Hypothèses de la pathogenèse de la MA	76
- L'hypothèse amyloïde	76
- L'hypothèse vasculaire	81
1.4.2.4 La dysfonction cérébrovasculaire dans la MA	83
1.4.2.5 Modèles animaux de la maladie d'Alzheimer.....	86
1.4.3 La démence vasculaire	89
1.4.3.1 Caractérisation de la démence vasculaire.....	89
1.4.3.2 Causes et contribution des facteurs de risque vasculaire dans la démence vasculaire.....	90
1.4.3.3 La dysfonction cérébrovasculaire dans la VCI	92
1.4.3.4 Modèles animaux de la VCI	97
1.4.4 Coexistence des 2 démences et perspectives de recherche sur la démence	100
2 Recherche scientifique : hypothèse et objectifs de recherche	106
2.1 Contexte scientifique	106
2.2 Problématique de recherche	106
2.3 Objectifs de recherche :	107
2.4 ÉTUDE #1 :	108

2.4.1 Contexte :	108
2.4.2 Hypothèse :	108
2.4.3 Approche expérimentale :	109
2.4.4 Objectifs	109
2.5 ÉTUDE #2 :	111
2.5.1 Contexte :	111
2.5.2 Hypothèse :	111
2.5.3 Approche expérimentale :	111
2.5.4 Objectifs	112
2.6 Articles originaux issus des études #1 et #2	113
2.6.1 ARTICLE #1	113
2.6.2 ARTICLE #2	135
3 Discussion	158
3.1 Synthèse des résultats obtenus	158
3.2 Par quel mécanisme l'augmentation de la pression pulsée initie-t-elle son effet pathologique ?	161
3.3 Comment le remodelage vasculaire et la dysfonction endothéliale au niveau cérébral affectent-t-ils les fonctions cérébrales et cognitives ?	164
3.4 Quels sont les autres mécanismes moléculaires qui peuvent participer aux dommages cérébrovasculaires et cognitifs ?	168
3.5 Participation de la dérégulation neurohumorale aux dommages cérébrovasculaires et cognitifs :	171
3.6 Quel modèle murin serait optimal pour étudier l'hypothèse biomécanique de l'augmentation de la PP dans l'incidence des déclin cognitifs ?	175
3.7 Limites expérimentales de nos études :	177
3.8 Est-ce que l'on retrouve des dysfonctions vasculaires cérébrales dans d'autres types de maladies neurologiques ?	179
3.9 Existe-t-il une association entre l'augmentation de pression pulsée et d'autres troubles neurologiques et psychologiques ?	182
3.10 Est-ce que l'impact de la dysfonction cérébrovasculaire peut avoir des répercussions périphériques ?	183
3.11 La pression pulsée peut-elle être utilisée comme une cible thérapeutique et/ou préventive du déclin cognitif ?	183
3.11.1 Ciblage de la PP et amélioration des fonctions cognitives par des agents pharmacologiques :	183
3.11.2 Ciblage de la PP centrale et des fonctions cognitives par des agents non pharmacologiques :	192
4 Conclusion générale :	196
5 Références	198

Liste des tableaux

Tableau 1 : Changements hémodynamiques de la pression au cours du vieillissement..	46
Tableau 2 : Exemples de modèle transgéniques murins de la maladie d'Alzheimer.....	87
Tableau 3 : Exemples de modèles expérimentaux de démence vasculaire (VCI).....	99
Tableau 4 : Exemples de dysfonctions vasculaires présentes chez l'homme dans certaines maladies du SNC.....	181

Liste des figures

Figure 1 : Représentation schématique de la structure classique des artères.....	5
Figure 2 : Représentation schématique des fonctions du système artériel.	7
Figure 3 : Représentation des types de forces hémodynamiques exercées sur les cellules de la paroi vasculaire.....	10
Figure 4 : Représentation schématique de l'anatomie de la circulation cérébrale chez l'Homme.....	12
Figure 5 : Représentation schématique de la structure des artères cérébrales.	14
Figure 6 : Représentation schématique de l'unité neurovasculaire.....	19
Figure 7 : Représentation schématique de la barrière hémato-encéphalique, qui est une barrière cellulaire et moléculaire.	21
Figure 8 : Représentation graphique du principe de l'autorégulation cérébrale chez l'homme.	24
Figure 9 : Représentation simplifiée des voies de signalisation moléculaire en réponse à l'augmentation de la pression transmurale et des contraintes de cisaillement.	26
Figure 10 : Représentation de la vasodilatation vasculaire dépendante de l'endothélium.	28
Figure 11 : Mécanismes permettant l'autorégulation du DSC.	30
Figure 12 : Schématisation des principales voies astrocytaires et neuronales par lesquelles la libération du glutamate régule le flux sanguin cérébral.....	35
Figure 13 : Changements structurels et fonctionnels des artères au cours du vieillissement.....	39
Figure 14 : Représentation du mécanisme du cercle vicieux menant à la dysfonction endothéliale au cours du vieillissement.	42
Figure 15 : Représentation du rôle de la dysfonction endothéliale dans le développement de l'athérosclérose.....	44
Figure 16 : Représentation schématique du concept de bidirectionnalité entre la pression pulsée et l'athérosclérose.	45
Figure 17 : Représentation de l'incidence d'événements cardiovasculaires dépendamment de la vitesse de l'onde de pouls (cohorte de l'étude Framingham n = 2232 participants).	47
Figure 18 : Représentation schématique de l'évolution de l'amplitude de la pression pulsée au cours du vieillissement chez l'homme et son augmentation au niveau cérébral.	49
Figure 19 : Schématisation de l'hypothèse biomécanique conduisant au déclin cognitif au cours du vieillissement.....	52
Figure 20 : Schématisation de l'hypothèse biomécanique conduisant au déclin cognitif au cours du vieillissement, en association avec des facteurs de risque vasculaires.	68
Figure 21 : Lésions cérébrales caractéristiques de la maladie d'Alzheimer.	70
Figure 22 : Représentation schématique de l'hypothèse amyloïde et de l'hypothèse vasculaire dans l'incidence de la MA.....	83
Figure 23 : Représentation des lésions vasculaires associées à la VCI.	95

Figure 24 : Schématisation des contributions vasculaires à la déficience cognitive et à la démence.....	103
Figure 25 : Représentation schématique et récapitulative de l'impact des changements cardio- et cérébro-vasculaires sur le cerveau, au cours du vieillissement et en association avec des facteurs de risque vasculaires.	105
Figure 26 : Schématisation de la réflexion dans la mise en place du projet de recherche	107
Figure 27 : Schématisation des objectifs de l'étude #1.....	110
Figure 28 : Schématisation des objectifs de l'étude #2.....	112
Figure 29 : Représentation schématique des conséquences pathologiques d'une altération des forces hémodynamique sur la signalisation endothéliale.....	163
Figure 30 : Représentation schématique des conséquences pathologiques d'une altération des forces hémodynamique sur l'homéostasie vasculaire cérébrale et la cognition.	167
Figure 31 : Schématisation des événements pathologiques cellulaires cérébraux lors de l'ischémie et pouvant contribuer au déclin cognitif.....	170
Figure 32 : Schématisation des interconnexions des différents événements vasculaires et cérébraux induisant l'incidence de la démence.....	173
Figure 33 : Mesure de la pulsatilité artérielle cérébrale chez les souris WT et APP/PS1 après 6 semaines de TAC, par tomographie par cohérence optique.	178
Figure 34 : Représentation schématique des approches thérapeutiques ciblant la diminution de la pression pulsée et/ou associées à un bénéfice cérébral par une diminution de l'incidence du déclin cognitif chez l'homme.....	195

Liste des abréviations

[Ca²⁺]_i	Calcium intracellulaire
2-VO, 3-VO, 4-VO	Occlusion de 2-3-4-artères
20-HETE	Acide hydroxyéicosatétraénoïque
AA	Acide arachidonique
ABC	ATP Binding Cassette
ACA	Artère cérébrale antérieure
ACAS	Sténose asymétrique de l'artère carotide
ACEi	Inhibiteur de l'enzyme de conversion de l'angiotensine
ADAM	Protéine A disintégrine et métalloprotéinase
AF-6	Afadine 6
AGE	Produit fini de glycation avancée
AICD	APP intracellular Domain
Akt	Protéine kinase B
AMPc	Adénosine monophosphate cyclique
Ang II	Angiotensine II
APOE	Apolipoprotéine E
APP	Protéine précurseur de l'amyloïde
APP-ctfα	Fragment C-terminal de l'APP
APPsα	Domaine extracellulaire soluble de l'APP
ARA	Antagoniste des récepteurs de l'angiotensine
ATP	Adénosine triphosphate
ATS	Athérosclérose
ATX	Athérosclérotique
AVC	Accident vasculaire cérébral
Aβ	Peptide bêta-amyloïde
BACE1	Bêta-sécrétase 1
BCAS	Sténose bilatérale de l'artère carotide
BDNF	Facteur neurotrophique dérivé du cerveau
BH4	Tétrahydrobioptérine
BHE	Barrière hémato-encéphalique
Ca²⁺	Ion Calcium
CAA	Angiopathie amyloïde cérébrale

CADASIL	Artériopathie cérébrale autosomique dominante avec infarctus sous-corticaux et leucoencéphalopathie
CAM	Calmoduline
CaO₂	Concentration artérielle en oxygène
CATCH	Critically attained threshold of cerebral hypoperfusion
CCDV	Canaux calciques dépendants du voltage
cfVOP	Vitesse de l'onde de pouls mesurée entre la carotide et la fémorale
CMLV	Cellules musculaires lisses vasculaires
CNV	Couplage neurovasculaire
COX2	Cyclo-oxygénase 2
DAG	Diacylglycérol
DHE	Dihydroethidium
DNF	Dégénérescence neurofibrillaire
DO₂	Débit d'oxygène au tissu cérébral
DOPA décarboxylase	Décarboxylase aromatique L-amino acide
DSC	Débit sanguin cérébral
EDHF	Facteur hyperpolarisant dérivé de l'endothélium
EET	Acide epoxyeicosatriénoïque
eNOS	Enzyme synthase de monoxyde d'azote endothéliale
EP4	Récepteurs 4 de la prostaglandine E2
ET-1	Endothéline-1
FAD	Flavine adénine dinucléotide
FDG	Fluoro-2-désoxy-D-glucose
FMN	Flavine mononucléotide
GABA	Acide γ-aminobutyrique
GC	Guanylate cyclase
GCs	Guanylate cyclase soluble
GFAP	Protéine acide fibrillaire gliale
GLUT1	Transporteur du glucose
GMPc	Guanine monophosphate cyclique
GSK3 β	Kinase Glycogen synthase kinase 3 bêta
GTP	Guanine triphosphate
H₂O₂	Peroxyde d'hydrogène
HBMEC	Cellules endothéliales microvasculaires primaires du cerveau humain

HDL	Lipides de hautes densité
HIF-1 α	Facteur inductible par l'hypoxie 1 α
HMG-CoA réductase	Hydroxy-méthyl-glutaryl-coenzyme A réductase
HTRA1	Protéase sérine 1 Htra
HUVEC	Cellules endothéliales de la veine ombilicale humaine
ICAM-1	Molécule d'adhésion intercellulaire-1
IL-1β	Interleukine-1 bêta
IL-6	Interleukine-6
IP3	Inositol trisphosphate
IP3R	Récepteur de l'inositol trisphosphate
IRM	Imagerie à résonance magnétique
JAM	Molécule d'adhésion jonctionnelle
K⁺	Ion potassium
LCR	Liquide céphalo-rachidien
LDL	Lipoprotéine de basse densité
LRP-1	Density Lipoprotein-Related Protein 1
LVH	Left ventricular hypertrophy/hypertrophie ventriculaire gauche
MA	Maladie d'Alzheimer
MAP	Protéine associée aux microtubules
MCA	Artère cérébrale moyenne
MCV	Maladie cardiovasculaire
MCI	Mild cognitive impairment ou déficience cognitive légère
MEC	Matrice extracellulaire
mGlur	Récepteur métabotrope au glutamate
MID	Multi Infarct dementia ou démence multi infarctus
MLCK	Kinase des chaînes légères de myosine
MRVL	Moelle ventrolatérale rostrale
Na⁺	Ion sodium
NADPH	Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate
NADPH-oxidase	Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate oxidase
NFκB	Facteur de transcription nucléaire
NMDAR	Récepteur N-méthyl-D-aspartate
NO	Monoxyde d'azote
NOS1 ou nNos	NOS neuronale

O₂^{•-}	Anion superoxyde
OH[•]	Radical hydroxyle
ONOO⁻	Anion peroxydinitrite
PA	Pression artérielle
PaCO₂	Pression artérielle partielle en dioxyde de carbone
PAD	Pression artérielle diastolique
PAM	Pression artérielle moyenne
PaO₂	Pression partielle artérielle en oxygène
PAS	Pression artérielle systolique
PCA	Artère cérébrale postérieure
PDE-5	Phosphodiesterase 5
PECAM-1	Molécule d'adhésion plaquettaire des cellules endothéliales
PET	Tomographie par émission de positrons
PG	Prostaglandine
PI3K	Phosphatidylinositol 3-kinase
PKG	Protéine kinase G
PLA₂	Phospholipase A ₂
PLC	Phospholipase C
PP	Pression Pulsée
PSEN1	Présinilline
PTM	Pression transmurale
RAAS	Système rénine-angiotensine-aldostérone
RAGE	Récepteur des produits finis de glycation avancée
ROS	Espèces réactives dérivées de l'oxygène
SAC	Stretch-activated channel
SASP	Phénotype sécrétoire associé à la sénescence
SHR	Rat spontanément hypertendu
SHRSP	Rat spontanément hypertendu développant spontanément des microhémorragies
SNA	Système nerveux autonome
SNC	Système nerveux central
SPECT	Tomographie par émission monophotonique
TAC	Constriction transverse aortique
Tau	Tubulin associated unit

TCD	Échographie Doppler transcranienne
TGFβ1	Facteur de croissance transformant bêta 1
TNFα	Facteur de nécrose tumorale α
TRP	Canal à potentiel de récepteur transitoire
UNV	Unité neurovasculaire
VaD	Démence vasculaire
VaMCI	Déficience cognitive légère vasculaire
VCAM-1	Molécule d'adhésion vasculaire -1
VCI	Déficience cognitive vasculaire
VCID	Contributions vasculaires à la déficience cognitive et à la démence
VOP	Vitesse de l'onde de pouls
ZO-1, ZO-2	Zonula occludens-1 -2

Remerciements

Je souhaite tout d'abord commencer par remercier les membres du jury, le **Dr Louis-Eric Trudeau**, la **Dre Hélène Girouard**, le **Dr Frédéric Calon** et le **Dr Daniel Gagnon** d'avoir accepté et de se rendre disponibles pour corriger ma thèse de doctorat. Vos commentaires sont les bienvenus et me permettront d'améliorer et d'enrichir mes travaux et mes connaissances.

Je tiens ensuite à remercier tout particulièrement mon directeur de recherche, le **Dr Éric Thorin**, pour m'avoir accueillie dans son laboratoire et de me permettre de réaliser mon doctorat à l'étranger. Merci pour votre aide, votre disponibilité et de m'avoir fait confiance dans la réalisation de mes expériences au laboratoire. Merci d'avoir enrichi mes connaissances et également de m'avoir permis de participer à des congrès à l'international.

Je tiens également à remercier, la **Dre Nathalie Thorin-Trescases** pour sa disponibilité et sa grande gentillesse. Merci pour le temps que vous m'avez à chaque fois consacré, notamment pour corriger mes divers travaux et surtout pour votre aide pour m'expliquer les règles statistiques.

Je tiens à remercier tous les membres du laboratoire (**XiaoYan, Albert, Adeline, Cécile, Anthony, Laurie, Pauline, Alexandre Bergeron**), bien que les membres de l'équipe aient beaucoup évolué pendant ces 4 années.

Je souhaite aussi remercier l'équipe de l'animalerie, pour leur gentillesse, leur travail de qualité dans la gestion des animaux, ainsi que toutes mes petites souris.

Je remercie également les différents collaborateurs ou autres personnes de l'institut qui m'ont aidée, et sans qui je n'aurais pu aussi bien mener mes travaux, **Marc-Antoine, Philippe, Bouchra, Louis, XueCong, Guylaine Ferland** et **Frédéric Lesage**. Un

remerciement spécial à **Patrice**, pour son extrême gentillesse et son soutien de motivation au détour d'un couloir.

Mes remerciements vont à l'ensemble de ma famille (**mes parents, mes sœurs adorées, mes grands-parents, mes tantes et oncles et les cousins**), qui m'a soutenue dans mon choix et dans la réalisation de ce doctorat. Merci à ceux qui ont pu venir me rendre de chouettes visites au Canada. Merci également à ma petite famille par défaut au Québec, les **Tylvies**, mon oie **Élodie**, choupetta **Alexia**, monkey **Adeline**, les **Jupiters, Marine Dinette, Max, Rémi et Joanna, Ophélie**, avec qui j'ai passé de supers moments. Merci aussi à mes amies depuis la France, les bichounes **Maïté et Charlotte, Maëlle, Marine Bou, Rachel...**

Et bien évidemment, un infini et tendre merci à **Alexandre**, mon superpuissant et irremplaçable coach personnel, qui m'a énormément soutenue et continuellement motivée pendant ces 4 longues années.

*We are used to thinking of the brain as a dependent ward of the heart,
not as a victim of its beat.*

Stone, 2015

1 INTRODUCTION GÉNÉRALE

Plutôt que d'être un conduit délivrant passivement l'oxygène et les nutriments au tissu cérébral, les vaisseaux sanguins du système nerveux central jouent un rôle dynamique et complexe dans l'homéostasie cérébrale. Dès le développement embryonnaire, il existe une interaction bi-directionnelle entre les cellules vasculaires, neuronales et gliales, l'angiogenèse et la neurogenèse se produisant simultanément et de manière synergique (Hanson & Gottesman 2005). Ce dialogue entre les compartiments vasculaires et ceux du tissu cérébral et l'intégrité de cette « unité neurovasculaire » (Girouard & Iadecola 2006, Iadecola 2004) sont critiques au maintien des fonctions cérébrales. Notamment, les neurones, les astrocytes et les cellules vasculaires (dont l'endothélium) forment un trio métabolique permettant la régulation du débit sanguin cérébral, et il existe ainsi une relation étroite entre l'activité neuronale locale et la densité capillaire (Hanson & Gottesman 2005). Cependant, au cours du vieillissement, la fonction cérébrale décline et contribue à l'altération progressive des capacités cognitives (Murman 2015). Or, il est également décrit que la fonction vasculaire décline elle aussi avec l'âge (Fleg & Strait 2012). Nous allons voir dans cette introduction qu'il est proposé que l'altération des vaisseaux sanguins cérébraux au cours du vieillissement soit d'origine mécanique, soit un élément causal et que de façon consécutive, il en découlerait une perte de fonctionnalité neurovasculaire, des dommages neuronaux, l'ensemble conduisant graduellement à une dégradation des fonctions cognitives et à la démence de type vasculaire ou la maladie d'Alzheimer chez les personnes à risque. Plus particulièrement, il est proposé que la cause de l'altération première des vaisseaux sanguins cérébraux viendrait de la combinaison de l'effet destructeur de la pression pulsée depuis la périphérie (Stone et al 2015), se propageant avec l'âge jusque dans la microcirculation cérébrale (O'Rourke et al 2010), et d'une dysfonction de l'endothélium qui se développe surtout après la 50^{aine} chez l'Homme (Lakatta et al 2009). Le lien mécanistique entre l'augmentation de la PP cérébrale, les facteurs de risque des maladies cardiovasculaires, les dommages cérébrovasculaires et l'incidence de la démence reste à être plus clairement investigué. **L'objectif de la présente thèse est donc d'étudier le rôle**

de la pression pulsée dans la détérioration des fonctions cérébrovasculaires et cognitives avec l'âge et en association avec les facteurs de risque vasculaires. Pour cela, une présentation du système artériel, et notamment de sa nature pulsatile, ainsi qu'une présentation de la vascularisation cérébrale sont nécessaires. Ensuite, nous aborderons les modifications que subissent le système artériel et la vascularisation cérébrale, au cours du vieillissement afin de comprendre en quoi celle-ci peut être vulnérable à la pression pulsée et critique pour le maintien des fonctions cognitives. Ces notions seront ensuite à nouveau décrites dans le contexte de la maladie d'Alzheimer, de la démence vasculaire et en présence de facteurs de risque des maladies cardiovasculaire et de l'athérosclérose.

1.1 Physiologie du système artériel

La vasculature est composée de différents segments, incluant les artères, les artérioles, les capillaires, les veinules et les veines. Les vaisseaux sanguins sont les éléments essentiels à la distribution du sang, fonction critique de l'organisme permettant de maintenir l'homéostasie des organes et des tissus ; les artères permettent de livrer l'oxygène et les nutriments requis, de purger les déchets métaboliques et permettent également aux tissus d'interagir avec le système immunitaire périphérique (pour revue, voir (Yamazaki & Kanekiyo 2017)). Les vaisseaux diffèrent les uns des autres structurellement et fonctionnellement, possèdent des propriétés qui leur sont uniques et répondent à des exigences spécifiques dépendamment des organes ou tissus correspondants. Ces caractéristiques uniques et spécifiques sont particulièrement marquées au niveau des microvaisseaux du cerveau (Yamazaki & Kanekiyo 2017).

1.1.1 Structure et propriétés mécaniques classiques de la paroi artérielle

Les artères partagent classiquement toutes un modèle commun d'organisation. Leur paroi est constituée de trois couches successives qui sont respectivement, de la lumière du vaisseau vers la périphérie : (1) **l'intima**, (2) **la média** et (3) **l'adventice** (Figure 1) (pour revue, (Kohn et al 2015)). La composition distincte de chaque couche d'artère se prête à des propriétés mécaniques spécifiques, pouvant d'ailleurs varier entre les grandes et les petites artères, et selon leur localisation dans l'organisme (Kohn et al 2015).

(1) L'intima, qui est la couche la plus interne et la plus fine, est constituée (i) d'une unique couche de cellules endothéliales, communément appelée l'« endothélium », qui forme l'interface en contact direct avec le sang. Les cellules endothéliales contribuent peu aux propriétés mécaniques du vaisseau sanguin (Dobrin 1978) mais possèdent différentes propriétés fonctionnelles et garantissent principalement l'homéostasie vasculaire via la régulation de la perméabilité vasculaire, de l'agrégation plaquettaire, de la vasoconstriction et de la vasodilatation et via une régulation anti-inflammatoire et anti-oxydante (Cottart et al 2009) (Figure 1); (ii) d'une couche sous-endothéliale de tissu conjonctif, synthétisée par les cellules endothéliales, permettant un support physique ainsi qu'une fonction de filtration moléculaire entre le sang circulant et les cellules musculaires lisses vasculaires (CMLV). Cette lame basale est une matrice riche en protéoglycanes. Elle contient aussi de petites quantités de collagène (Kohn et al 2015).

L'intima est séparée de la média par la lame élastique interne composée de fibres d'élastine fenestrées et orientées de façon longitudinale dans le sens du flux sanguin (Kohn et al 2015).

(2) La média est la couche la plus épaisse. Elle est principalement composée (i) de couches de CMLV contractiles empilées de façon concentrique et orientées de manière circonférentielle appelées « unités lamellaires » et qui constituent la majorité du volume de la paroi artérielle. Chaque unité lamellaire est renforcée (ii) d'une matrice extracellulaire contenant des fibres de collagène et des fibres d'élastine et d'un gel viscoélastique de mucopolysaccharides afin de supporter les tensions et les forces hémodynamiques du sang qui s'exercent sur la paroi. La fonction principale des unités lamellaires est ainsi le maintien du tonus et de la résistance vasculaire permettant à l'artère de se dilater au passage du pouls sanguin (Kohn et al 2015). Le nombre de couches

lamellaires varie selon le type d'artère, proportionnellement au diamètre du vaisseau et à la tension circonférentielle (Dobrin 1978).

Dans les vaisseaux de gros calibre, la média est séparée de l'adventice par la lame élastique externe, composée d'élastine.

(3) L'adventice, qui est la couche la plus externe, est constituée **(i)** d'un tissu conjonctif riche en fibres de collagène disposées de manière circonférentielle, d'élastine, de fibroblastes et d'adipocytes ; **(ii)** d'un *vasa vasorum* qui a pour rôle d'irriguer l'adventice et la partie externe de la média dans les artères de gros calibre; **(iii)** d'un réseau de nerfs vasomoteurs non myélinisés qui rejoint les CMLV de la média (Kohn et al 2015). Les propriétés mécaniques de l'adventice sont attribuées à l'organisation du collagène qui, lorsqu'une charge axiale est exercée sur le vaisseau, se déforme et démontre ainsi une grande résistance à la distension (Kohn et al 2015) et empêche la rupture du vaisseau sous des hautes pressions (Wagenseil & Mecham 2009).

Le collagène et l'élastine représentent environ la moitié du poids sec des vaisseaux ; globalement, les collagènes de type I et de type III représentent 60% de la paroi artérielle et l'élastine 30% (Kohn et al 2015). Ces composants tissulaires détiennent les propriétés mécaniques les plus importantes des vaisseaux sanguins (Dobrin 1978). À faible degré d'étirement, les fibres élastiques souples assurent le support mécanique, tandis qu'à des taux de déformation plus élevés, les fibres de collagène sont recrutées (Kohn et al 2015). Sous des charges de contrainte de la pression physiologique, la déformation élastique (appelée module élastique) de l'artère est réalisée grâce aux CMLV, mais aussi aux contributions de l'élastine et du collagène. Cependant, les fibres de collagène étant 100 à 1 000 fois plus rigides que l'élastine, les grandes artères présentent un modèle de contrainte-déformation non linéaire (Kohn et al 2015).

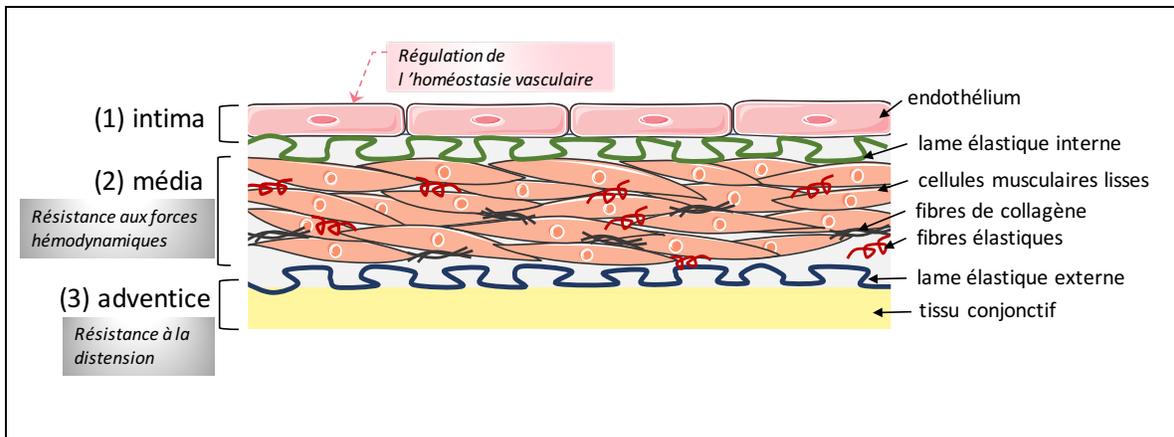


Figure 1 : Représentation schématique de la structure classique des artères.

La paroi vasculaire est classiquement constituée de trois couches successives qui sont respectivement, de la lumière du vaisseau vers la périphérie : (1) l'intima, (2) la média et (3) l'adventice. La composition distincte de chaque couche assure des propriétés mécaniques spécifiques. L'intima participe peu aux propriétés mécaniques du vaisseau sanguin mais possède différentes propriétés fonctionnelles et garantit l'homéostasie vasculaire ; la media supporte les tensions et les forces hémodynamiques du sang qui s'exercent sur la paroi ; l'adventice permet une grande résistance à la distension.

1.1.2 Fonctions du système artériel

Le système artériel a deux fonctions : la première, réalisée par les artères élastiques (aorte, artères pulmonaires, carotides, sous-clavières), est de tamponner le flux artériel et les variations de pression induites par la contraction du ventricule gauche lors du cycle cardiaque. La deuxième fonction du système artériel, assurée par les artères musculaires, est de distribuer le sang depuis le ventricule gauche jusqu'aux différents organes et tissus, et d'adapter le débit aux besoins métaboliques de la région.

Sans vaisseaux élastiques, l'énorme montée de pression lorsque le sang est éjecté du cœur i) lui demanderait un travail énorme et ii) l'empêcherait de se vider complètement. Les grandes artères élastiques sont ainsi capables de stocker une partie du volume d'éjection systolique et de pousser ce volume vers la périphérie lors de la diastole. Ce phénomène d'amortissement des vaisseaux élastiques correspond à l'« **effet Windkessel** » (décrit pour la première fois par Frank Otto en 1899) (Westerhof et al 2009) et contribue à diminuer la charge sur le cœur, à minimiser le flux systolique et à maximiser le flux diastolique dans les artérioles. Le résultat est la conversion des variations du flux cyclique discontinu en un flux distal semi-continu. En effet, une des caractéristiques

hémodynamiques de la circulation sanguine, néanmoins très rarement considérée, est la nature pulsatile du flux sanguin (Vlachopoulos 2011). Notamment, une des conditions pour l'application de l'équation de Poiseuille (qui décrit l'écoulement d'un fluide visqueux dans un conduit cylindrique), est un flux sanguin stable ne variant pas avec le temps. Il a été compris depuis longtemps que cette équation ne pouvait pas être appliquée au flux artériel qui est hautement pulsatile, mais aucune relation mathématique claire entre les formes d'onde de pression et de débit n'a pu être démontrée, et il est généralement admis qu'une augmentation du débit pulsatile entraîne une augmentation de la pression pulsée (PP) (Nichols 1998). Au niveau des tissus périphériques, de faibles valeurs de PP sont néanmoins nécessaires dans le développement d'un phénotype fonctionnel des cellules de la paroi vasculaire (Gambillara et al 2008, Safar et al 2011) et pour une perfusion optimale (pour revue voir (Baric 2014, Thorin-Trescases et al 2018, Thorin-Trescases & Thorin 2016) et démontré expérimentalement chez le cochon (Undar et al 2002)). Notamment, il a été démontré dans notre laboratoire que la PP participe, au niveau cérébral, à la régulation de la fonction dilatatrice de l'endothélium dans les artères cérébrales de souris (Raignault et al 2017). L'effet Windkessel est néanmoins rendu possible grâce à la matrice extracellulaire (MEC) spécialisée de la paroi des vaisseaux, permettant la déformation élastique (Kohn et al 2015).

La deuxième fonction du système artériel, est de distribuer le sang depuis le ventricule gauche jusqu'aux différents organes et tissus, et d'adapter le débit aux besoins métaboliques de la région. Ceci est réalisé par les artères musculaires qui peuvent modifier leur calibre, ce qui se traduit par la présence d'un grand nombre de CMLV dans la média (Cottart et al 2009).

Ainsi, le système artériel est constitué d'artères élastiques de gros et moyen calibres dont l'intima, la media et l'adventice sont bien développées afin d'assurer l'amortissement de la pulsativité du flux sanguin, d'artères musculaires périphériques distales de petit calibre dont la couche de CMLV est plus développée afin de distribuer le sang et de se contracter ou se dilater au besoin, et de fins capillaires (Figure 2).

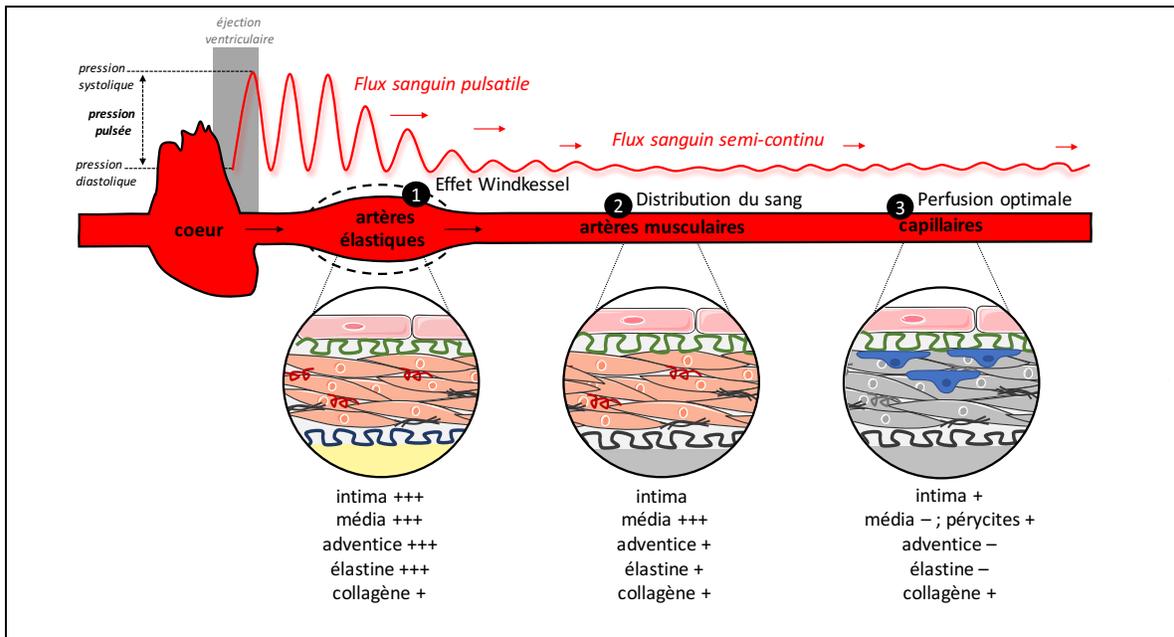


Figure 2 : Représentation schématique des fonctions du système artériel.

Le système artériel conduit le sang depuis le cœur vers les réseaux capillaires : les pulsations du flux sanguin sont absorbées par (1) les larges artères élastiques (ayant une intima, média et adventice bien développées), permettant (2) aux artères musculaires périphériques distales (média plus développée) de distribuer le flux sanguin, converti en un flux semi-continu, jusqu'aux (3) capillaires (dépourvus d'adventice et de cellules CMLV, qui sont remplacées par des péricytes). (CMLV : cellules musculaires lisses vasculaires).

1.1.3 Caractéristiques hémodynamiques du système artériel

1.1.3.1 La pression artérielle pulsatile

La pression artérielle (PA) correspond à la force exercée par le sang sur la paroi des artères. Tout d'abord, deux composantes de la PA peuvent être distinguées : une composante stable et une composante pulsatile. La première, exprimée par la pression artérielle moyenne (PAM), est le produit du débit cardiaque et de la résistance vasculaire, un paramètre interprété comme reflétant le calibre des petites artères. La deuxième composante est exprimée par la PP qui se calcule par soustraction de la pression artérielle diastolique à la pression artérielle systolique ($PP = PAS - PAD$). La PP est déterminée par le volume systolique, l'intensité des ondes de réflexion et la capacité d'amortissement des artères élastiques, soit leur compliance (Dart & Kingwell 2001, Safar et al 2003). En effet, une réflexion de l'onde de pouls se produit dans l'arbre artériel : à chaque ramification,

une portion de l'onde pulsée est réfléchiée vers le cœur où elle se superpose avec la nouvelle onde progressant (issue d'un nouveau battement cardiaque). Chez les individus jeunes en bonne santé, l'onde réfléchiée retourne à l'aorte centrale tardivement dans la systole et il y a relativement peu d'amplification de la PAS aortique (Morgan et al 2004). Néanmoins, un amortissement dépendant de la fréquence, de la distance et de la paroi du vaisseau se produit ainsi à la fois pour l'onde de pouls progressive et l'onde de pouls réfléchiée. Les ondes réfléchiées qui retournent au cœur proviennent principalement des branches principales de l'aorte (Dart & Kingwell 2001). La valeur de PP normale au repos chez un jeune adulte en bonne santé est de 30 à 40 mm Hg (Diaz et al 2014).

1.1.3.2 Les forces mécaniques et leur rôle physiologique

Les vaisseaux sanguins sont exposés à trois types de forces mécaniques dynamiques qui façonnent la paroi vasculaire (Figure 3). La première est **la tension pariétale basale**, liée à la PAM et appliquée perpendiculairement sur la paroi en réponse à l'augmentation de la pression transmurale (tension pariétale = pression sanguine x rayon du vaisseau, d'après la Loi de Laplace) (Ballermann et al 1998). Les cellules des artères sont donc exposées de façon permanente à un étirement basal. La deuxième est **la force cyclique de la paroi vasculaire** qui est principalement déterminée par le changement cyclique de la PA, soit la PP (Ballermann et al 1998). Cet étirement pulsatile lié à la PP déforme les cellules de la paroi dans toutes les directions. La troisième est **la force de friction ou contrainte de cisaillement** (« *shear stress* ») due au frottement occasionné par le flux sanguin et qui s'exerce tangentiellement à l'endothélium (Ballermann et al 1998). Elle est proportionnelle au débit et à la viscosité du sang et agit à la surface apicale des cellules endothéliales, les déformant et les alignant dans la direction du flux sanguin, selon la loi de Poiseuille (Ballermann et al 1998). En retour, les cellules endothéliales sont capables de détecter les forces et de s'adapter à l'amplitude de l'impact des forces appliquées ; les forces mécaniques sont ainsi des déterminants importants de l'homéostasie vasculaire (Lelkes 1999). Le niveau de déformation est globalement nécessaire pour le maintien des CMLV dans un état différencié (Birukov et al

1998) (Figure 3), tandis que la force de cisaillement et la force cyclique affectent directement les cellules endothéliales de façon morphologique mais aussi fonctionnelle en exerçant notamment de puissants effets anti-apoptotiques (Dimmeler et al 1996) et anti-athérosclérotiques (Traub & Berk 1998). Les cellules endothéliales possèdent à leur surface des mécanorécepteurs membranaires qui leur permettent de détecter les forces hémodynamiques mécaniques. Une multitude d'éléments moléculaires participent à la détection du stimulus mécanique induit sur les cellules endothéliales et divers candidats et mécanismes possibles ont été identifiés, tels que les canaux ioniques, le cytosquelette, les récepteurs à activité tyrosine kinase, les protéines G, les intégrines et la molécule d'adhésion des cellules endothéliales des plaquettes (PECAM-1) (pour revue (Ingber 2006)). Le stimulus mécanique est ainsi converti par l'activation de ces molécules (appelé mécanotransduction des forces mécaniques) en une signalisation cellulaire et module ainsi la fonction vasculaire (Ballermann et al 1998, Jufri et al 2015). Pour citer quelques exemples, l'activation des voies de mécanotransduction entraîne la mobilisation du calcium (Ca^{2+}) intracellulaire ($[\text{Ca}^{2+}]_i$), la réorganisation du cytosquelette d'actine ou encore la translocation nucléaire de certains facteurs de transcription (Ballermann et al 1998). Bien que les réponses des cellules endothéliales à la force cyclique et aux contraintes de cisaillement, et ainsi la signalisation cellulaire qui en découle, diffèrent (Toda et al 2008, Zheng et al 2008), l'ensemble des voies de mécanotransduction du signal permettent le processus d'homéostasie du tonus vasculaire, soit une réponse vasodilatatrice ou vasoconstrictive par libération des molécules vasodilatatrices ou vasoconstrictives, le remodelage de la MEC, l'angiogenèse, la prolifération cellulaire, la régulation anti-thrombotique et anti-plaquettaire, la réponse anti-inflammatoire et anti-oxydante (Jufri et al 2015). Notamment, en tant que sous-produit du transfert d'électrons mitochondrial normal, les cellules vasculaires produisent en permanence des substances réactives dérivées de l'oxygène (ROS) (dont les anions superoxyde ($\text{O}_2^{\bullet-}$), les anions peroxynitrite (ONOO^-) et les radicaux hydroxyle ($\bullet\text{OH}$), le plus courant étant le sous-produit de la dismutation du superoxyde : le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2)) (Jufri et al 2015). Il a été démontré *in vitro* dans des cellules endothéliales en culture, que

l'application d'une force mécanique cyclique augmente l'activité de l'enzyme synthase du monoxyde d'azote endothéliale (eNOS) et diminue la formation de ROS, démontrant le rôle vasoprotecteur de la force mécanique cyclique sur l'endothélium (Goettsch et al 2009). Les effets protecteurs des forces mécaniques, notamment ceux de la force de cisaillement, sont cependant perdus au niveau des points de ramification artériels et des courbures où l'écoulement est oscillant ou turbulent, augmentant la probabilité de formation de plaques d'athérosclérose (Lehoux 2006), notamment via la stimulation des voies de signalisations pro-inflammatoires (Chistiakov et al 2017). D'ailleurs en conditions pathologiques, les CMLV peuvent se retrouver exposées aux forces mécaniques de la circulation sanguine (comme dans l'athérosclérose où il y a une apoptose accrue des cellules endothéliales), perturbant les réponses cellulaires (Chistiakov et al 2017).

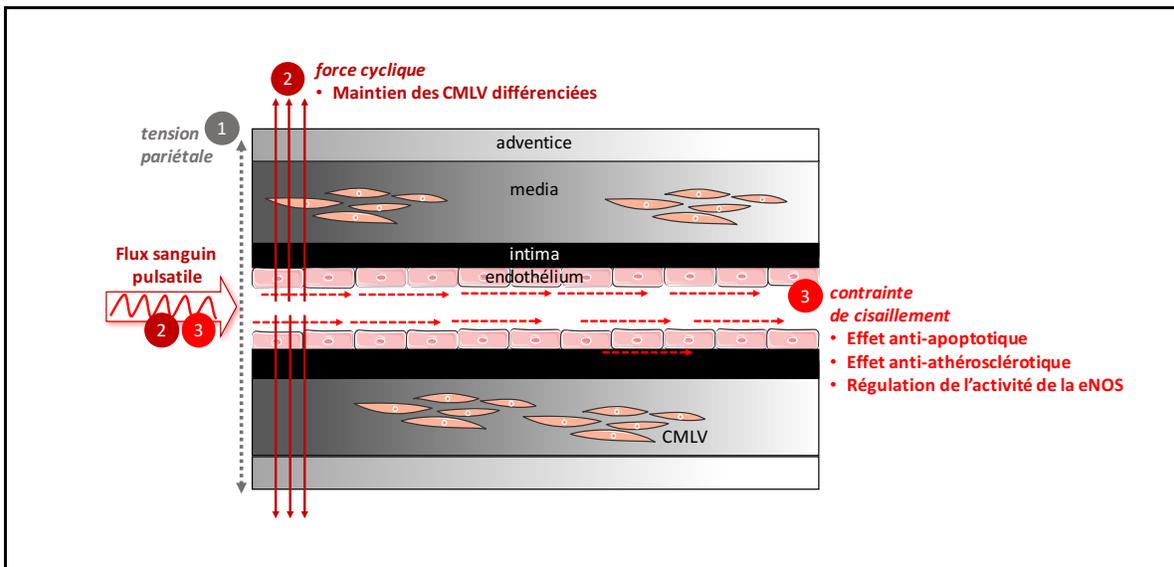


Figure 3 : Représentation des types de forces hémodynamiques exercées sur les cellules de la paroi vasculaire.

Adapté de (Cummins et al 2004). La paroi vasculaire est exposée à trois types de forces mécaniques dynamiques, qui sont (1) la tension pariétale, (2) la force cyclique et (3) la contrainte de cisaillement, ces deux dernières découlant de la nature pulsatile du flux sanguin. Ces forces agissent sur les cellules endothéliales et les cellules musculaires lisses vasculaires et façonnent leur phénotype (CMLV : cellules musculaires lisses vasculaires, eNOS : enzyme synthase du monoxyde d'azote endothéliale).

En résumé, le système artériel est adéquatement structuré ; d'une part il est capable de tamponner la nature cyclique du flux sanguin et de la pression sanguine qui résultent de chaque battement cardiaque ; d'autre part, la force cyclique permet d'établir et de maintenir l'homéostasie vasculaire par induction des voies de signalisation

vasculaires qui lui sont sensibles et sont initiées par l'endothélium. Ceci permet un contrôle très fin de la perfusion de tous les organes, particulièrement celle du cerveau, qui, comme nous allons le décrire, nécessite un apport sanguin important et très étroitement régulé.

1.2 Physiologie de la circulation cérébrale

1.2.1 Généralités

Le cerveau humain, enceinte rigide centralisée de l'organisme, est le siège des fonctions cognitives. Il est constitué de trois compartiments dynamiques : vasculaire, parenchymateux (tissu cérébral) et liquide (liquide céphalo rachidien) (LCR). Bien qu'il ne représente environ que 2 % de la masse totale de notre corps, le cerveau reçoit 15 % du débit cardiaque (soit en valeur absolue et au repos environ 50 mL/100 g/minute). Cet apport important en débit sanguin cérébral (DSC) est relatif avec ses besoins en oxygène et en glucose, qui représentent respectivement près de 20 % et 25 % de la consommation totale (Kety 1957). En effet, le glucose est le substrat énergétique principal du cerveau adulte ; le glucose, mais aussi la glutamine et les cétones sont des substrats énergétiques utilisés par les neurones via des voies oxydative et non-oxydatives (pour revue, (Belanger et al 2011)). Les principaux processus neuronaux nécessitant un apport énergétique élevé sont le maintien du potentiel membranaire des neurones (principalement celui des terminaisons axonales présynaptiques) au repos et la restauration des gradients ioniques après un potentiel d'action lors de l'activité neuronale (Belanger et al 2011). Cependant, le stockage de l'oxygène et les réserves en glycogène étant très faibles (Belanger & Magistretti 2009), le cerveau est donc extrêmement dépendant des apports sanguins en substrats énergétiques et a besoin d'être fortement et continuellement perfusé. La perfusion est ainsi fonction de la demande métabolique (comme lors d'une activation neuronale). Le cerveau et la vasculature cérébrale possèdent ainsi des caractéristiques uniques et spécifiques qui leur sont particulières.

1.2.2 Anatomie de la circulation cérébrale

La circulation du cerveau découle de celle des artères carotides internes et des artères vertébrales. Les artères carotides internes pénètrent dans la boîte crânienne par le lobe temporal et donnent naissance sur la face ventrale du cerveau à un réseau artériel, appelé le cercle ou polygone de Willis, à partir duquel il s'établit une circulation collatérale permettant la redistribution du flux sanguin lorsque les vaisseaux intracrâniens ou extra-crâniens sont obstrués et ainsi de suppléer à une insuffisance circulatoire si cas échéant (Hossmann 2006, Liebeskind 2003, Schaffer et al 2006). Chez l'Homme, les artères cérébrales originant du polygone de Willis sont au nombre de trois paires : artères cérébrales antérieures (ACA), moyennes (MCA) et postérieures (PCA) (Fitzgerald 1996) (Figure 4).

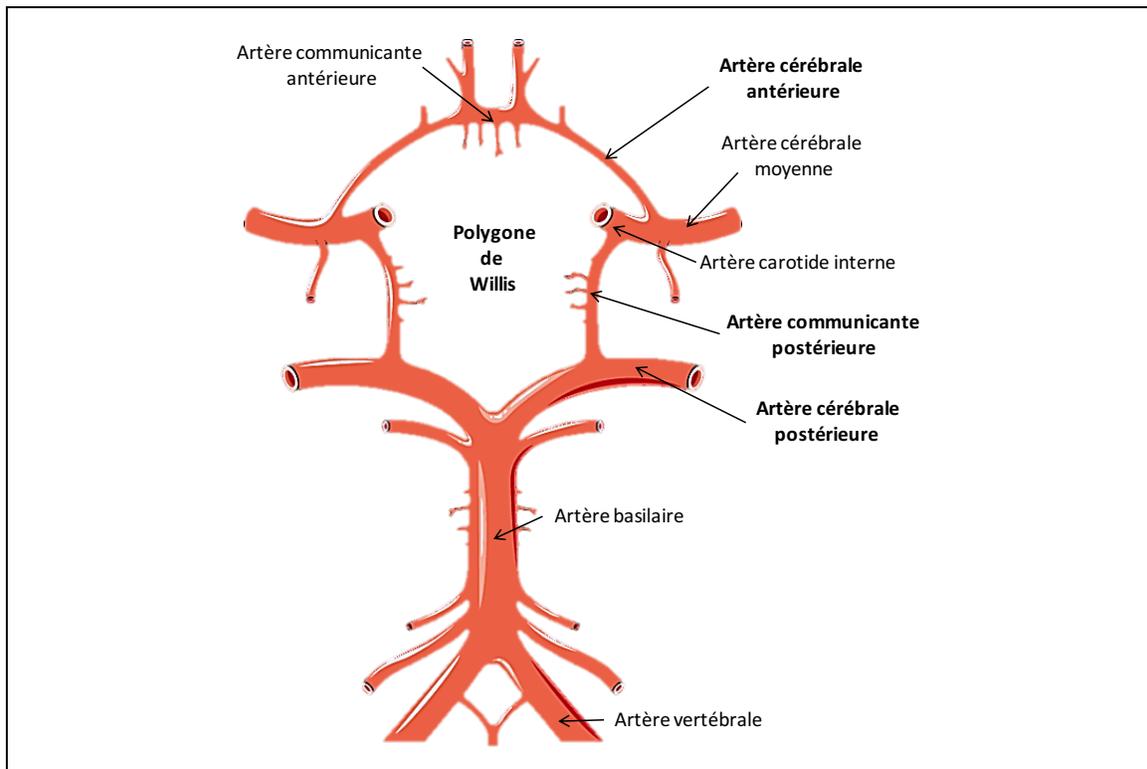


Figure 4 : Représentation schématique de l'anatomie de la circulation cérébrale chez l'Homme.

Adapté de (Pires et al 2013). Une partie des branches terminales des artères carotides internes et du tronc basilaire (provenant des artères vertébrales) s'anastomosent sur la surface inférieure du cerveau pour former le polygone de Willis qui permet l'apport en sang au cerveau. Il est formé du segment basal des artères cérébrales antérieures, des deux artères communicantes postérieures et du segment basal des deux artères cérébrales postérieures.

Les artères intra-crânielles du polygone de Willis, se divisent ensuite progressivement en artères piales extra-cérébrales, qui émettent perpendiculairement à leur axe des petites artères appelées artères pénétrantes intra-crânielles qui vont se ramifier à leur tour en artérioles intra-parenchymateuses dans le parenchyme pour fournir l'apport en sang depuis la base du cerveau aux régions correspondantes du cortex. Les artérioles s'étendent ensuite en microvaisseaux intra-cérébraux ou intra-parenchymateux, qui sont un ensemble de micro-artérioles, capillaires et veinules. Les artères extra-cérébrales sont isolées du tissu nerveux avoisinant par l'espace de Virchow-Robin, contenant un liquide similaire au LCR (Bell & Zlokovic 2009). À mesure que les artérioles pénètrent plus profondément dans le cortex cérébral, l'espace de Virchow-Robin disparaît et la membrane vasculaire se retrouve en contact direct avec les composants du tissu parenchymateux. À la différence des artères piales (de surface) qui forment ce réseau collatéral efficace, les artères parenchymateuses pénétrantes sont longues et ramifiées mais indépendantes l'une de l'autre ; l'occlusion d'une artériole individuelle entraîne ainsi une réduction significative de la perfusion et des dommages tissulaires locaux (Nishimura et al 2007).

1.2.3 Caractéristiques structurelles des vaisseaux cérébraux :

Chez l'humain, comparativement avec les artères périphériques, la structure de la paroi des artères cérébrales piales et des artères intracérébrales présente quelques distinctions (Faraci 2011) (Figure 5).

(1) L'intima des artères piales et intracérébrales est constituée d'une couche unique de cellules endothéliales (Cipolla 2009), comme dans les artères périphériques.

La lame élastique interne des artères cérébrales est très développée (Lee 1995).

(2) La média des artères piales est composée des CMLV mais en moins grande abondance que dans les artères périphériques et est également constituée de fibres d'élastine et de collagène. Au niveau des artères intracérébrales, la couche musculaire

qui entoure l'endothélium s'amincit jusqu'à disparaître dans les capillaires. La couche musculaire peut alors être remplacée par des péricytes (Iadecola 2004).

Les artères cérébrales n'ont pas de lame élastique externe.

(3) L'adventice est principalement composée de fibres de collagène, de fibroblastes et de cellules associées, comme les nerfs péri-vasculaires dans les larges et petites artères piales, et les péricytes et pieds astrocytaires dans les artères parenchymateuses et les capillaires. Des éléments neuronaux (cellules pyramidales et interneurons) peuvent parfois se trouver au contact direct de la mince lame basale qui recouvre l'endothélium (Iadecola 2004).

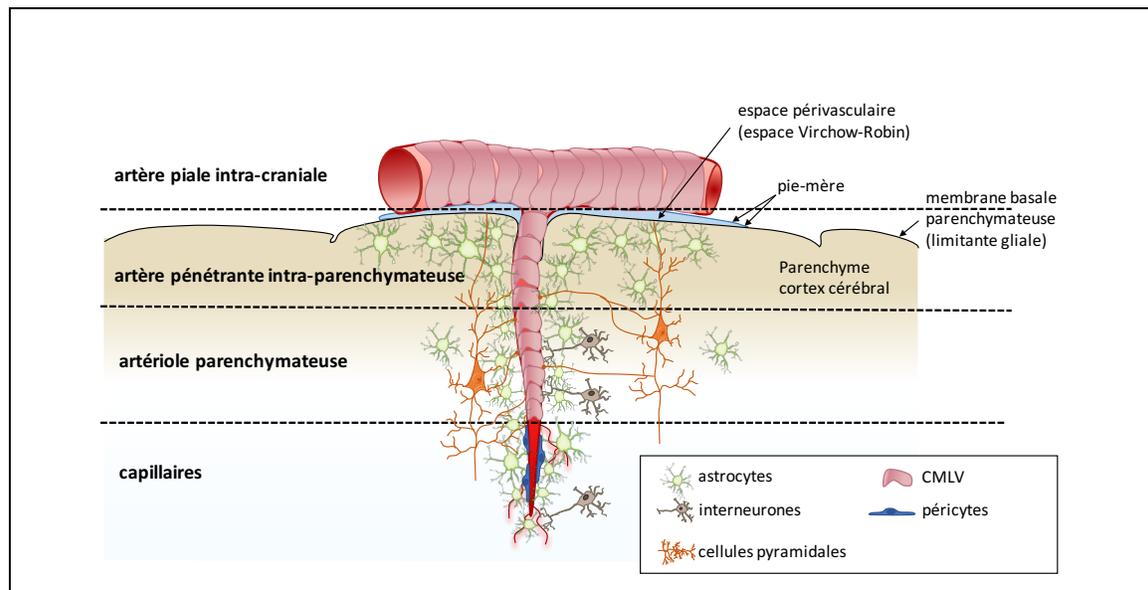


Figure 5 : Représentation schématique de la structure des artères cérébrales.

Adapté de (Yamazaki & Kanekiyo 2017). Les artères piales de surface intra-crânielles se ramifient en plus petites artères appelées artères pénétrantes parenchymateuses qui donnent naissance aux artéριοles parenchymateuses à mesure qu'elles pénètrent plus profondément dans le tissu cérébral et finissent par se ramifier en capillaires. Alors que les artères piales et les artères pénétrantes sont recouvertes de CMLV et sont séparées du tissu cérébral par la membrane basale parenchymateuse (*glia limitans*), les artéριοles parenchymateuses et les capillaires sont associés aux astrocytes, cellules pyramidales et interneurons. Au niveau des capillaires, les péricytes remplacent les CMLV. (CMLV : cellules musculaires lisses vasculaires).

1.2.4 Caractéristiques fonctionnelles des vaisseaux cérébraux :

Les artères piales du polygone de Willis sont des artères dites de **résistance** comme cela a notamment été démontré chez l'Homme (Thorin-Trescases et al 1997). Le contenu majoritairement musculaire de leur paroi leur permet d'exercer un contrôle étroit sur le DSC lors d'augmentations de la PA systémique (Cipolla 2009). Conjointement avec le mécanisme myogénique de l'autorégulation (*détaillé dans la section 1.2.7.2 Variation de la pression de perfusion cérébrale : l'autorégulation*), les propriétés mécaniques des artères cérébrales permettent également d'amortir le flux sanguin et de contribuer à la régulation du débit pendant des changements de pression aigus (Avolio et al 2018). En effet, chez l'Homme, la pulsativité du flux sanguin a pu être mesurée dans les artères piales (dans la MCA) (Kim et al 2016) ; ce flux pulsatile se transforme ensuite en un flux régulier et continu dans les artères pénétrantes et la microvasculature (Avolio et al 2018). Les artères piales sont densément innervées avec des fibres variqueuses dans l'adventice et reçoivent ainsi des innervations péri-vasculaires des ganglions nerveux périphériques, appelés **innervations « extrinsèques »**. La circulation piale est innervée par trois types distincts de nerfs : les nerfs sympathiques, parasympathiques et les fibres sensibles du système trigémino-vasculaire (pour revue, (Hamel 2006)). Les neurotransmetteurs sympathiques ont des effets vasoconstricteurs significatifs dans ces artères cérébrales (Lincoln 1995). Cette innervation péri-vasculaire est absente pour les vaisseaux intra-parenchymateux (Cohen et al 1997). À mesure que les artérioles pénètrent plus profondément dans le parenchyme, l'espace de Virchow-Robin disparaît et les vaisseaux perdent leur innervation extrinsèque. Les artérioles parenchymateuses et les capillaires sont alors innervés de façon « **intrinsèque** » par les neurones du SNC. Ce type d'innervation représente un lien privilégié avec les astrocytes (Rennels & Nelson 1975) car la majorité des contacts neuronaux ne sont pas en contact direct sur les micro-vaisseaux sanguins mais connectés aux pieds astrocytaires. Les artérioles parenchymateuses ont un important tonus myogénique basal, comparativement aux artères piales et ne répondent pas à certains neurotransmetteurs (tels que la sérotonine,

la norépinephrine) qui pourraient avoir un effet sur la circulation en amont (Cipolla et al 2004).

1.2.5 La microcirculation et l'unité neurovasculaire :

Chez l'Homme, la microcirculation comporte généralement les petites artères < à 400 μm , les artérioles < 100 μm de diamètre, et les capillaires < 15 μm (Mulvany & Aalkjaer 1990). La microcirculation du cerveau humain est constituée d'un réseau dense de capillaires, représentant une longueur totale d'environ 640 km (Begley & Brightman 2003). Ces capillaires sont perfusés de façon continue (Gobel et al 1990, Zlokovic 2008) et sont le site principal d'échange en oxygène et en nutriments. La microvascularisation au sein de la circulation cérébrale est hautement ordonnée : la disposition et la densité vasculaire est déterminée par la localisation régionale et s'adapte ainsi aux besoins énergétiques spécifiques (la densité capillaire est plus élevée dans la matière grise par rapport à la matière blanche (Klein et al 1986), par exemple). Le DSC varie également en fonction des régions cérébrales (par exemple, le débit est plus faible dans le striatum et plus élevé dans la matière grise corticale) (del Zoppo & Mabuchi 2003). La disposition des microvaisseaux permet de s'adapter aux changements dynamiques du débit (del Zoppo & Mabuchi 2003). En moyenne, les capillaires sont situés à 30 μm d'un neurone voisin le plus proche (Zlokovic 2005). En effet, dans le cerveau, les cellules vasculaires (cellules endothéliales et CMLV ou péricytes, respectivement dans les artérioles et dans les capillaires) partagent une proximité très étroite avec les cellules parenchymateuses (neurones et astrocytes). Cet arrangement cellulaire, connu collectivement sous le nom d' «**unité neurovasculaire**» (UNV) (Iadecola 2004) (Figure 6), est caractérisé par des interactions fonctionnelles complexes et dynamiques permettant le maintien de l'homéostasie cérébrale (Iadecola 2004). D'ailleurs, plutôt qu'une dépendance unidirectionnelle, ces deux types cellulaires peuvent communiquer de façon bidirectionnelle. Cette nature bi-fonctionnelle de la communication cellulaire est notamment possible à travers la matrice où des composants de la MEC sont liés à des récepteurs communs à la fois des cellules endothéliales et des astrocytes (comme les

intégrines $\alpha 1$ et $\beta 1$ qui sont des récepteurs d'adhésion) (Iadecola 2004). De plus, la possible intercommunication entre les neurones et les microvaisseaux a été mise en évidence par l'étude des processus pathologiques tels qu'un contexte ischémique (del Zoppo & Mabuchi 2003), contexte où il a en effet été démontré que des réponses microvasculaires et parenchymateuses (principalement neuronales), menant parfois à des lésions, se produisent dans le même laps de temps et dans les mêmes sous-régions du territoire ischémique (pour revue, voir (del Zoppo & Mabuchi 2003)). Un aperçu de la proximité et l'interaction étroite des acteurs de l'UNV est illustré à travers la description des caractéristiques cellulaires des astrocytes et des péricytes appartenant respectivement aux compartiments parenchymateux et vasculaires.

Les péricytes sont des cellules adjacentes aux capillaires, dont les nombreuses extensions cytoplasmiques encerclent le capillaire. Ils partagent une membrane basale commune avec les cellules endothéliales et appartiennent à la lignée des CMLV (Allt & Lawrenson 2001). De par l'établissement de contacts focaux grâce à des jonctions spécialisées, les péricytes sont en contact direct avec les cellules endothéliales (Allt & Lawrenson 2001). Dans le cerveau, le rapport péricytes/cellules endothéliales est élevé (1:3) par rapport au système vasculaire d'autres organes (1:100 dans le muscle squelettique) (Allt & Lawrenson 2001). De par leur localisation et leur nombre important dans le cerveau, les péricytes jouent ainsi divers rôles; leur morphologie et leur arrangement, ainsi que la sécrétion de divers facteurs (comme du collagène) contribuent à la stabilité des microvaisseaux (Armulik et al 2005, von Tell et al 2006), à la perméabilité et au remodelage vasculaire ainsi qu'à la croissance endothéliale et à l'angiogenèse (Dore-Duffy 2008). De plus, de façon similaire aux CMVL, les péricytes possèdent des propriétés contractiles (Obermeier et al 2013, Thomas 1999) et pourraient ainsi participer à la régulation du DSC selon les différentes conditions systémiques physiologiques et tissulaires locales. Il a été démontré *ex vivo*, que les péricytes modulent le diamètre des capillaires par vasoconstriction de la paroi artérielle (Chow et al 2007, Peppiatt et al 2006). Les péricytes ont également dans la microvascularisation cérébrale un rôle immunitaire ; ils sont capables de se convertir en un état plus actif possédant des propriétés

immunitaires identiques aux macrophages (endocytose et expression de marqueurs cellulaires similaires) et auraient ainsi des capacités migratoires, en sortant de la lame basale et se transformant en microglie péri-vasculaire (Thomas 1999). De plus, il a été démontré *in vitro* que les péricytes seraient capables de se différencier en d'autres types cellulaires, tels que des ostéoblastes, fibroblastes ou encore adipocytes (Thomas 1999).

Les astrocytes, situés entre les neurones, les péricytes et les cellules endothéliales, sont la population gliale la plus abondante du système nerveux central (Bass et al 1971). Le rapport astrocytes/neurones augmente avec la complexité et la taille du cerveau: il est de 1:6 chez le nématode *Caenorhabditis elegans*, alors qu'il est de 1,4:1 dans le cortex humain (Kulik et al 2008) et 1 astrocyte maintient un contact avec approximativement 160 000 synapses (Bushong 2002). Ils peuvent être de type protoplasmique dans la matière grise, ou fibreux dans la matière blanche. Les astrocytes protoplasmiques, dont les fonctions sont les mieux documentées, sont caractérisés depuis leur corps cellulaires par deux types d'extensions cytoplasmiques, (1) une fine extension péri-synaptique couvrant la majorité des synapses neuronales et (2) des extensions plus importantes dont les terminaisons, appelées pieds astrocytaires, couvrent 99% de la surface vasculaire des capillaires, artères intracérébrales et veinules (Nedergaard et al 2003). Le cerveau ayant un métabolisme très élevé, les neurones sont par nature particulièrement sensibles à des variations, même infimes, de leur microenvironnement (Magistretti 2006). La fonction et la viabilité des neurones sont assurées par les astrocytes, qui leur permettent un support structurel et métabolique (Magistretti 2006). Ils participent ainsi à la régulation de la transmission (Newman 2003) et à la plasticité synaptique (Nedergaard et al 2003) et constituent la seule réserve d'énergie (stockage du glucose sous forme de glycogène par exemple (pour revue, voir (Belanger et al 2011))). De plus, ils confèrent une activité neuroprotectrice contre le stress oxydant (Belanger & Magistretti 2009). L'interaction des astrocytes avec les cellules endothéliales permet le maintien de la barrière hémato-encéphalique (BHE) (décrit plus bas, chapitre 1.2.6) en renforçant les jonctions serrées au niveau de l'endothélium et réduisant ainsi l'espace jonctionnel (Tao-Cheng & Brightman 1988). Les astrocytes contribuent également au couplage neurovasculaire (Anderson &

Nedergaard 2003, Takano et al 2006) (décrit plus bas, voir le paragraphe 1.2.7.4 *Mécanismes de l'hyperémie fonctionnelle*). De par leur localisation, les astrocytes sont donc considérés comme étant l'élément cellulaire clé de l'UNV (Volterra & Meldolesi 2005) ; notamment, cette population cellulaire permet de connecter l'activité neuronale au réseau vasculaire (Ransom et al 2003).

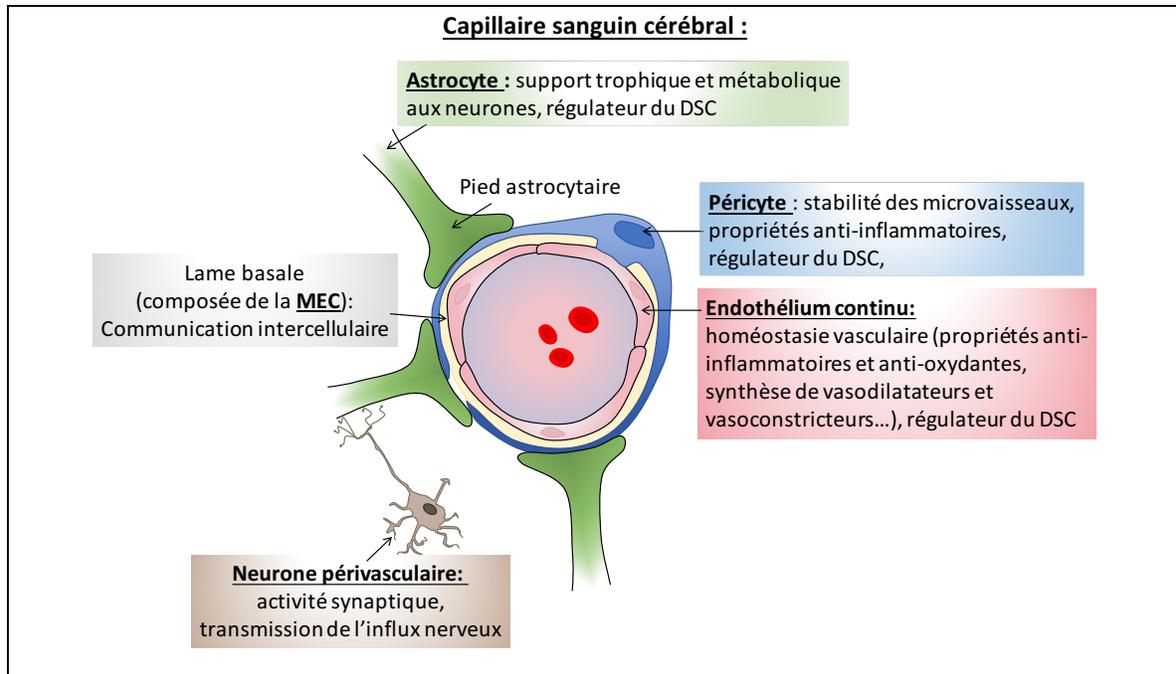


Figure 6 : Représentation schématique de l'unité neurovasculaire.

D'après (Zlokovic 2008). Dans les capillaires cérébraux, les cellules endothéliales partagent leur membrane basale avec les péricytes et sont entourées des pieds astrocytaires et des neurones, l'ensemble de cet arrangement cellulaire étant appelé l'«unité neurovasculaire ». La lame basale des microvaisseaux est une interface permettant l'interaction entre les cellules vasculaires et les compartiments gliaux (MEC : matrice extracellulaire ; DSC : débit sanguin cérébral).

Il existe ainsi un dialogue complexe entre toutes les entités et types cellulaires de l'UNV qui est essentiel afin d'assurer une perfusion cérébrale adéquate, notamment en relation avec la demande métabolique (décrit plus bas, chapitre 1.2.7), une régulation de la transmission et l'activité synaptique et le maintien de la barrière-hémato-encéphalique.

1.2.6 La barrière hémato-encéphalique :

Les microvaisseaux cérébraux possèdent des propriétés de barrière garantissant un environnement stable pour la fonction neuronale et l'activité synaptique ; ces propriétés de barrière (1) assurent le contrôle des mouvements ioniques, (2) minimisent les interférences entre émetteurs centraux et périphériques, (3) empêchent l'entrée des macromolécules de la circulation, (4) protègent les tissus cérébraux des substances neurotoxiques et (5) permettent le transport passif des nutriments et métabolites essentiels grâce à la présence de transporteurs spécifiques (pour revues, voir (Abbott & Romero 1996, Faraci 2011, Obermeier et al 2013)). Cette caractéristique de barrière, unique à la circulation cérébrale, est appelé la **barrière hémato-encéphalique** (BHE) et est retrouvée au niveau des capillaires, artères et artérioles cérébrales ainsi que dans les veinules cérébrales (Faraci 2011). Une représentation schématique de la BHE et de ses constituants cellulaires est proposée dans la figure 7 : la BHE est formée par la couche continue de cellules endothéliales, des pieds astrocytaires, des CMLV ou péricytes et de la lame basale.

L'acquisition du phénotype de la BHE requiert, d'une part, **(1)** l'intégrité de l'endothélium, qui est hautement spécialisé au niveau cérébral, dont les cellules inter-endothéliales sont ancrées les unes aux autres par des protéines de jonction serrées et adhérentes (Rubin & Staddon 1999). Pour en nommer quelques-unes, ces protéines sont des protéines trans-membranaires (telles que la molécule d'adhérence jonctionnelle-1, l'occludine et les claudines) et cytoplasmiques (les zonula occludens-1 et -2 (ZO-1, ZO-2), la cinguline, l'afadine 6 (AF-6)) liées au cytosquelette d'actine (Yamazaki & Kanekiyo 2017) (Figure 7). De plus, la présence de protéines de transport spécialisées sur la membrane des cellules endothéliales contrôlent le trafic de solutés dans et hors du cerveau (Iadecola 2013). Par exemple, le transporteur du glucose (GLUT1) et les transporteurs des acides aminés régulent le transfert de glucose et d'acides aminés dans le cerveau, alors que les transporteurs d'efflux, tels que le *density Lipoprotein-Related Protein 1* (LRP-1), les transporteurs ATP Binding Cassette (ABC), éliminent les drogues et les sous-produits métaboliques du cerveau, y compris le peptide béta-amyloïde (A β) et le lactate (pour

revue, voir (Neuwelt et al 2011)). D'autre part, le phénotype de la BHE est acquis **(2)** par de la proximité des pieds astrocytaires à l'endothélium, ce qui est permis grâce à la présence de la lame basale (composée des protéines de la MEC, la laminine 1, le collagène de type IV, et la fibronectine (Hamann et al 1995) (Figure 7), qui constitue en elle-même une barrière limitant la transmigration ou la fuite de cellules sanguines (del Zoppo & Mabuchi 2003).

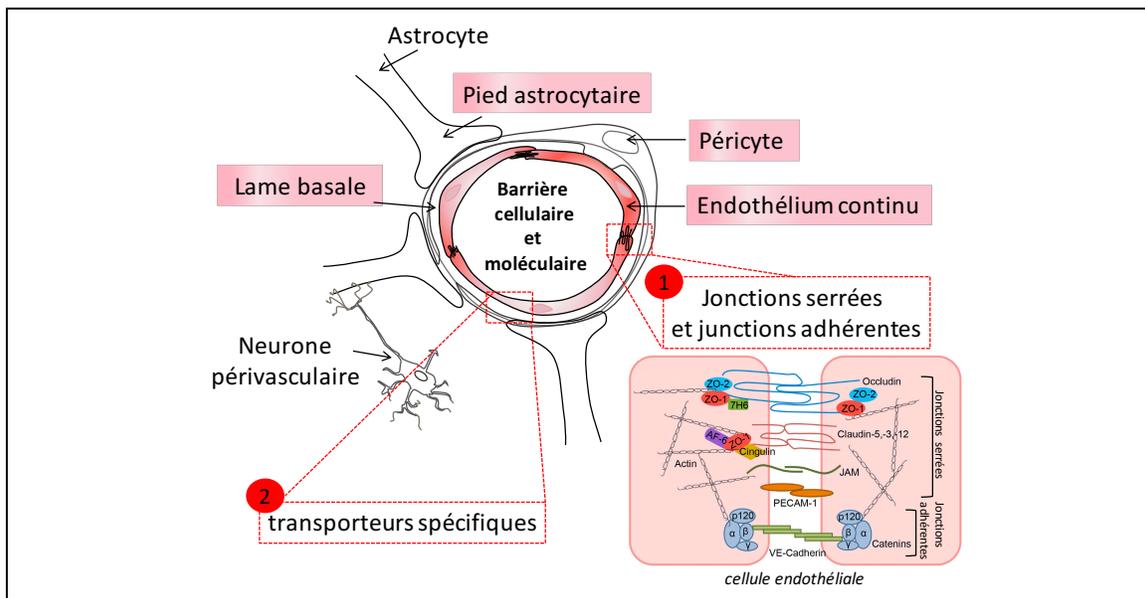


Figure 7 : Représentation schématique de la barrière hémato-encéphalique, qui est une barrière cellulaire et moléculaire.

D'après (Yamazaki & Kanekiyo 2017, Yang 2017). Au niveau cérébral, la fonction de barrière est assurée à la fois par (1) l'arrangement cellulaire des cellules endothéliales, des péricytes et des pieds astrocytaires. L'endothélium est de type continu et spécialisé : il exprime des jonctions serrées et adhérentes (occludine, claudine-5,-3,-12, zonula occludens ZO-1 et -2, AF-6, PECAM-1, JAM) ce qui participe à assurer l'imperméabilité de la barrière. (2) L'expression de transporteurs spécifiques permet le contrôle d'entrée et de sortie des molécules du/vers le cerveau (PECAM-1 : molécule d'adhésion plaquettaire des cellules endothéliales AF-6 : afadine, ZO : Zonula occludens, JAM : molécule d'adhésion jonctionnelle, MEC : matrice extracellulaire).

1.2.7 Régulation du débit sanguin cérébral et des fonctions cérébrovasculaires :

Le cerveau est l'organe du corps étant le plus dépendant d'un apport sanguin continu. Une interruption du DSC entraîne l'arrêt de la fonction cérébrale en quelques secondes et conduit à des dommages irréversibles des constituants cellulaires en quelques minutes (Hossmann 1994). Le maintien du DSC est ainsi fortement régulé, impliquant plusieurs mécanismes coordonnés. Cette régulation implique des changements régionaux et segmentaires du tonus vasculaire, ainsi que des interactions majeures entre les différents types cellulaires cérébraux (Faraci 2011).

1.2.7.1 Régulation du débit sanguin cérébral en réponse à des variations systémiques :

- Variation de la composition sanguine

Le DSC réagit aux changements de la composition sanguine et va ainsi moduler le diamètre des artères cérébrales. Lorsque la pression partielle artérielle en oxygène (PaO_2) diminue (hypoxie) et atteint la valeur seuil inférieure à 50-60 mm Hg, le DSC augmente par vasodilatation des vaisseaux sanguins cérébraux. Cette hyperémie permet de maintenir le débit d'oxygène au tissu cérébral (DO_2) malgré la diminution de la concentration artérielle en oxygène (CaO_2) selon la formule: $DO_2 = DSC \times CaO_2$ (Pearce 1995).

Une augmentation de la pression artérielle partielle en dioxyde de carbone ($PaCO_2$) (hypercapnie) va, elle, induire une augmentation du DSC par dilatation des artères cérébrales et une diminution de la $PaCO_2$ provoque une diminution du DSC par vasoconstriction.

D'après la loi de Poiseuille, une diminution de la viscosité du sang (baisse de l'hématocrite) provoque une baisse de la résistance à l'écoulement et des forces de cisaillement, ce qui a pour conséquence une augmentation du DSC (Harrison 1989). De plus, une diminution de l'hématocrite est associée à une diminution de la CaO_2 qui induit donc le même phénomène de vasodilatation des artères cérébrales qu'en cas d'hypoxie.

1.2.7.2 Variation de la pression de perfusion cérébrale : l'autorégulation

- Définition de l'autorégulation :

L'autorégulation est la propriété intrinsèque d'un organe de **maintenir un débit sanguin constant malgré des variations de pression de perfusion** (Paulson et al 1990). L'autorégulation est particulièrement active dans le cerveau en raison de sa nécessité en un apport sanguin constant et de son homéostasie en eau et compense les fluctuations normales de pression de perfusion cérébrale. Chez un adulte normotendu, les limites de l'autorégulation sont les limites inférieures (50-60 mm Hg) et supérieures (130-150 mm Hg), maintenant un DSC d'environ 50 mL par 100 g de tissu cérébral par minute (Phillips & Whisnant 1992). En dehors de ces limites de régulation de pression, le DSC varie de façon linéaire avec la pression de perfusion cérébrale, qui est la différence entre la pression artérielle carotidienne et la pression jugulaire (Figure 8). Notons que ni la limite inférieure, ni la limite supérieure de l'autorégulation cérébrale ne sont des valeurs fixes ; ces deux limites peuvent être modifiées par une multitude de facteurs intrinsèques et extrinsèques comme l'activité du système nerveux autonome (SNA) sympathique et l'hypertension chronique (Serrador et al 2001).

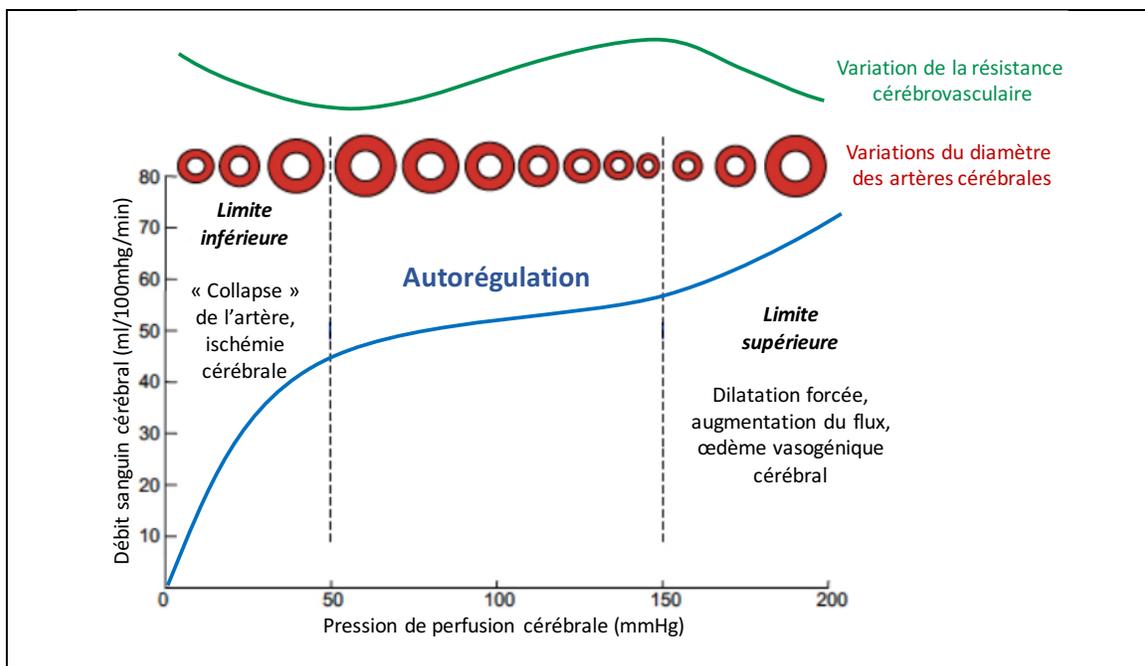


Figure 8 : Représentation graphique du principe de l'autorégulation cérébrale chez l'homme.

D'après (Pires et al 2013). L'autorégulation permet de maintenir le DSC stable pour des valeurs de pression artérielle allant chez l'Homme de 50 à 150 mm Hg. Lorsque la pression est inférieure à 50 mm Hg, l'autorégulation est alors défaillante et résulte en une diminution du DSC. À l'inverse, lorsque la pression est supérieure à la capacité d'autorégulation, le DSC augmente et peut provoquer la rupture des artères cérébrales ; (DSC : débit sanguin cérébral).

- Le mécanisme de l'autorégulation : la réponse conventionnelle myogénique

La réponse myogénique est la propriété intrinsèque des CMLV de réagir aux modifications de la charge mécanique ou de la pression intravasculaire/pression transmurale (PTM) (Bayliss 1902) : les CMLV se contractent sous l'effet d'une pression accrue et se dilatent sous l'effet d'une diminution de la pression ; ceci est appelée l'«effet Bayliss». Ce comportement myogénique des artères et artéioles est impliqué à la fois dans le processus du **tonus myogénique** qui est un état de constriction partielle à pression constante (Osol et al 2002), et dans la **réactivité myogénique** qui contribue à l'autorégulation du flux sanguin et correspond à la réponse artériolaire conventionnelle dans le maintien du débit au cours de l'autorégulation cérébrale lors d'un changement de pression de perfusion cérébrale (Folkow 1989). Il est important de souligner que cette réponse myogénique ne nécessite pas la participation de l'endothélium ni du système nerveux et peut être observée *ex-vivo* dans des artères dénervées (Folkow 1949) et dénuées d'endothélium (Earley et al 2004), ce qui suggère que les senseurs et les effecteurs responsables de la réactivité myogénique résident purement au niveau des CMLV. Les CMLV sont en effet capables de réagir aux stimuli mécaniques dépendant de la pression de perfusion cérébrale, telles l'augmentation de la tension transmurale et l'augmentation de la contrainte de cisaillement (pour revue, (Harder et al 1995)) (Figure 9). La réponse myogénique découle de deux principaux mécanismes ioniques et enzymatiques qui induisent tous deux l'augmentation de $[Ca^{2+}]_i$ des CMLV. Lors d'une augmentation de la pression, la réponse myogénique est initiée *via* l'activation des canaux ioniques (Figure 9) provoquant alors une dépolarisation de la membrane des CMLV (Koller & Toth 2012). Cette dépolarisation est par exemple de l'ordre de 30 mV (de -65 mV à -32 mV) dans des artères cérébrales de chat en réponse à une élévation de la pression

transmurale de 60 à 160 mm Hg (Harder et al 1995). Parmi ces canaux ioniques, les canaux calciques dépendants du voltage (CCDV) (Harder et al 1987) et les canaux ioniques non sélectifs mécanosensibles à l'étirement (« *stretch-activated channels* » (SAC)) contribuent à la dépolarisation des CMLV, comme les canaux chlorures dans les artères cérébrales postérieures chez le rat (Nelson et al 1997), les canaux à potentiel de récepteur transitoire (TRP) (particulièrement le TRPM4 (Earley et al 2004)), ou encore les canaux ioniques Piezo (Coste et al 2012) (Figure 9). L'activation des canaux potassiques voltage-dépendants limite la dépolarisation comme un mécanisme de rétrocontrôle négatif (Knot & Nelson 1995). Les SAC sont à la fois des senseurs et des effecteurs puisque leur activation et leur ouverture peuvent induire un influx de $[Ca^{2+}]_i$ qui est impliqué dans la contraction des CMLV. En effet, collectivement, la dépolarisation de la membrane conduit ensuite à un afflux de $[Ca^{2+}]_i$ via l'ouverture des CCDV, entraînant la formation du complexe calmoduline- Ca^{2+} (Figure 9) qui se lie à la kinase de la chaîne légère de la myosine (MLCK). La MLCK phosphoryle la chaîne légère de la myosine (MLC20), augmentant l'interaction de la myosine avec l'actine et induisant la contraction des CMLV (Figure 9) comme cela a notamment été démontré *ex vivo* dans des artères cérébrales de rats (Knot & Nelson 1998). La phosphatase de la chaîne légère de la myosine (MLCP) est capable d'intervenir dans le contrôle de la réponse myogénique en déphosphorylant la MLC20, ce qui limite la contraction (Cole & Welsh 2011). Parallèlement, mais de façon indépendante à l'activation directe des CCDV (Figure 9), l'activation de la phospholipase C (PLC) produit de l'inositol trisphosphate (IP_3) et le diacylglycérol (DAG) (Figure 9). L' IP_3 permet la libération de Ca^{2+} du réticulum endoplasmique après l'activation de son récepteur (IP_3R) et entraîne la contraction des CMLV par augmentation de la sensibilisation de l'appareil contractile au Ca^{2+} (Horowitz et al 1996). La sortie de Ca^{2+} depuis le réticulum endoplasmique, peut d'ailleurs activer par la suite les canaux TRPM4 (Figure 9) et entraîner la dépolarisation membranaire par entrée des ions sodium (Na^+) des artères cérébrales, suggérant d'ailleurs la convergence des différents mécanismes entre eux pour induire la vasoconstriction. De même, une autre voie impliquant la sensibilisation de l'appareil contractile au Ca^{2+} peut passer par la voie RhoA/Rho kinase (Horowitz et al

1996) ainsi que la production de phospholipase A2 (PLA2) (Horowitz et al 1996). Cette dernière contribue à la formation d'acide arachidonique (AA) et de ses dérivés, dont l'acide hydroxyéicosatetraénoïque (20-HETE) qui est un effecteur de la contraction soutenue des CMLV (Harder et al 1995) (Figure 9).

L'activité myogénique est donc cruciale pour la fonction hémodynamique normale cérébrale et pour le maintien de la résistance vasculaire. De façon additive à la réponse myogénique, d'autres facteurs peuvent augmenter ou diminuer le niveau de tonicité et de réactivité myogénique et ainsi affecter la résistance vasculaire. Globalement, l'autorégulation est en effet le résultat de plusieurs mécanismes assurés par l'interaction dynamique entre différents acteurs cellulaires.

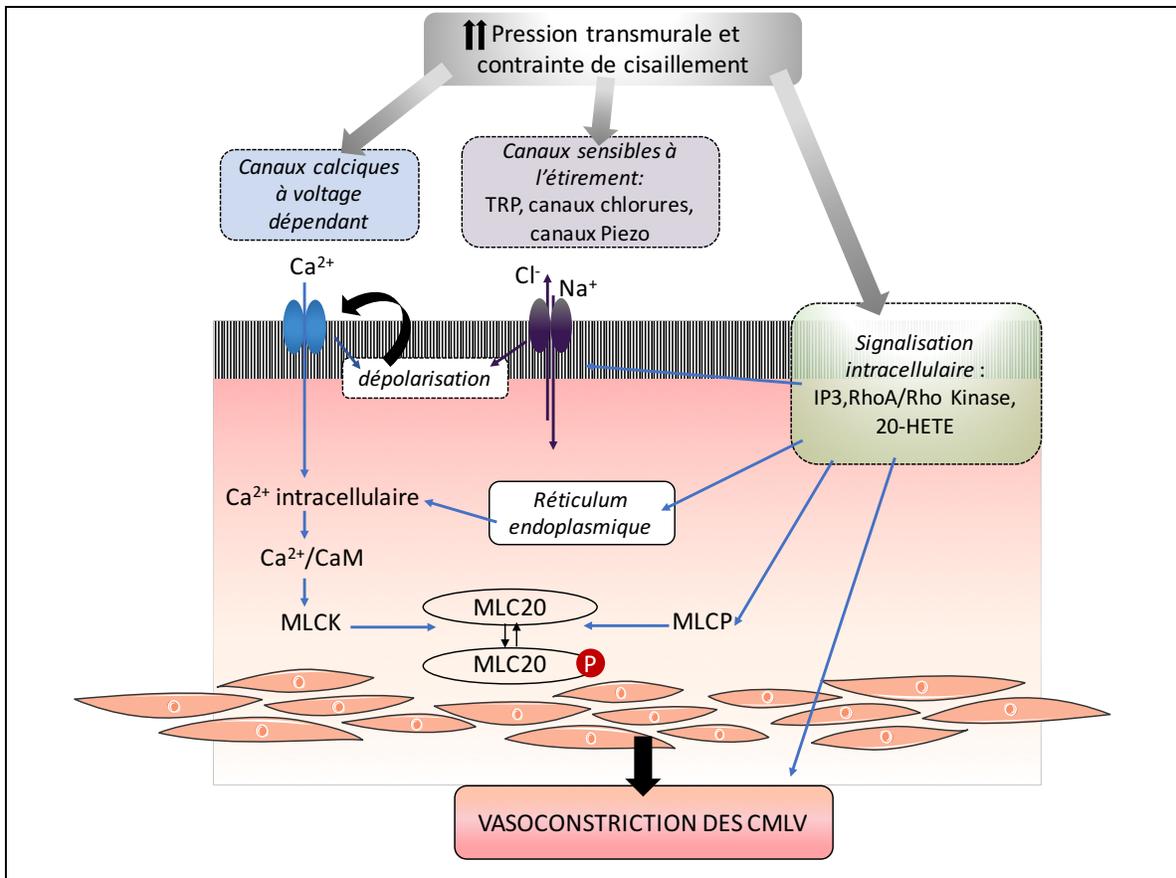


Figure 9 : Représentation simplifiée des voies de signalisation moléculaire en réponse à l'augmentation de la pression transmurale et des contraintes de cisaillement.

Adapté de (Cipolla 2009). L'augmentation de la pression augmente la pression transmurale et les forces de cisaillement, ce qui provoque une dépolarisation de la membrane cellulaire du muscle lisse et un afflux de Ca^{2+} via l'ouverture de canaux calciques dépendants du voltage et les autres canaux ioniques sensibles à l'étirement et induit la vasoconstriction des CMLV. L'activation des voies de signalisation de l' IP_3 , de la Rho Kinase ou du 20-HETE entraîne aussi l'augmentation du $[\text{Ca}^{2+}]_i$ et mène à la vasoconstriction des CMLV. (Ca^{2+} : calcium, MLC20 : chaîne légère de la myosine, IP_3 : inositol trisphosphate, 20-HETE: acide hydroxyéicosatétraenoïque, CMLV : cellules musculaires lisses vasculaires).

1.2.7.3 Autres régulateurs dans l'autorégulation du DSC :

- La réponse endothéliale

La réponse endothéliale repose sur l'activation de l'endothélium qui détecte les variations de force de cisaillement et synthétise à la fois des substances vasoactives (Figure 10) qui sont dilatatrices (principalement le monoxyde d'azote (NO), la prostacycline, le facteur hyperpolarisant dérivé de l'endothélium (EDHF) et l'adrénomédulline) ou constrictives (facteurs constricteurs dérivés de l'endothélium comme l'endothéline-1 (ET-1), le thromboxane A2 et la prostaglandine $\text{PGF}_2\alpha$). Ces substances dérivées de l'endothélium agissent sur les CMLV. Lors d'une augmentation de pression de perfusion, le tonus musculaire qui en résulte est ainsi réduit par une vasodilatation des CMLV via la voie du NO libéré de façon constitutive. La dilatation vasculaire induite par le NO est un phénomène bien décrit (Figure 10) : en réponse à la contrainte de cisaillement, la eNOS est activée de façon indépendante du Ca^{2+} , par activation de la kinase phosphatidylinositol 3 (PI_3K) et de la protéine kinase B (Akt) (activation de la voie $\text{PI}_3\text{K}/\text{Akt}$) (Harris et al 2001) menant à sa phosphorylation et donc à son activation comme montré dans les artères cérébrales de souris (Drouin & Thorin 2009). Sous l'action de la eNOS, la bio-synthèse du NO est effectuée à partir de la L-arginine, en présence de l' O_2 et des cofacteurs, y compris le tétrahydrobioptérine (BH_4), la flavine adénine dinucléotide (FAD), la flavine mononucléotide (FMN) et le nicotinamide adénine dinucléotide phosphate (NADPH). Le NO ainsi dérivé de l'endothélium, qui est une molécule lipophile très volatile, diffuse aisément à travers les membranes cellulaires (Palmer et al 1987) et provoque la relaxation des CMLV ; le NO se lie à la guanylate cyclase soluble (GCs) des CMLV qui est responsable de la synthèse de la guanine monophosphate

cyclique (GMPc) à partir de la guanine triphosphate (GTP) (Figure 10). La stimulation de la GCs entraîne une augmentation des taux intracellulaires de GMPc permettant l'activation de la protéine kinase G (PKG) (Figure 10). Cette cascade enzymatique réduit les interactions actine-myosine et provoque la relaxation vasculaire des CMLV (Carvajal et al 2000), ce qui augmente le débit cérébral régional. Des agonistes tels que l'acétylcholine ou la bradykinine provoquent l'augmentation de la concentration cytosolique en Ca^{2+} qui va alors s'associer avec la Calmoduline (CaM) afin de former le complexe Ca^{2+}/CaM (Fleming & Busse 1999), qui à son tour module la production de NO en augmentant l'activité de la eNOS et donc la production de NO (Figure 10). L'origine du NO n'est toutefois pas limitée à l'endothélium ; le NO peut également être émis par les terminaisons neuronales avec l'activation de la NOS neuronale (NOS1 ou nNOS) (Lowenstein et al 1994).

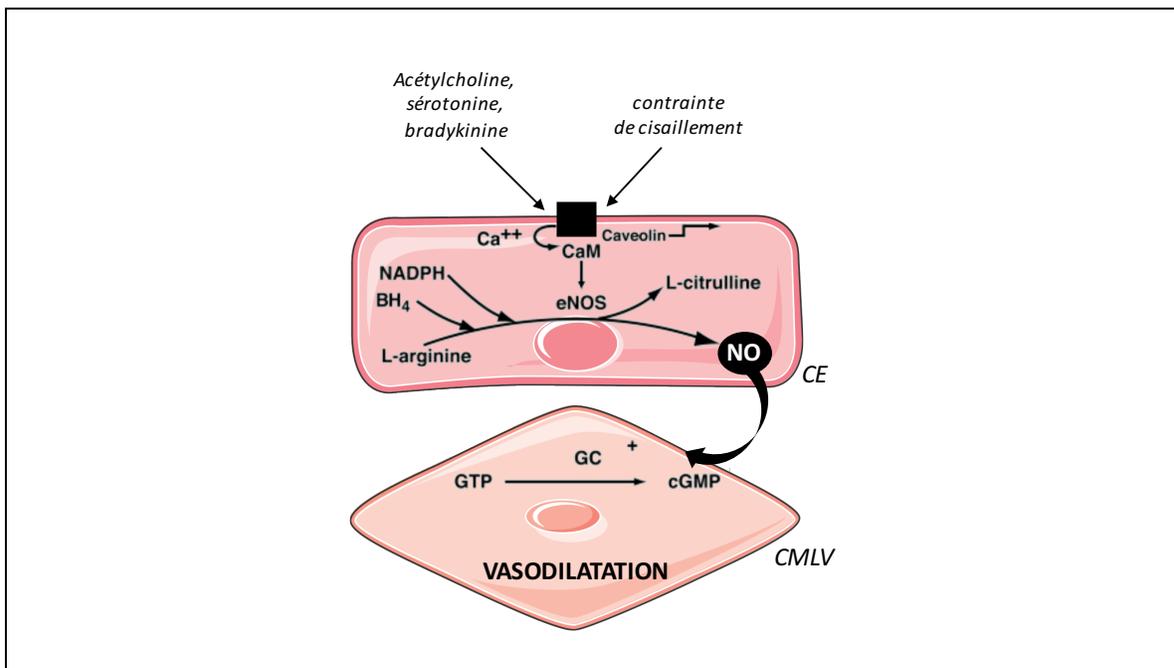


Figure 10 : Représentation de la vasodilatation vasculaire dépendante de l'endothélium.

D'après (Davignon & Ganz 2004). L'augmentation intracellulaire de Ca^{2+} en réponse à des agonistes vasodilatateurs ou à des contraintes de cisaillement active la eNOS et le NO est produit par l'action de la eNOS à partir de L-arginine. Cette réaction nécessite un certain nombre de cofacteurs, y compris la BH_4 et le NADPH. Le NO diffuse ensuite au muscle lisse vasculaire et provoque la relaxation en activant la GC, augmentant ainsi le taux de GMPc ; (CE : cellule endothéliale, CMLV : cellule musculaire lisse vasculaire, CaM : calmoduline, NADPH : Nicotinamide

adénine dinucléotide phosphate, BH₄ : tétrahydrobioptérine, NO : monoxyde d'azote, eNOS : enzyme synthase du monoxyde d'azote endothéliale, cGMP : Guanine monophosphate cyclique GTP : Guanine triphosphate, GC : guanylate cyclase).

- **La réponse neurogène**

La réponse neurogène contribue à la rapidité de la mise en place de l'autorégulation. **L'innervation extrinsèque** intervient dans le contrôle global du DSC et réfère à l'innervation des vaisseaux en dehors du parenchyme cérébral depuis le ganglion trijumeau, ganglion cervical supérieur et du ganglion sphéno-palatine (Peterson et al 2011). Ces ganglions sont associés aux nerfs sensitifs, sympathiques et parasympathiques, respectivement. **L'innervation intrinsèque**, résultant à la fois de noyaux sous corticaux, de neurones pyramidaux et d'interneurones locaux, agit plutôt sur le DSC local et régule le tonus microvasculaire. Selon la zone stimulée, une augmentation ou une diminution du DSC peut être provoquée mais de façon locale (pour revue, voir (Peterson et al 2011)). Dans des conditions normotensives, la stimulation sympathique a peu d'effet sur la régulation du DSC au repos. Le rôle des fibres parasympathiques dans le contrôle du DSC est relativement peu connu (Hamel 2006) et ne semblerait pas avoir un rôle physiologique important. Dans une étude *in vivo* chez le rat, il a néanmoins été démontré que la dénervation parasympathique conduisait à un déplacement de la courbe d'autorégulation cérébrale vers de plus hautes valeurs de PA, suggérant que l'activation des nerfs parasympathiques pourrait jouer un rôle protecteur au cours des hypotensions aiguës (Morita et al 1994). Son implication a aussi été proposée dans des situations physiopathologiques telles que l'ischémie et la migraine (Goadsby 1997a, Hamel 2006). De même, alors que le système trigémino-vasculaire des fibres sensibles ne semble pas être impliqué dans le maintien du DSC dans les conditions de base, il serait fortement impliqué dans les situations pathologiques lorsque la limite haute de l'autorégulation cérébrale est dépassée (Goadsby 1997b), et des recherches plus récentes se sont orientées sur le rôle de ce système dans les migraines (Goadsby 1997b, Hamel 2006). Il est généralement admis que l'activité des fibres nerveuses sympathiques n'a qu'un effet modeste sur le DSC ; par exemple, la stimulation sympathique en conditions normotensives chez le chien ou le chat ne modifie pas le DSC (Busija et al 1980) mais a un

effet plus important dans des situations où la PA augmente rapidement et fortement. En cas d'hypertension aiguë, l'activation nerveuse sympathique aurait un effet protecteur sur la circulation cérébrale face aux élévations de la PA au-delà de la limite haute de l'autorégulation du DSC et préviendrait la rupture de la BHE. Ceci a été démontré *in vivo* chez le chat où l'augmentation du DSC dans l'hypertension artérielle aiguë induite soit pharmacologiquement par une injection intraveineuse d'angiotensine II (Ang II), soit mécaniquement par la ligature de l'aorte thoracique, peut-être atténuée par stimulation sympathique (Bill & Linder 1976, Busija et al 1980). Chez le rat, la stimulation sympathique cervicale au cours d'une hypertension aiguë induite *in vivo* par une perfusion d'Ang II diminue le DSC comparativement au DSC mesuré chez des rats sans stimulation sympathique (Edvinsson & MacKenzie 1976). Ainsi, l'activation des nerfs sympathiques déplace la limite supérieure de l'autorégulation cérébrale vers de plus hautes valeurs de PA dans différentes espèces animales et l'inhibition du système sympathique déplace la limite inférieure de l'autorégulation vers les basses pressions (pour revue, voir (Hamel 2006)) (figure 11).

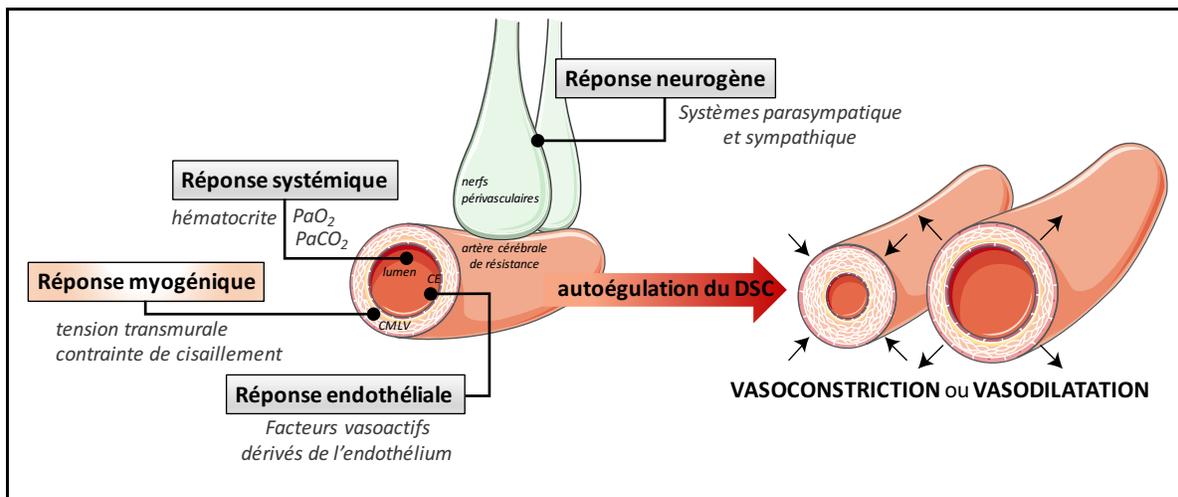


Figure 11 : Mécanismes permettant l'autorégulation du DSC.

Le mécanisme principal de l'autorégulation du DSC est la réponse myogénique qui est la propriété des vaisseaux de résistance de modifier leur calibre en réponse aux changements de pression transmurale. De façon additive à la réponse myogénique, d'autres réponses peuvent augmenter ou diminuer le niveau de tonicité myogénique et ainsi affecter la résistance vasculaire, en provenance des cellules endothéliales, des nerfs périvasculaires ou de la circulation systémique. (DSC : débit sanguin cérébral, CMLV : cellule musculaire lisse vasculaire, CE : cellule endothéliale,

PaO₂ : pression partielle artérielle en oxygène, PaCO₂ : pression artérielle partielle en dioxyde de carbone).

L'autorégulation est donc interprétée comme un mécanisme homéostatique dont le mécanisme principal est la réponse myogénique aux changements de pression artérielle garantissant de maintenir le DSC stable et ainsi de protéger la partie distale de la microcirculation d'une hypoxie et d'une hypercapnie tissulaires quand la pression de perfusion baisse, et d'une rupture de la BHE ou d'hémorragies quand la pression de perfusion s'élève (Smeda 1992).

1.2.7.4 Régulation locale du débit sanguin cérébral : le couplage neurovasculaire ou hyperémie fonctionnelle

- Définition du couplage neurovasculaire

Les neurones ont des besoins énergétiques substantiels mais n'ont pas de capacité de réserve de leur substrats énergétiques ; ils reposent sur un système qui coordonne la demande métabolique neuronale avec l'apport en nutriments depuis le sang et qui est réalisé grâce à la participation des cellules vasculaires. Ce processus est appelé le **couplage neurovasculaire** (CNV) ou "**hyperémie fonctionnelle**": en réponse à l'activité neuronale, une dilatation vasculaire cérébrale permet l'augmentation rapide du flux sanguin local aux neurones activés (Roy & Sherrington 1890).

- Mécanismes de l'hyperémie fonctionnelle

Contrairement aux artères piales, les artérioles parenchymateuses sont étroitement associées aux astrocytes et, dans une moindre mesure, aux neurones. Les neurones dont les corps cellulaires proviennent des régions cérébrales sous-corticales (par exemple, le noyau basal, le locus coeruleus ou le noyau raphé) se projettent sur les artérioles parenchymateuses pour contrôler le flux sanguin local de concert avec la demande neuronale (Hamel 2006). Traditionnellement, il était pensé que les neurones actifs, de par leur consommation en adénosine triphosphate (ATP), généraient un signal métabolique (baisse de la concentration en O₂ ou en glucose, ou augmentation de la concentration en CO₂ ou en adénosine) qui était ainsi associé à une demande

énergétique, ce qui déclenchait une augmentation du flux sanguin (appelé hypothèse de rétroaction négative) (pour revue (Attwell et al 2010)). Cette hypothèse a été remplacée par des travaux plus récents qui ont démontré que le contrôle de l'apport d'énergie vasculaire par l'activité neurale est plutôt effectué par des mécanismes à action directe. Ceux ci impliquent une signalisation initiée par la libération de neurotransmetteurs, et plus particulièrement le glutamate, conduisant à la libération de substances vasodilatatrices depuis les neurones, les astrocytes, les cellules endothéliales ou encore les péricytes au niveau des capillaires et augmentant le DSC local (pour revue (Attwell et al 2010)).

Lors de l'activité neuronale, le glutamate ainsi libéré des synapses glutamatergiques active le récepteur N-méthyl-D-aspartate (NMDAR) (Figure 12) des neurones adjacents pour augmenter le $[Ca^{2+}]_i$, provoquant la synthèse de NO par la nNOS, ce qui active la guanylate cyclase des CMLV des artérioles parenchymateuses. Cela génère la GMPc et entraîne la dilatation des CMLV. L'élévation en $[Ca^{2+}]_i$ peut également générer de l'AA à partir de la PLA2 et qui est converti par la cyclo-oxygénase 2 (COX2) en prostaglandines (PG) qui ont une action dilatatrice, comme cela a été démontré *in vivo* et *in situ* sur des tranches de cerveau (particulièrement chez et isolées du rat) (pour revue voir (Busija et al 2007)). Il est suggéré que la PG la plus souvent impliquée est la prostaglandine 2 (PGE2) (pour revue, (Attwell et al 2010)). De plus, les astrocytes qui entourent d'une part les synapses neuronales et d'autre part les CMLV par leur pieds astrocytaires, sont une interface de signalisation dans le contrôle local de la régulation du DSC (Navarrete & Araque 2014). Lors de l'activité neuronale, une partie du glutamate libéré s'échappe de la fente synaptique et stimule les récepteurs métabotropes du glutamate (mGluR) des astrocytes (Figure 12), ce qui augmente le $[Ca^{2+}]_i$ (mesuré dans des tranches d'hippocampe isolées du rat et marquées avec une sonde fluorescente sensible au Ca^{2+} (Porter & McCarthy 1996) et génère la production d'AA et trois de ses métabolites (mis en évidence par l'utilisation *ex vivo* ou *in vivo* d'inhibiteurs spécifiques des enzymes synthétisant ces métabolites (Metea & Newman 2006, Peng et al 2002) : la PGE2 et l'acide epoxyeicosatriénoïque (EET) qui ont tous deux une action dilatatrice sur

les CMLV (Roman 2002) et le 20-HETE qui a une action vasoconstrictive (Roman 2002). Cette génération d'AA par les astrocytes est la principale source de l'augmentation du DSC (Attwell et al 2010) (Figure 12), mais la relâche du NO depuis les neurones est néanmoins importante car sa présence inhibe les enzymes produisant le 20-HETE (Roman 2002). Le NO garantit donc que seuls les prostaglandines vasodilatatrices et les dérivés EET de l'AA puissent affecter le diamètre de l'artériole. Le NO stimule également la COX1 et inhibe la COX2 (Fujimoto et al 2004). Le NO permet donc de moduler les voies dilatatrices et constrictives des astrocytes sur les CMLV (Figure 12). Il est majoritairement suggéré que la prostaglandine impliquée dans la vasodilatation est la PGE2 (Attwell et al 2010), qui par sa liaison aux récepteurs 4 de la prostaglandine E₂ (EP4), augmente l'activité de la protéine kinase A par l'AMP cyclique et diminue la phosphorylation de la chaîne légère de la myosine, menant à la vasodilatation des CMLV, comme démontré dans une culture primaire de microvaisseaux cérébraux isolés du rat (Takata et al 2009).

L'importance relative des voies neuronale et astrocytaire est susceptible de différer en fonction des différentes zones du cerveau, et même entre différentes voies neuronales dans la même zone (pour revue, voir (Attwell et al 2010)) ; les produits de NO, de cyclo-oxygénase et d'époxygénase semblent tous être importants pour générer une hyperémie fonctionnelle dans le cortex (Attwell et al 2010), alors que le NO seul semble être plus dominant dans le cervelet comme démontré *in vivo* chez le rat (Yang et al 1999). Dans le prosencéphale basal, le couplage neurovasculaire est assuré par la relâche de l'acétylcholine depuis les neurones cholinergiques, agissant sur l'endothélium vasculaire par activation de la eNOS (Attwell et al 2010). De plus, les astrocytes régulent le tonus vasculaire par le biais des canaux astrocytaires potassiques à grande conductance sensibles au calcium (BK), qui sont activés lors de l'augmentation du Ca²⁺. Leur ouverture au niveau des pieds astrocytaires entraîne de façon concomitante la libération de K⁺ dans l'espace péri vasculaire, lequel active les canaux K⁺ (K_{ir}) des CMLV et mène à une vasodilatation par hyperpolarisation du potentiel membranaires des CMLV, comme cela a été démontré sur des tranches de cerveaux isolés de souris (Girouard et al 2010). Une vasoconstriction des artérioles cérébrales peut également être observée, lorsque le K⁺

induit une dépolarisation et active les VDCC des CMLV (Girouard et al 2010). L'O₂ est nécessaire à la synthèse du NO et des messagers vasoactifs dérivés de l'AA (Attwell et al 2010) et sa concentration régule également les voies de signalisation impliquées dans la vasodilatation, comme démontré expérimentalement par modulation de l'oxygénation tissulaire dans des tranches d'hippocampe et du néocortex isolées de rat (Gordon et al 2008). Des faibles concentrations en O₂ conduisent à une diminution de la production de NO et des métabolites vasodilatateurs issus de la production d'AA (Attwell et al 2010). De plus, la diminution de l'O₂ se traduit en un manque d'énergie pour la synthèse d'ATP, ce qui entraîne une augmentation du taux d'adénosine extracellulaire (Figure 12). L'adénosine extracellulaire se lie aux récepteurs de l'adénosine A2a des CMLV et inhibe la constriction artériolaire par le 20-HETE (Figure 12). De plus, la diminution de la concentration en O₂ se traduit par une diminution du taux de phosphorylation oxydative par rapport au taux de glycolyse, ce qui entraîne la production de lactate, qui, par exportation extracellulaire (par les transporteurs monocarboxylates), inhibe la recapture de la PGE₂ (Figure 12) (par le transporteur de la prostaglandine), ce qui favorise la vasodilatation (mécanistique démontrée expérimentalement (Gordon et al 2008)). De plus, la vasodilatation induite collectivement par les différents mécanismes initiés par la libération du glutamate induisent une augmentation du DSC, ce qui induit une élévation de la force de cisaillement, et ce stimulus mécanique active la eNOS dont la formation de NO favorise la vasodilatation des CMLV (Attwell et al 2010) (Figure 12). Il a également été récemment proposé *ex vivo*, que la réponse d'hyperémie à l'activité neuronale inclut la participation des érythrocytes (Wei et al 2016) ; les globules rouges proches des neurones activés agissent eux-mêmes en tant que senseurs de la diminution de l'O₂ et régulent de manière autonome leur déformabilité et par conséquent, la vitesse d'écoulement des globules rouges dans les capillaires augmente et entraîne la vasodilatation artérielle (par un mécanisme néanmoins encore mal compris) (Wei et al 2016) .

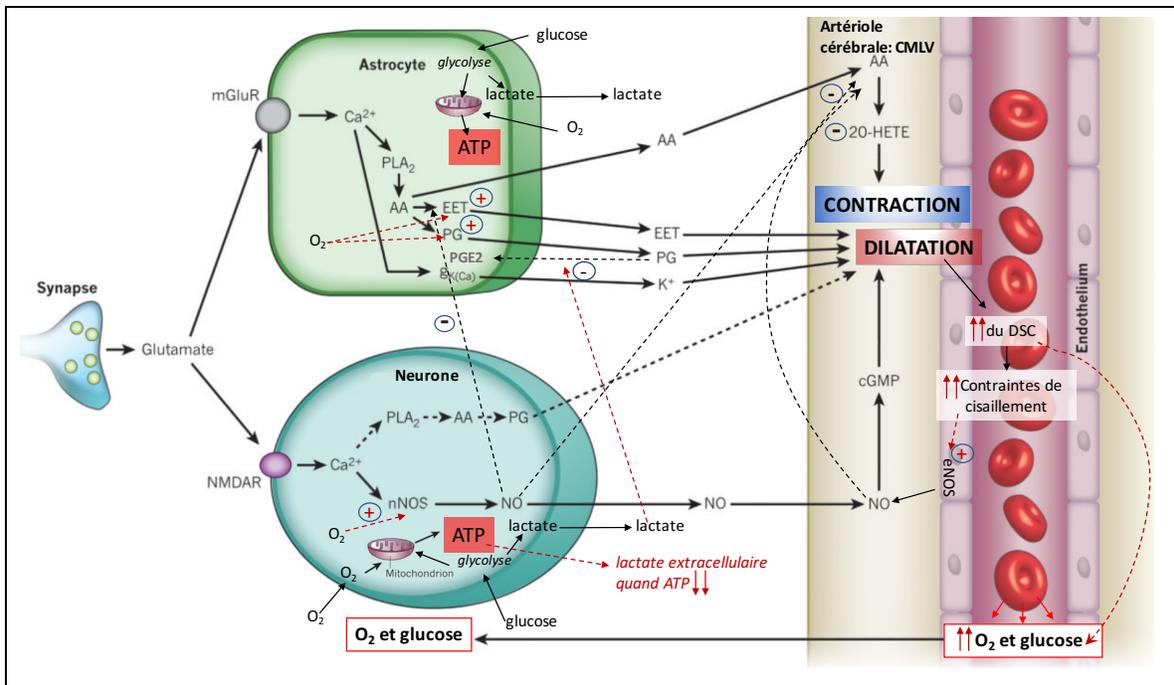


Figure 12 : Schématisation des principales voies astrocytaires et neuronales par lesquelles la libération du glutamate régule le flux sanguin cérébral.

D'après (Attwell et al 2010). Lors de l'activation neuronale, le glutamate libéré par les terminaisons axonales joue un rôle clé dans la régulation du flux sanguin cérébral en entraînant l'activation de voies de signalisation astrocytaires et neuronales qui vont permettre la libération de molécules vasoactives capables d'agir sur le tonus des artérioles cérébrales. L'oxygène module également la régulation du flux sanguin (NO : monoxyde d'azote, AA : acide arachidonique, eNOS: enzyme synthase de monoxyde d'azote endothéliale, nNOS : NOS neuronale, ATP : Adénosine triphosphate, cGMP : guanine monophosphate cyclique, DSC: débit sanguin cérébral, 20-HETE : acide hydroxyéicosatetraenoïque EET : acide epoxyeicosatrienoïque, PG: prostaglandine, NMDAR : mGluR : récepteurs métabotropes au glutamate, PLA2 : phospholipase A2).

Les mécanismes que nous avons décrits concernent les artérioles parenchymateuses qui fournissent du sang aux régions du cortex, mais leur couverture spatiale du cerveau limitée empêche leur communication directe avec la grande majorité des neurones. Plus profondément dans le cerveau, le mécanisme d'hyperémie fonctionnelle au niveau des capillaires serait ainsi supposé être assuré par les péricytes. Il est présumé que les voies de signalisation contrôlant la constriction et la dilatation des péricytes seront similaires à celles des CMLV dans les artérioles (pour revue, (Attwell et al 2010)). Il a été démontré *in situ* dans des tranches de cerveau que les péricytes se contractent en réponse à la noradrénaline et se dilatent en réponse au glutamate (Peppiatt et al 2006), et dans la rétine isolée, le blocage des récepteurs GABAA du

neurotransmetteur inhibiteur, l'acide γ -aminobutyrique (GABA), induit une vasoconstriction des capillaires, démontrant que la libération de neurotransmetteur endogène est capable de réguler le diamètre capillaire (Peppiatt et al 2006). Cette régulation du DSC au niveau capillaire n'a pas encore été démontrée *in vivo* et reste à être investiguée. De plus, au niveau des cellules endothéliales des capillaires, un processus de propagation de vasodilatation rétrograde sous forme d'un signal vasodilatateur électrique a été décrit ; il a été démontré *in vivo* chez la souris (Longden et al 2017), que les cellules endothéliales des capillaires détectent l'activation neuronale par la relâche de l'ion K^+ extracellulaire capable d'activer les canaux potassique K^+ de la cellule endothéliale capillaire et de produire une hyperpolarisation. Cette hyperpolarisation est capable d'effectuer une propagation rapide rétrograde qui provoque une dilatation artériolaire en amont par propagation du courant hyperpolarisant aux cellules endothéliales adjacentes et augmentant le flux sanguin dans le lit capillaire (Longden et al 2017). Il faut également noter que les artères cérébrales piales de surface étant situées au-dessus de la *glia limitans* (Niermann et al 2001), leur diamètre peut donc être influencé par les facteurs libérés dans le LCR par les astrocytes (Busija et al 2007).

En résumé, il est ainsi généralement admis que le CNV implique la libération de substances vasodilatatrices par les neurones et les astrocytes, suite à l'activation neuronale, et que les CMLV des artérioles parenchymateuses ou les péricytes des capillaires, sont la cible de ces composés vasoactifs permettant l'augmentation du DSC par la vasodilatation induite localement. Par conséquent, les neurones, les astrocytes et les cellules vasculaires forment cette UNV qui, collectivement, contrôle le flux sanguin local et assure localement un apport adapté en oxygène et en nutriments.

D'après la description que nous venons de faire sur le contrôle de l'homéostasie cérébrovasculaire qui est régulé de façon très étroite entre les cellules neuronales, gliales et vasculaires, il va sans dire qu'une défaillance de l'un des acteurs cellulaires, compromet le support métabolique aux neurones, entraîne une dérégulation du DSC et une perte de

l'homéostasie cérébrale. Nous allons voir que de telles dysfonctions sont observées au cours du vieillissement et dans des situations pathologiques.

1.3 Impact du vieillissement sur le système artériel et cérébral

Le vieillissement est une manifestation de la dysfonction progressive, dépendante du temps, de l'ensemble des mécanismes moléculaires de notre organisme (Lakatta 2015). Ainsi, au cours du vieillissement, les fonctions tissulaires du système vasculaire et du cerveau déclinent graduellement et sont tous deux caractérisés par des changements structurels et fonctionnels (Fleg & Strait 2012, Murman 2015) ayant des répercussions communes sur la santé.

1.3.1 Changements structurels et fonctionnels des artères périphériques au cours du vieillissement :

1.3.1.1 Changements structurels :

Au cours du vieillissement, les artères élastiques subissent deux changements macroscopiques : elles se dilatent et se rigidifient (mesuré chez l'homme, voir (Gerstenblith et al 1977)). En effet, avec le temps les battements cardiaques induisent une fatigue pulsatile matérielle, et en conséquent, la lame élastique porteuse de la paroi artérielle se fragmente, se désorganise et s'amincit graduellement (pour revue, voir (O'Rourke & Hashimoto 2007)). Cette perte d'élastine impose un transfert des charges mécaniques (contraintes de cisaillement et de pression) appliquées à la paroi artérielle vers les fibres de collagène et indirectement vers les CMLV. Les fibres de collagènes étant 100 à 1000 fois plus rigides que les fibres élastiques (Wagenseil & Mecham 2012), une rigidification de l'artère s'ensuit. De plus, les fibres élastiques endommagées lors du vieillissement ne sont pas remplacées car l'expression de l'élastine n'est plus effective chez l'adulte et, secondairement à la charge mécanique imposée sur le collagène, celui-ci accroît sa production. Le ratio élastine/collagène diminue donc avec l'âge (Wagenseil & Mecham 2012). De plus, les fibres de collagène et d'élastine, qui comme nous l'avons décrit confèrent respectivement la force et l'élasticité de la paroi artérielle, sont normalement stabilisées de façon covalente par *cross-linking* enzymatique (Fleg & Strait

2012). Cependant, au cours du vieillissement, la formation des produits de glycation avancée (AGE), qui sont des molécules bioactives formées par la glycation non enzymatique de protéines, de lipides et d'acides nucléiques, s'accumulent dans les artères (Fleg & Strait 2012) (Figure 13). Certains de ces AGEs ont le potentiel de former des liaisons irréversibles entre et au sein du collagène et de l'élastine. Ces liaisons entraînent une perte de distensibilité et de résistance et sont associées à une rigidité artérielle accrue chez les personnes âgées (Semba et al 2009). De façon additionnelle, les AGEs peuvent interagir avec leur récepteur membranaire (RAGE) qui favorise la stimulation des réponses au stress cellulaire. La liaison AGE-RAGE entraîne en effet l'activation intracellulaire du facteur de transcription nucléaire NFκB, induisant la libération de plusieurs molécules d'adhésions et cytokines pro-inflammatoires telles que les molécules d'adhérence vasculaire-1 (VCAM-1), molécule d'adhérence intercellulaire-1 (ICAM-1), le facteur de nécrose tumorale α (TNFα) ou encore l'interleukine-6 (IL-6) (de Vos et al 2016). De plus, l'accumulation des AGE augmente la production d'anion superoxyde par l'activation de la NAD(P)H / oxydase (Najjar et al 2005). De façon additive, l'accumulation de la MEC et des dépôts de Ca²⁺ (calcification) s'effectuent et participent à l'augmentation de la rigidité artérielle (Lakatta & Levy 2003) (Figure 13). Collectivement, le remodelage artériel avec l'âge entraîne progressivement l'épaississement et la rigidité de la paroi, diminuant ses propriétés viscoélastiques (Cliff 1970) (Figure 13). La rigidité de la paroi artérielle est ainsi considérée comme un marqueur du vieillissement artériel (Avolio et al 1985). Chez l'Homme, ces changements structurels sont nettement plus marqués au niveau de l'aorte et des artères élastiques proximales, et moins au niveau des artères musculaires périphériques. La paroi des artères musculaires s'épaissit de façon modeste mais paradoxalement, la rigidité artérielle n'est pas impactée (Mitchell 2008) et la gamme d'étirement assez large de l'artère maintient l'élasticité de l'artère à des niveaux normaux (Mitchell 2008).

1.3.1.2 Changements fonctionnels : La dysfonction endothéliale vasculaire

L'endothélium vasculaire sain réside dans un état d'équilibre étroitement régulé entre les molécules pro- et anti-oxydantes, les facteurs vasodilatateurs et les vasoconstricteurs, les molécules pro et anti-inflammatoires et les signaux pro- et anti-thrombotiques (Davignon & Ganz 2004, Donato et al 2015). Le vieillissement artériel est caractérisé par une altération fonctionnelle des cellules endothéliales (Bolduc et al 2013) (Figure 13) et l'endothélium dysfonctionnel présente alors des propriétés pro-oxydantes, vasoconstrictrices, pro-inflammatoires et pro-thrombotiques (Donato et al 2015). L'endothélium n'assure ainsi plus aussi efficacement sa fonction de barrière, comme démontré de façon chronologique chez le rat âgé (Belmin et al 1993), ni sa fonction de vasodilatation (Schwartz & Benditt 1977).

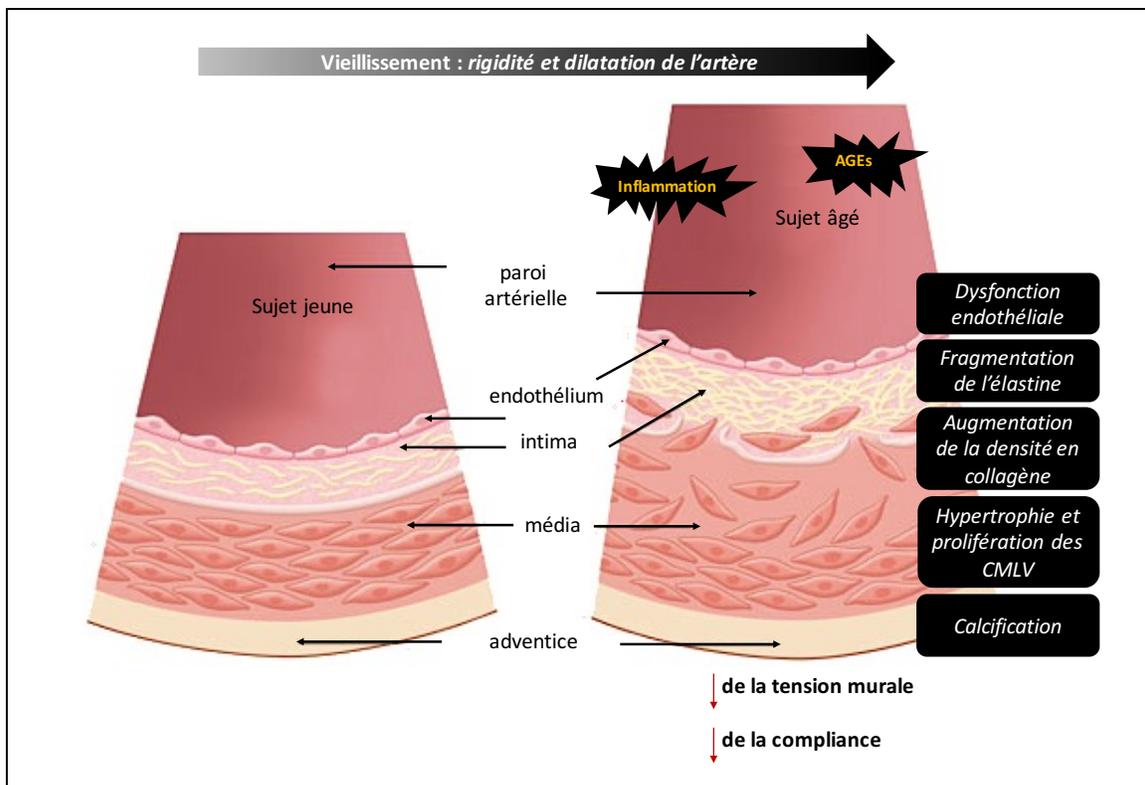


Figure 13 : Changements structurels et fonctionnels des artères au cours du vieillissement.

Adapté de Healthplexus.net. Le vieillissement artériel est caractérisé par un remodelage progressif de la paroi artérielle entraînant au niveau structurel une dilatation et une rigidification, se traduisant par une diminution de la tension murale et une diminution de la compliance artérielle. Les changements structurels sont caractérisés par l'augmentation de l'épaisseur de

l'intima et de la média, causés par la fragmentation progressive de l'élastine avec l'âge, qui entraîne l'augmentation de la production en collagène et la prolifération des CMLV. De plus, la présence de dépôts calciques augmente la rigidité artérielle, ainsi que l'accumulation des AGEs au niveau artériel qui exacerbent cette rigidité artérielle, et promeut un environnement inflammatoire, menant à une dysfonction endothéliale (AGE : produits de glycation avancée, CMLV : cellules musculaires lisses vasculaires).

La dysfonction endothéliale est majoritairement attribuée à une diminution de la biodisponibilité du NO (Donato et al 2015), pouvant résulter d'une diminution de la synthèse et de la relâche du NO et des autres vasodilatateurs dérivés de l'endothélium, comme cela a été démontré dans un certain nombre d'études animales et chez l'Homme (pour revues, voir (Fleg and Strait 2012),(Donato et al 2015)). De ce fait, la réduction de la synthèse de vasodilatateurs favorise une vasoconstriction liée à une production accrue de facteurs constricteurs dérivés de l'endothélium (par exemple l'ET-1 (Cardillo et al 2000)). Le processus menant à la dysfonction endothéliale implique un microenvironnement de stress oxydant et pro-inflammatoire, notamment initiés par des facteurs mécaniques et humoraux (Lakatta 2015). Le stress oxydant peut-être défini comme un état dans lequel la biodisponibilité des ROS des systèmes enzymatiques oxydants et mitochondriaux est augmentée par rapport aux défenses anti-oxydantes (Donato et al 2015). La perte de la bioactivité du NO a été attribuée à l'augmentation des ROS vasculaires qui inactivent le NO, notamment par un découplage de la eNOS, comme cela a pu être démontré dans des études animales (pour revue, voir (Donato et al 2015)). Cette augmentation de la production de ROS avec l'âge a pour cause sous-jacente l'augmentation de l'inflammation (Donato et al 2015). Le vieillissement a en effet été associé à un phénotype artériel pro-inflammatoire chronique de bas grade (Chung et al 2009), caractérisé dans les modèles animaux et chez l'Homme par une augmentation de l'expression de cytokines pro-inflammatoires tissulaires et circulantes comme les cytokines TNF- α et IL-6 (pour revue, voir (Donato et al 2015)). L'inflammation serait majoritairement associée à l'activité accrue de la voie du NF κ B qui, en réponse à des stimuli inflammatoires ou des ROS, migre dans le noyau et active la transcription génique des cytokines pro-inflammatoires (Donato et al 2015). En plus d'exacerber l'inflammation en aval de la transcription des cytokines pro-inflammatoires par le NF κ B, la signalisation

inflammatoire stimule également la production de stress oxydant qui lui-même favorise l'activité pro-inflammatoire du NFκB et active les cellules immunitaires voisines (Donato et al 2015). De plus, d'autres voies sensibles à l'inflammation associées au vieillissement sont activées (comme la voie de signalisation de Notch (Liu et al 2012)) et pourraient également jouer un rôle dans la dysfonction vasculaire (comme l'hyper-perméabilité (Krouwer et al 2012)) : notamment, par l'accumulation de cellules sénescents dans la paroi vasculaire avec l'âge (pour revue, voir (d'Adda di Fagagna 2008)). Notons que deux types généraux de sénescence cellulaire existent, i) la sénescence répliquative, caractéristique du vieillissement et associée avec le raccourcissement des télomères et ii) la sénescence prématurée induite par des stimuli externes, qui activent la cascade de sénescence intracellulaire prématurément (et non caractérisé par le raccourcissement des télomères) (Wang & Bennett 2012). Les cellules sénescents sont métaboliquement actives et produisent des molécules pro-inflammatoires, pro-oxydantes et des protéases (regroupées sous le terme de « phénotype sécrétoire associé à la sénescence » (SASP) (Coppe et al 2010)). Les cellules sénescents jouent, dans les conditions physiologiques, un rôle bénéfique en permettant d'une part, d'attirer les cellules immunitaires responsables de leur élimination (Kirkland & Tchkonja 2017), et d'autre part, de stimuler la réparation (d'Adda di Fagagna 2008). Cependant, avec l'âge, la baisse de l'immunosurveillance (Weng 2006) entraînerait une diminution de leur clairance et donc l'accumulation des cellules sénescents (Ovadya et al 2018). Il est également possible que la vitesse d'apparition de cellules sénescents augmente en réponse aux agents de stress excessifs intracellulaires et extracellulaires comme les ROS (d'Adda di Fagagna 2008) et le raccourcissement des télomères (Najjar et al 2005) qui tous deux activent la réponse de réparation à l'ADN (d'Adda di Fagagna 2008). D'ailleurs, le raccourcissement des télomères est accéléré chez des patients ayant une PP et une vitesse de l'onde de pouls (VOP) élevée (Benetos et al 2001). L'accumulation des cellules sénescents endothéliales serait ainsi liée à la dysfonction vasculaire endothéliale (Donato et al 2015). En effet, l'élimination de cellules endothéliales sénescents améliore la fonction dilatatrice de l'endothélium chez des souris âgées (Roos et al 2016). Il existe ainsi un cercle vicieux avec

l'âge dans lequel l'inflammation, le stress oxydatif et la sénescence s'alimentent mutuellement, nuisant à la biodisponibilité du NO et à la fonction endothéliale, comme représenté dans la figure 14.

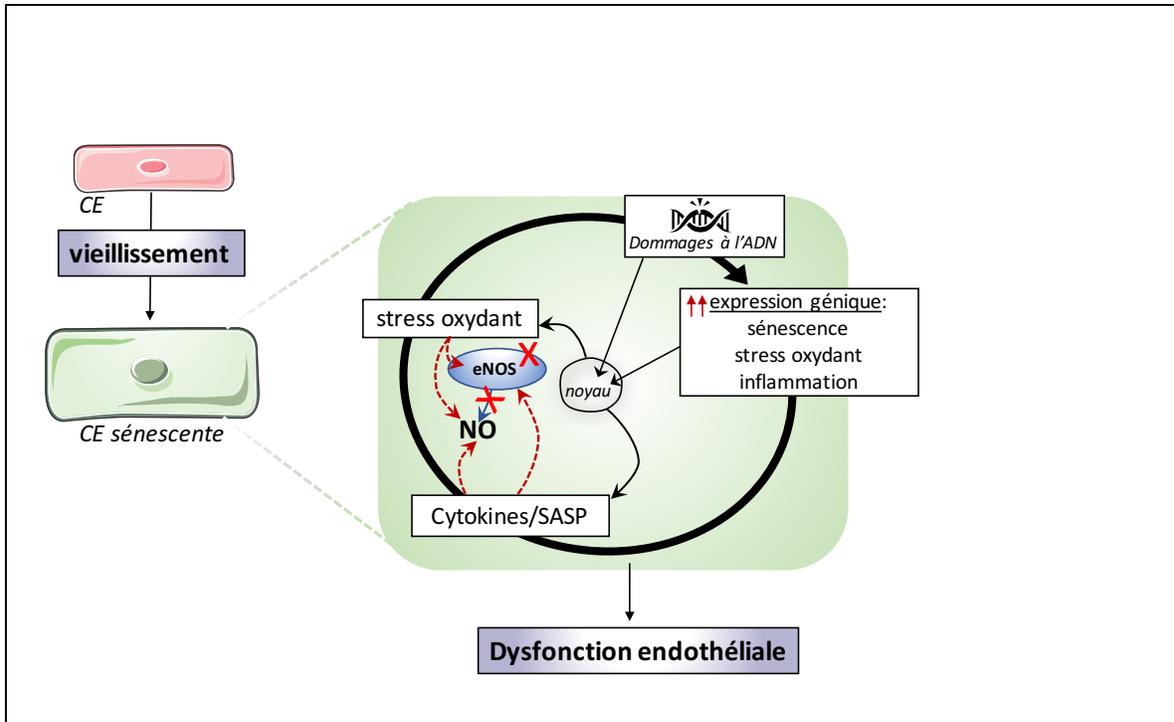


Figure 14 : Représentation du mécanisme du cercle vicieux menant à la dysfonction endothéliale au cours du vieillissement.

D'après (Donato et al 2015). Avec l'âge, les facteurs de stress cellulaire (notamment le stress oxydant), ainsi que et le raccourcissement des télomères entraînent des dommages à l'ADN double brin, ce qui induit la réponse aux dommages de l'ADN conduisant à l'activation de la transcription des gènes qui contribuent à la sénescence cellulaire, au stress oxydant et aux cytokines inflammatoires. Les cytokines et les ROS agissent de manière paracrine et s'exacerbent mutuellement pour altérer la fonction cellulaire endothéliale, dont la fonction de la eNOS (CE : cellule endothéliale, SASP : phénotype sécrétoire associé à la sénescence, NO: monoxyde d'azote, eNOS : enzyme synthase de monoxyde d'azote endothéliale).

La dysfonction endothéliale est ainsi un marqueur du vieillissement artériel (Bolduc et al 2013) résultant de plusieurs mécanismes. Bien que ces modifications cellulaires se développent au cours du vieillissement, elles sont néanmoins loin d'être totalement caractérisées comme étant « physiologiques » mais seraient plutôt considérées comme pathophysiologiques (Lakatta 2015). En effet, la dysfonction endothéliale a été d'une part rapportée comme étant prédictive d'événements

cardiovasculaires (Widlansky et al 2003) et d'autre part, l'ensemble des mécanismes associés au vieillissement (inflammation, sénescence, stress oxydant), favorisent l'émergence de pathologies vasculaires, dont l'athérosclérose (Lakatta 2015).

1.3.1.3 De la dysfonction endothéliale au développement de l'athérosclérose :

La vulnérabilité de l'endothélium au cours du vieillissement prédispose au développement de lésions athérosclérotiques (Davignon & Ganz 2004) (Figure 15). Comme précédemment décrit, le maintien de l'homéostasie vasculaire est accompli par un endothélium fonctionnel (Davignon & Ganz 2004). La dysfonction endothéliale observée au cours du vieillissement entraîne une vasoconstriction accrue, l'agrégation plaquettaire, la prolifération et la migration des CMLV, l'adhérence des leucocytes et l'augmentation du stress oxydant et de l'inflammation vasculaire (pour revue, (Davignon & Ganz 2004). L'ensemble de ces événements est l'étape initiale dans le développement de l'athérosclérose (Davignon & Ganz 2004). L'athérosclérose est un état pathologique chronique et progressif caractérisé par la formation de plaques majoritairement lipidiques (appelées athérome) à l'intérieur du vaisseau, pouvant entraîner la lésion de la paroi artérielle (sclérose) (Davignon & Ganz 2004). Tout d'abord, l'endothélium dysfonctionnel favorise la modification oxydative des transporteurs du cholestérol (Rubbo et al 2002), les lipoprotéines de basse densité (LDL), qui s'accumulent dans l'intima (Goldstein & Brown 2009) (Figure 15). En parallèle, l'endothélium dysfonctionnel exprime à sa surface des molécules d'adhésion attirant les leucocytes (dont les monocytes) circulants qui, par infiltration dans l'intima, se différencient en macrophages (Ley et al 2011). Notons qu'il a été démontré dans des aortes humaines qu'une augmentation de PP est un facteur important conditionnant l'infiltration de la paroi artérielle par les lipides (Kiefer et al 2005). Dans un premier temps, un certain nombre de macrophages se transforment en « cellules spumeuses » en captant les LDL oxydées et commencent à constituer un cœur lipidique (Ley et al 2011) (Figure 15). Les macrophages vont produire de nombreuses cytokines inflammatoires favorisant à nouveau l'adhésion et l'infiltration de nouveaux monocytes, ainsi que des métalloprotéinases ayant une

activité de dégradation de la MEC (Ley et al 2011), créant un environnement propice à la migration des CMLV (Vacek et al 2015) et la déstabilisation de la plaque (Vacek et al 2015). De plus, l'agrégation plaquettaire favorise le recrutement des monocytes (Ley et al 2011). Progressivement, la prolifération et la migration des CMLV (rendues également possible par les substances vasoconstrictives dérivées de l'endothélium dysfonctionnel (Davignon & Ganz 2004)) depuis la media vers l'intima viennent former une « chape fibromusculaire » qui isole le cœur lipidique de la lumière artérielle (Frostegard 2013) (Figure 15). La migration des CMLV et la formation des plaques athérosclérotiques entraîne un remodelage artériel caractérisé par une augmentation de l'épaisseur de l'intima (Lakatta 2000). La progression des plaques peut évoluer vers une sténose artérielle conduisant à une réduction du flux sanguin, ou encore vers une érosion ou un anévrisme de la plaque (Frostegard 2013). La majorité des plaques sont instables et leur rupture entraîne la formation d'un thrombus ayant des complications au niveau cardiaque (infarctus myocardique) ou cérébral (accident vasculaire cérébral (AVC)) (Frostegard 2013) (Figure 15). Notamment, 85% des AVC sont ischémiques à un caillot de sang formé suite à une rupture de plaque d'athérosclérose (Silva 2011).

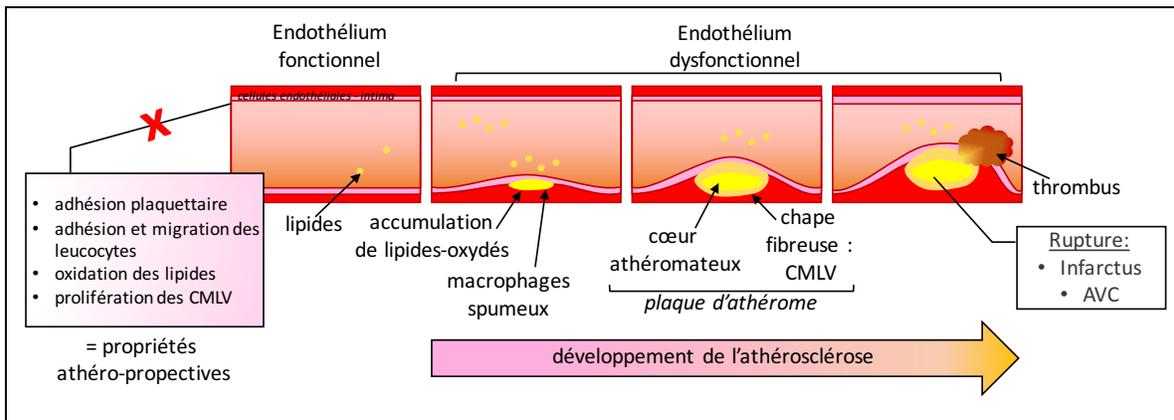


Figure 15 : Représentation du rôle de la dysfonction endothéliale dans le développement de l'athérosclérose.

Au cours du vieillissement, une défaillance dans le maintien du phénotype athéro-protecteur endothélial entraîne la formation de plaque d'athérome dans l'intima de la paroi vasculaire. La progression de l'athérosclérose peut entraîner des complications cardiaques et cérébrales lors de la rupture de la plaque et la formation d'un thrombus.

Le développement de l'athérosclérose joue un rôle important dans l'amplification de l'effet du vieillissement sur les changements structuraux vasculaires et hémodynamiques, notamment sur l'augmentation de la PP (pour revue, voir (Dart & Kingwell 2001)). Il a été démontré dans une étude épidémiologique que l'élévation de la PP chez des sujets atteints de maladie coronarienne était étroitement associée avec l'augmentation de la rigidité vasculaire aortique (Gatzka et al 1998). Il est connu qu'avec l'augmentation de la rigidité artérielle, une hausse de la PP au cours du vieillissement s'effectue, et il a été suggéré qu'il pourrait s'agir d'un événement déclencheur dans le développement de l'athérosclérose, notamment via la dysfonction endothéliale (Kiefer et al 2005). Néanmoins, il est aussi suggéré qu'il existe un cercle vicieux (représenté dans la figure 16) où l'athérosclérose induit davantage, et de façon répétitive, de dommages de la paroi artérielle, exacerbant la rigidité artérielle et la gravité des dommages mécaniques de la PP (Dart & Kingwell 2001) (Figure 19). Bien qu'il soit difficile d'identifier l'événement déclencheur initial, la littérature s'accorde sur le fait qu'une fois initiées, la progression de la pathologie athérosclérotique et l'augmentation de la PP entraînent potentiellement d'autres complications, leur présence étant prédictive d'événements cliniques cardiaques et cérébraux (O'Rourke & Safar 2005).

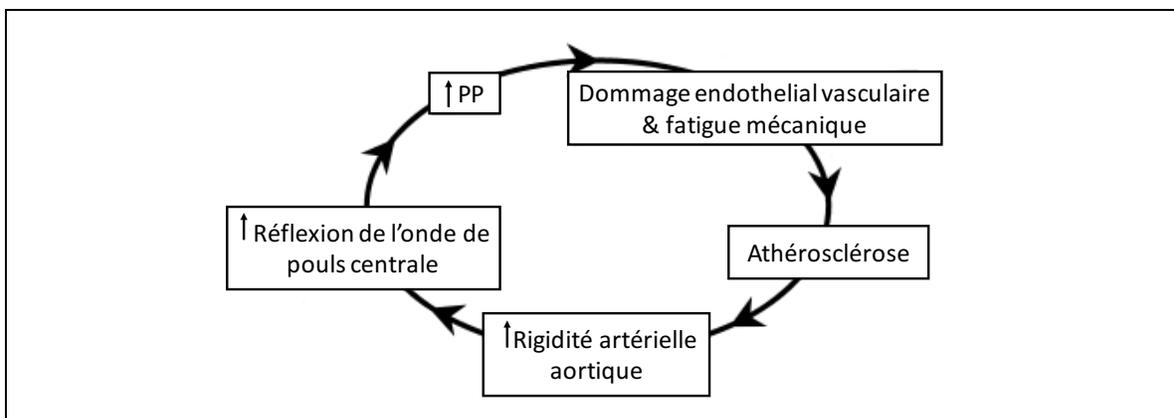


Figure 16 : Représentation schématique du concept de bidirectionnalité entre la pression pulsée et l'athérosclérose.

D'après (Dart & Kingwell 2001). L'élévation de la PP favorise les lésions vasculaires qui favorisent l'athérosclérose, se traduisant par une augmentation de la rigidité artérielle et une réflexion accrue de l'onde de pouls centrale amplifiant la PP (PP : pression pulsée).

1.3.2 Conséquences des changements artériels sur la fonction cardiovasculaire :

L'âge a un effet dévastateur marqué et progressif sur la capacité des artères à amortir la pression et le débit pendant la systole et à relâcher la pression et le débit vers les artères distales pendant la diastole (O'Rourke & Hashimoto 2007). Notamment, le remodelage artériel des artères élastiques lors du vieillissement, l'activité accrue du SNA (Hotta & Uchida 2010) et une fonction vasodilatatrice périphérique altérée (comme la dysfonction endothéliale) augmentent la résistance périphérique totale et donc la PAM chez les personnes âgées (Safar 1990, Tarumi & Zhang 2018), ainsi que la PAS et la PAD (tableau 1). De plus, la rigidité artérielle s'accompagne d'une augmentation de la PP et de l'onde de propagation de pouls (Nichols et al 2008). Entre 50 et 60 ans, la PAD se stabilise et décline par la suite, tandis que la PAS continue d'augmenter, ce qui résulte en une forte augmentation de la PP (tableau 1) (Franklin et al 1997). En conséquence, la post-charge cardiaque augmente, ainsi que la masse ventriculaire gauche (Gerstenblith et al 1977).

Tableau 1 : Changements hémodynamiques de la pression au cours du vieillissement

Age (années)	PAD	PAS	PAM	PP
30-49	↑	↑	↑	→ ou ↑
50-59	→	↑	→	↑↑
≥60	↓	↑	→ ou ↓	↑↑↑↑

D'après (Franklin 2006) (↑ : augmentation ; ↓ : diminution ; → : pas de changement ; PAD : pression artérielle diastolique; PAS : pression artérielle systolique; PAM : pression artérielle moyenne ; PP : pression pulsée.)

Autrefois seulement considérée comme un des processus physiologiques du vieillissement, cette augmentation spécifique de la PAS et de la PP, est désormais reconnue comme un problème de santé publique majeur dans le monde occidental (Franklin 2006) ; Défini sous le nom d'hypertension systolique isolée, cet état hémodynamique est le type d'hypertension le plus fréquent chez les personnes d'âge moyen et âgées (Franklin 2006). Il est en effet quasiment présent chez 90% des personnes de plus de 65 ans et est associé à l'incidence d'événements CV (Franklin 2006). La mesure

de la PP a été identifiée comme étant le facteur de prédiction des événements CV futurs le plus puissant chez les adultes d'âge moyen et plus âgés (Benetos et al 1997, Franklin et al 1999, Haider et al 2003). L'augmentation de la PP est ainsi un indice clinique de la rigidité artérielle et de la charge pulsatile sur l'arbre artériel. Une mesure de la rigidité artérielle peut être obtenue par mesure de la vitesse de la VOP qui est normalement <10 m/s chez un individu normotendu (Safar & Jankowski 2010). La vitesse à laquelle l'onde de pression artérielle se déplace le long de l'arbre artériel est mesurée par Doppler, généralement de la région carotidienne à l'artère fémorale (cfVOP) (Figure 17). Avec l'âge, dû à l'augmentation de l'onde de pouls et à la rigidité artérielle, l'amplification du retour de l'onde de pouls aortique augmente (Safar & Jankowski 2010), ce qui contribue également à augmenter la PAS aortique.

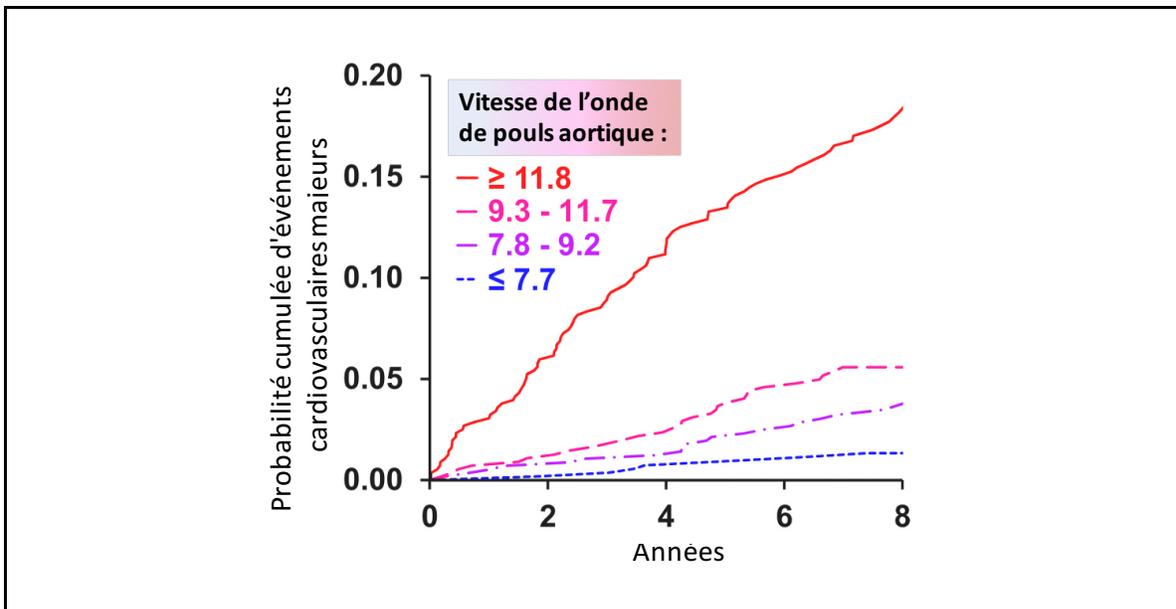


Figure 17 : Représentation de l'incidence d'événements cardiovasculaires dépendamment de la vitesse de l'onde de pouls (cohorte de l'étude Framingham n = 2232 participants).

D'après (Mitchell et al 2010). Les participants ont été regroupés par quartiles de VOP aortique et la probabilité de l'incidence cumulative estimée des événements cardiovasculaires majeurs augmente significativement dans le groupe ayant la VOP la plus haute (VOP : vitesse de l'onde de pouls).

1.3.3 Conséquences des changements artériels sur la fonction cérébrale : propagation de la pression pulsée dans la microcirculation au cours du vieillissement :

Nous avons décrit la répercussion du remodelage artériel des artères élastiques sur la fonction cardiovasculaire au cours du vieillissement ; des répercussions au niveau cérébral existent aussi. L'onde de PP se déplace depuis les grandes artères élastiques à faible impédance vers les artères plus petites et résistantes à haute impédance. Quand l'onde de pression qui se propage rencontre une résistance, une partie de l'énergie pulsatile accumulée dans l'onde est réfléchiée et n'est donc pas transmise aux artères distales (Mitchell et al 2011). Cependant, la perte de la fonction d'amortissement des artères élastiques au cours du vieillissement conduit à une réduction de l'onde réfléchiée et à une augmentation de l'onde de pression ; en conséquence, l'excès de l'énergie pulsatile est transmis aux artères périphériques (Mitchell et al 2004) (Figure 18). Les artères périphériques sont musculaires et plus rigides que les artères centrales et peuvent ainsi moduler le débit en fonction du diamètre de leur paroi et de la vasoconstriction des CMLV, tandis que les petites artérioles manquent de musculature et reçoivent normalement le sang avec une expansion pulsatile minimale et à une vitesse d'écoulement constante (Hughes et al 2015). Si les artères musculaires périphériques ne peuvent pas compenser l'augmentation de l'énergie pulsatile, celle-ci pénètre les artérioles fragiles à la fin de la microvascularisation (Hughes et al 2015). La preuve de la pénétration de la PP dans la vascularisation cérébrale a été apportée par la mesure de la pulsatilité du flux sanguin cérébral chez une population âgée en association avec une PP centrale élevée (Purkayastha et al 2014, Tarumi et al 2014). De plus, il a été démontré dans une autre étude comparant des personnes jeunes (n=45) et âgées (n=49), que le flux pulsatile qui atteint la circulation cérébrale distale augmentait avec l'âge (Zarrinkoob et al 2016) (les augmentations estimées de la pulsatilité cérébrale sont représentées dans la figure 18). Cependant, cette augmentation n'était pas corrélée avec une augmentation de la VOP chez les sujets âgés. Dans le contexte de la rigidité artérielle, il n'existe jusqu'à présent que des preuves indirectes d'une pénétration de la PP jusqu'aux artérioles et capillaires (pour revue, voir (Thorin-Trescases et al 2018)).

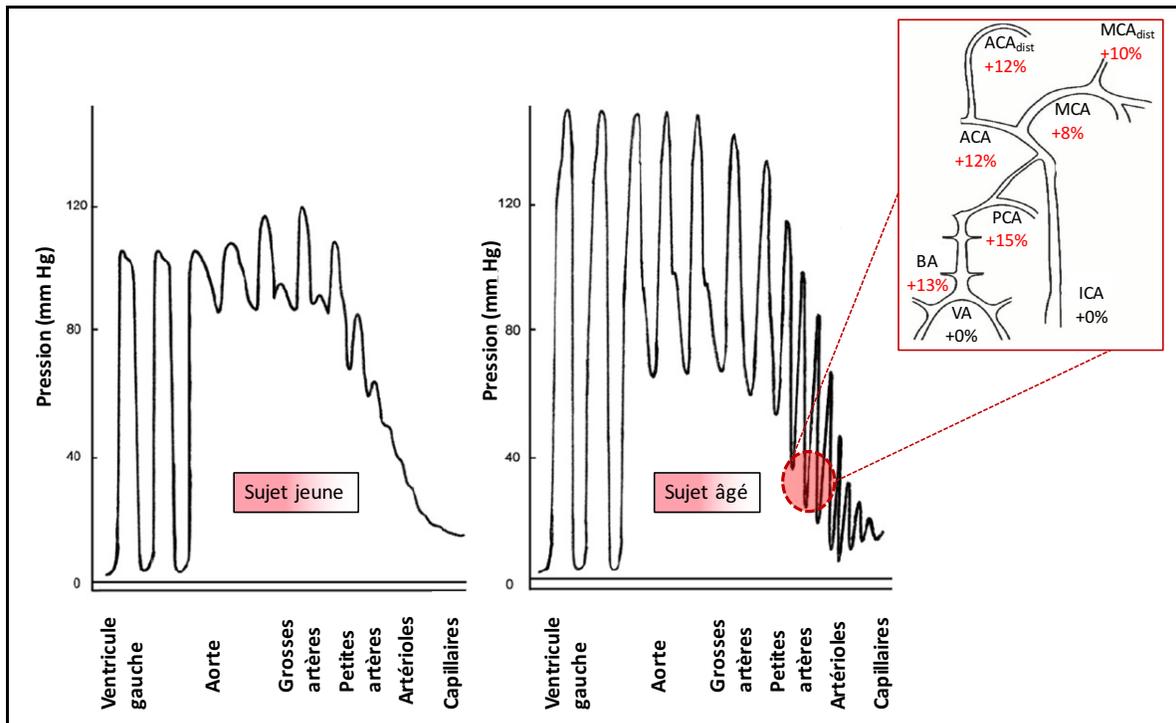


Figure 18 : Représentation schématique de l'évolution de l'amplitude de la pression pulsée au cours du vieillissement chez l'homme et son augmentation au niveau cérébral.

Adapté de (Cottart et al 2009) et de (Zarrinkoob et al 2016). Chez le sujet jeune (à gauche), la pression pulsatile depuis le ventricule gauche est absorbée au niveau des artères élastiques (aorte, grosses artères) et est donc diminuée lorsqu'elle atteint la microcirculation (artérioles et capillaires). Cependant, chez le sujet âgé (à droite) les pulsations ne sont plus absorbées dû à la rigidité artérielle des artères élastiques et la pression pulsatile atteint la circulation cérébrale distale, comme représenté par une augmentation de la pulsativité (%) dans certaines artères du cercle de Willis chez l'homme (VA : artère vertébrale, BA : artère basilaire, PCA : artère cérébrale postérieure, ICA : artère carotide interne, ACA : artère cérébrale antérieure, MCA : artère cérébrale moyenne).

L'augmentation de la PP au niveau cérébral peut s'expliquer d'après l'architecture anatomique de la vascularisation artérielle cérébrale, où la distribution progressive des gradients de pression se produit sur une distance vasculaire plus courte que celles des lits vasculaires systémiques (Avolio et al 2018). L'essentiel du contenu pulsatile n'est donc pas autant dissipé et les micro-vaisseaux cérébraux subissent un degré de pulsativité beaucoup plus élevé par rapport aux lits microcirculatoires du muscle squelettique, par exemple (Avolio et al 2018). D'autre part, de par leur structure anatomique fragile, les artères cérébrales sont plus sensibles aux élévations chroniques anormales de la PP

(Heistad 2001), les rendant ainsi vulnérables dans la prise en charge de cette augmentation de pulsatilité. De ce fait, dans la vasculature de personnes âgées, une diminution de l'amortissement de la PP des artères cérébrales a été rapportée (Zarrinkoob et al 2016) ainsi qu'une baisse des mécanismes myogéniques régulateurs de l'augmentation de la PA (détaillés dans la section 1.2.7 *Dysfonction des mécanismes impliqués dans la réactivité cérébrovasculaire*).

Ainsi, la propagation et l'exposition prolongée et anormale de la PP dans le système cérébrovasculaire est potentiellement dommageable au cerveau ; l'apparition de lésions microcérébrovasculaires a longtemps été supposée résulter de la pénétration de la PP dans la microcirculation cérébrale vulnérable des personnes âgées (pour revue, voir (O'Rourke & Safar 2005, Toth et al 2017)). Depuis, l'accumulation de preuves expérimentales a en effet rapporté l'impact délétère de l'augmentation de la PP centrale sur la détérioration des fonctions cérébrovasculaires. Tout d'abord, l'élévation de la PP influence la structure des vaisseaux cérébraux ; il a été démontré que l'augmentation de la PP s'accompagne d'une hypertrophie de la paroi cérébrovasculaire, comme démontré à la fois dans les artères piales chez le rat (Baumbach 1996) et chez l'homme (Baumbach 1996, James et al 1995). De plus, le remodelage microvasculaire associé à l'augmentation de la PP entraîne potentiellement une altération de l'appariement entre la demande métabolique et la perfusion locale (pour revue, voir (Mitchell 2008)). Expérimentalement, une pulsatilité excessive contribue à une perturbation de la perméabilité de la BHE comme démontré *in vitro* dans des cellules endothéliales cérébrales humaines en culture (Garcia-Polite et al 2017) et *in vivo* (Carnevale et al 2012b, Poulet et al 2006). L'augmentation de la PP centrale a également été associée chez l'homme à des anomalies de la structure de la matière blanche (Purkayastha et al 2014, Tarumi et al 2014). La présence de microhémorragies chez l'Homme est également associée au vieillissement, à l'hypertension et au déclin cognitif (Cooper et al 2016, Graff-Radford et al 2017).

Chez l'Homme, l'augmentation chronique de la PP est fortement prédictive du déclin cognitif et de l'incidence de la démence (pour revue, voir (Thorin-Trescases et al 2018, Waldstein et al 2008)) et cette association a aussi été démontrée

expérimentalement chez la souris (Carnevale et al 2012b). Notamment, les données issues de l'étude BALTIMORE ont révélé que les individus sans démence soumis à des tests cognitifs et ayant une PP plus élevée au cours du vieillissement et ceux ayant une PP plus haute à la base (PP calculée à partir de la PAS et PAD), ont réalisé les performances cognitives les moins bonnes (Waldstein et al 2008). Dans une autre étude réalisée chez des personnes âgées sans démence, des valeurs de PP augmentées (PP calculée à partir de la PAS et PAD) étaient également inversement corrélées aux scores cognitifs (Nation et al 2010). De plus, l'augmentation de PP est associée au développement de déficience cognitive légère, comme cela a pu être mesuré par la réalisation de tests de mémoire chez des patients hypertendus (PP calculée à partir des valeurs de PAS et PAD) (Yaneva-Sirakova et al 2012). Il a été rapporté qu'une PP élevée (PP calculée à partir de la PAS et PAD) était associée à un risque accru de maladie d'Alzheimer (MA) et de démence chez des personnes âgées (Qiu et al 2003). Chez des patients atteints de la MA une corrélation entre l'augmentation de la PP (mesurée à partir de la PAS et PAD) et de la rigidité artérielle aortique (mesurée par l'indice de rigidité) a été rapportée (Calik et al 2014), ce qui soutient que des modifications fonctionnelles du système artériel pourraient jouer un rôle dans la pathogenèse de la MA. Collectivement, les études suggèrent que l'augmentation de la PP, associée à des dommages microvasculaires, est prédictif de mauvaises performances cognitives et précipite le déclin cognitif. D'ailleurs, le terme « encéphalopathie pulsatile » est parfois utilisé pour décrire l'augmentation du flux pulsatile conduisant à des dommages microvasculaires dans le cerveau et impliqué dans les troubles cognitifs mais aussi dans la leucoaraïose, les infarctus lacunaires et l'hydrocéphalie à pression normale (Bateman 2002, Bateman 2004, Henry-Feugeas et al 2009, Zarrinkoob et al 2016). L'ensemble de ces études est ainsi à la base de « **l'hypothèse biomécanique** » **vasculaire** proposée par Maillard *et al.* (Maillard *et al* 2017), **selon laquelle le déclin cognitif est causé par le pouvoir destructif de la pression pulsée sur les vaisseaux cérébraux** (Figure 19).

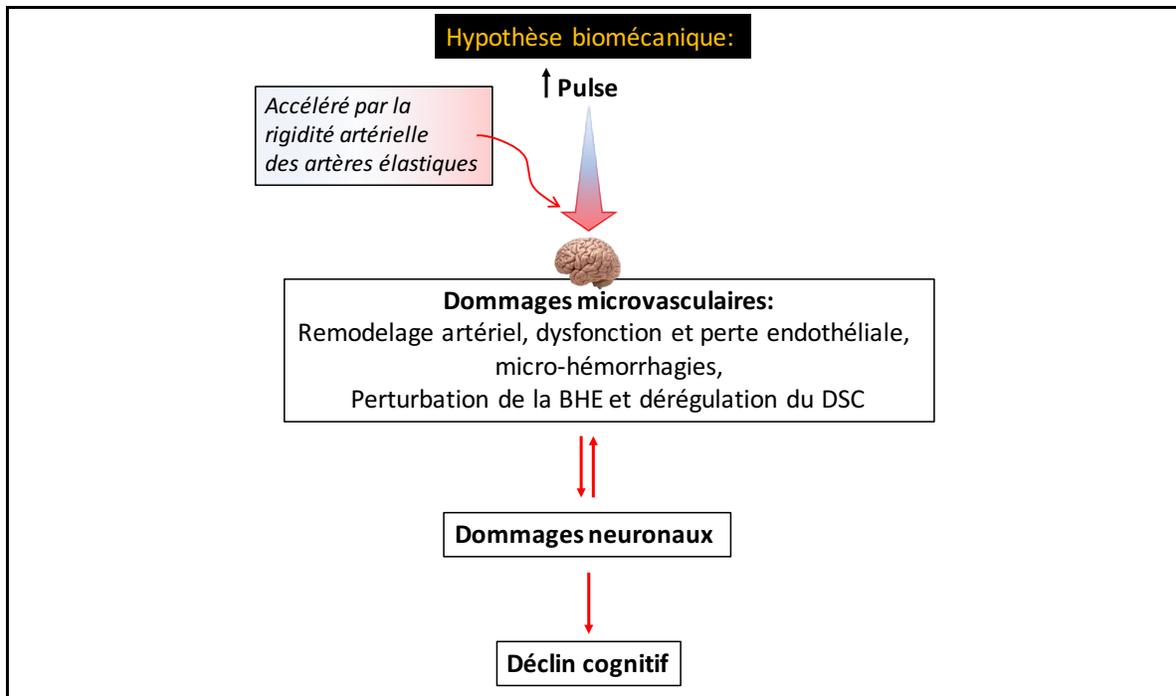


Figure 19 : Schématisation de l'hypothèse biomécanique conduisant au déclin cognitif au cours du vieillissement.

Adapté de (Stone et al 2015). L'augmentation centrale de la PP et sa propagation au niveau cérébral endommagent directement les microvaisseaux cérébraux, via un mécanisme biomécanique. Il en résulte un remodelage artériel cérébral, une dysfonction et une perte endothéliale cérébrale, induisant des micro-hémorragies, une perturbation de la BHE et une dérégulation du DSC. L'ensemble de ces altérations cérébrovasculaires induit des dommages neuronaux qui peuvent mutuellement exacerber la fragilité des microvaisseaux cérébraux. La rigidité artérielle liée à l'âge joue un rôle important sur l'accélération de l'effet destructeur de la PP au niveau cérébral (PP : pression pulsée, BHE : barrière hémato-encéphalique, DSC : débit sanguin cérébral).

1.3.4 Changements des artères cérébrales au cours du vieillissement :

Les artères du cerveau vieillissant sont également caractérisées par un déclin structurel et fonctionnel graduel. D'après l'hypothèse biomécanique énoncée ci-dessus, il est attendu que les changements structurels et fonctionnels découlent de l'impact de l'augmentation de la PP avec l'âge au niveau cérébral ; cependant, cette relation reste très peu mentionnée et documentée dans la littérature.

1.3.4.1 Changements structurels et fonctionnels des artères cérébrales

- Raréfaction des capillaires

Le vieillissement artériel cérébral est associé à des altérations morphologiques des capillaires. Notamment, la densité des capillaires diminue au cours du vieillissement, comme cela a pu être démontré dans des études chez le rat âgé ou chez l'Homme (pour revue, voir (Brown & Thore 2011)). D'autres anomalies vasculaires, telles que des dépôts de collagène péri-vasculaire également appelés fibrose microvasculaire, sont observées (Brown & Thore 2011). La membrane basale s'épaissit dû à une production accrue de collagène ou une diminution de la dégradation de ses composants (Brown & Thore 2011, Farkas & Luiten 2001). Les constituants de la membrane basale ainsi que les autres types des cellules vasculaires des capillaires cérébraux présentent des altérations. En effet, au cours du vieillissement la perte et l'allongement des cellules endothéliales des capillaires sont observés, ainsi qu'une diminution du nombre de mitochondries endothéliales (Farkas & Luiten 2001). Dans les péricytes, une dégénérescence cellulaire ou un élargissement des mitochondries a été observé (Farkas & Luiten 2001), ce dernier étant interprété comme l'activation de l'état phagocytaire de ces cellules qui possèdent des propriétés immunitaires (Thomas 1999). Avec l'âge, des dommages aux péricytes ou une différenciation via leur activation immunitaire peut résulter en une augmentation de la perméabilité de la BHE (Iadecola 2015) et de l'activation d'une réponse protectrice de l'intégrité vasculaire et neuronale (Farkas & Luiten 2001).

- Dysfonction des mécanismes impliqués dans la réactivité cérébrovasculaire

Tout d'abord, la réponse myogénique essentielle à l'autorégulation de la résistance vasculaire cérébrale est altérée avec le vieillissement. Ceci a notamment été démontré chez la souris par une mauvaise adaptation de la réponse myogénique lors d'une augmentation de PA dans la circulation cérébrale : lors d'une augmentation de pression aiguë, les artères cérébrales piales isolées de souris âgées (24 mois) ne présentent pas d'augmentation adaptative de la constriction myogénique (Toth et al 2013). Une altération dans les mécanismes contractiles des CMLV semblerait contribuer

à la réduction de la réactivité myogénique, comme démontré dans la même étude ; chez des souris âgées, où l'activation de la signalisation calcique par les canaux TRP et l'effet constricteur du 20-HETE sont déficients (Toth et al 2013). L'hypérémie fonctionnelle (induite par stimulation des vibrisses de l'animal) est altérée chez des souris âgées (12- et 24-mois, comparativement à des souris de 3 mois) (Park et al 2007), ce qui démontre également d'une diminution de la fonctionnalité des mécanismes vasculaires au cours du vieillissement. De plus, le dysfonctionnement endothélial qui s'aggrave à mesure que le vieillissement progresse et qui est observé au niveau périphérique, se produit également au niveau des artères cérébrales, comme cela a pu être démontré directement chez l'Homme ou dans des modèles animaux (pour revue, voir (De Silva et al 2018)). Notamment, une diminution des réponses vasodilatatrices dépendantes de l'endothélium se produit dans les artères piales chez des rats âgés de 22 à 24 mois (Mayhan et al 1990). Il a été démontré dans des artères carotides isolées de porc que la présence de PP (comparativement à une condition statique) augmente la production de ROS particulièrement dans l'endothélium et est associée à une diminution de la bio-disponibilité de la eNOS (Thacher et al 2010).

En accord avec cette étude, il a été démontré au niveau cérébral, *ex vivo* chez des jeunes souris (âgées de 3 mois), que l'application d'une amplitude de PP dépassant des valeurs physiologiques de pression intramurale diminue la réponse vasodilatatrice dépendante de l'endothélium des artères piales (Raignault et al 2017). De plus, il a été démontré *ex vivo* chez des souris âgées (24 mois) que seule l'application de PP (mais pas statique) diminue significativement la constriction myogénique des artères piales (notamment via une diminution de l'expression génique des CCDV) en réponse à des augmentations de pression (Springo et al 2015). Collectivement, ces deux études suggèrent que la présence de PP au niveau des artères piales cérébrales est directement responsable de l'altération de l'adaptation myogénique. La résistance cérébrale étant ainsi diminuée, ces données suggèrent que la perte de la protection cérébrovasculaire assurée par les artères piales de résistance permet à la PP de pénétrer dans la partie distale de la microcirculation cérébrale.

- **Perturbations du maintien de la barrière-hémato-encéphalique**

L'altération de l'intégrité des différentes cellules vasculaires au niveau des capillaires perturbe la fonction de la BHE (Iadecola 2015). L'altération de la BHE se manifeste par une extravasation des protéines du plasma, telles que l'albumine ou le fibrinogène, détectée qualitativement dans certaines régions du cerveau (Zlokovic 2008). Néanmoins, les études restent controversées et en l'absence de maladies neurologiques, les fuites de la BHE restent minimales au cours du vieillissement (pour revue, voir (Shah & Mooradian 1997)). De plus, en raison du manque de méthodes appropriées pour évaluer *in vivo* l'intégrité quantitative et régionale de la BHE dans le cerveau humain, la démonstration de perturbations de la BHE reste difficile. Le groupe de Montagne *et al.* (Montagne *et al* 2015) a néanmoins apporté, par imagerie à résonance magnétique (IRM) dynamique améliorée par contraste, la preuve la plus directe chez l'Homme à ce jour, d'une perturbation de la BHE limitée à l'hippocampe au cours du vieillissement. Une démonstration plus récente d'une perméabilité de la BHE spécifiquement au niveau de l'hippocampe et du gyrus parahippocampal, chez des individus présentant des troubles cognitifs précoces comparativement à des individus cognitivement normaux, a également été rapportée par IRM dynamique améliorée par contraste (Nation *et al* 2019). Conjointement à l'étude de Montagne *et al*, cela suggère que la rupture de la BHE, débute dans l'hippocampe. De plus, les dommages vasculaires ont pu être quantifiés dans le LCR par la mesure du biomarqueur de péricytes associés à la BHE (Nation *et al* 2019). Cette dernière étude stipule que les dommages vasculaires devraient être considérés comme un événement clé dans l'initiation de l'incidence du déclin cognitif, étant donné qu'ils ne sont pas encore associés à une réponse gliale inflammatoire et neurodégénérative (Nation *et al* 2019). La fonctionnalité des transporteurs de la BHE démontre un déclin plus évident avec l'âge : le transport du glucose et l'absorption des acides aminés via la BHE sont réduits (pour revue, voir (Shah & Mooradian 1997)). Cette réduction en transporteurs peut d'ailleurs témoigner d'un dysfonctionnement des protéines de transport elles-mêmes, d'une conséquence du changement structurel de la membrane basale ou d'une diminution avec l'âge de la demande du tissu neuronal en nutriments

(Farkas & Luiten 2001). De plus, il a été démontré expérimentalement dans deux études chez la souris, que l'augmentation de la PP *in vivo* pendant 1 et 6 semaines respectivement, augmentait la perméabilité de la BHE (Carnevale et al 2012b, Poulet et al 2006), mettant ainsi en avant le rôle délétère de la PP sur l'intégrité vasculaire.

- **Diminution du débit sanguin cérébral**

De façon fonctionnelle, le DSC ainsi que les taux métaboliques de glucose et d'oxygène diminuent significativement avec l'âge chez l'Homme (Farkas & Luiten 2001, Krejza et al 1999, Martin et al 1991). En raison de la baisse des mécanismes vasodilatateurs, la réduction du DSC avec l'âge reflète probablement un déplacement de la capacité vasorégulatrice vers des réponses plus vasoconstrictrices (Farkas & Luiten 2001). De plus, le niveau de perfusion cérébrale plus faible chez les personnes âgées peut être lié à l'altération de l'innervation neuronale périvasculaire qui se produit avec l'âge (Farkas & Luiten 2001). En conséquence, le déclin parallèle des taux des métabolites au cours du vieillissement, représentatif d'un métabolisme et d'une activité cérébrale inférieurs, peut être soit la cause, soit la conséquence de la baisse du DSC (Farkas & Luiten 2001). De façon additionnelle, la raréfaction du nombre de capillaires qui se produit au cours du vieillissement contribue à la diminution de la perfusion cérébrale (Farkas & Luiten 2001). L'ensemble des altérations au niveau de la BHE contribue également à diminution de la perfusion cérébrale (Montagne et al 2017). La diminution du DSC est également associée chez l'Homme avec le déclin du volume cérébral avec l'âge (décrit plus bas, dans la section 1.3.4.2.1 suivante) (Zonneveld et al 2015). Chez l'Homme, il a été démontré de façon très complète que la diminution du DSC avec l'âge était significativement associée à l'augmentation de la rigidité artérielle et à l'augmentation de la pulsatilité cérébrale (Tarumi et al 2014). Cette étude renforce le rôle que joue le vieillissement dans les changements structurels et hémodynamiques centraux, notamment sur l'augmentation de la PP centrale et son impact subséquent au niveau cérébral.

1.3.4.2 Autres changements structurels, fonctionnels et moléculaires dans le cerveau au cours du vieillissement :

- Atrophie cérébrale

Avec l'âge, la taille du cerveau diminue (Harada et al 2013) et ce processus d'atrophie cérébrale se déroule sur une période de plusieurs années. L'atrophie du cerveau peut être mesurée par imagerie cérébrale structurelle à rayons X et par IRM (Fotuhi et al 2009). Toutes les régions du cerveau ne développent pas une atrophie égale au cours du vieillissement, mais la matière grise et la matière blanche sont affectées (pour revue, voir (Murman 2015)). Le cerveau est en effet divisé en matière grise et en matière blanche (termes définis d'après l'apparence du cerveau à l'autopsie (Murman 2015)). La matière grise détermine les régions des cortex cérébelleux et noyaux sous-corticaux ayant pour prédominance des corps cellulaires et dendrites. La matière blanche se réfère à des régions ayant une abondance d'axones myélinisés et qui relient les structures de la matière grise. La perte de volume dans la matière grise est la plus importante dans le cortex préfrontal ; les lobes temporaux, en particulier le lobe temporal médial qui contient l'hippocampe, ont des baisses modérées de leur volume (Murman 2015). Dans la matière blanche, les plus grandes pertes de volume sont visibles dans le lobe frontal et le corps calleux (Murman 2015). De façon intéressante, une analyse de l'étude « Framingham Heart Study » (cohorte de 1903 participants, sans occurrence d'AVC ou de maladies neurologiques) a rapporté que l'augmentation de la rigidité artérielle (mesurée par l'augmentation de la cfVOP) était associée de façon significative avec la perte de volume de la matière grise (Maillard et al 2016). De façon similaire, dans une autre étude longitudinale (cohorte de 454 participants), une PP basale plus élevée était associée à un volume cérébral plus petit et était prédictif de l'atrophie de l'hippocampe (Nation et al 2016).

- Altération neuronale et perte synaptique

La perte de volume du cerveau n'est pas majoritairement due à une perte neuronale. La perte de neurones au cours du vieillissement normal ne représente pas plus

de 10% et est limitée à seulement certaines régions spécifiques du système nerveux (Murman 2015); elle est la plus notable dans les régions corticales du cortex préfrontal latéral dorsal et de l'hippocampe, ainsi que dans les régions sous-corticales de la matière grise et du cervelet (Murman 2015). Plutôt qu'une mort neuronale, les neurones subissent des changements structurels au cours du vieillissement (Murman 2015). Plus particulièrement, c'est au niveau de pré- et post-synaptiques, que s'effectuent les altérations structurelles ; une diminution ou une augmentation du nombre de terminaisons axonales avec démyélinisation segmentale ou perte synaptique (pour revue, voir (Murman 2015)) sont observées, ainsi qu'une diminution du nombre et de la longueur des dendrites ou encore une perte des épines dendritiques. Ces changements synaptiques endommagent le fonctionnement des réseaux neuronaux et les performances cognitives associées (Morrison & Baxter 2012). À ce jour, il n'existe pas de démonstration de la relation entre une augmentation de PP au cours du vieillissement et une altération synaptique. Néanmoins, il a été démontré chez la souris hypertendue (par infusion d'Ang II) que, dans l'hippocampe, l'hypertension altère la plasticité synaptique, réduit la densité synaptique et favorise la dérégulation des gènes impliqués dans la fonction synaptique, imitant le phénotype du vieillissement (Tucsek et al 2017).

- **Déclin des fonctions cognitives**

Les altérations de la connectivité synaptique sont considérées comme un marqueur clé dans le processus du vieillissement du système nerveux, étant donné qu'elles sont en corrélation avec l'apparition des troubles cognitifs (Morrison & Baxter 2012). L'être humain expérimente en effet au cours du vieillissement une réduction de ses capacités cognitives spécifiques telles que la vitesse mentale, la fonction exécutive et la mémoire épisodique, tandis que les capacités verbales et les connaissances acquises restent généralement maintenues (Fjell et al 2014). Comme déjà décrit, il existe un consensus général selon lequel une augmentation de la rigidité artérielle et de la PP avec l'âge sont prédictifs de mauvaises performances cognitives chez l'Homme, notamment avec une diminution des fonctions exécutives et une vitesse plus rapide du déclin cognitif

(Hanon et al 2005, McDade et al 2016, Pase et al 2010, Waldstein et al 2008) et pour revue, voir (Thorin-Trescases et al 2018)). Il a été suggéré qu'il existait chez l'Homme un seuil critique de perte synaptique du néocortex estimé d'au moins 40% ; au-delà de ce seuil, des défaillances fonctionnelles spécifiques apparaissent et une démence symptomatique devient alors mesurable (pour revue, voir (Murman 2015)). La survenue des déficits cliniques peut cependant être influencée par la réserve cognitive cérébrale. Le concept de réserve cognitive cérébrale représente la variabilité individuelle qui existe de façon naturelle en termes de densité synaptique corticale et qui s'exprime par une susceptibilité différentielle aux facteurs perturbant la performance cognitive (Stern 2003). Il n'existe donc pas de relation directe entre la gravité du facteur (lésions cérébrales ou degré de pathologie) et le degré de déficit fonctionnel et perturbation de la performance cognitive associée. La variabilité individuelle en réserve cognitive peut résulter de différences congénitales ou génétiques, ou d'expériences de vie, telles que l'éducation, l'expérience professionnelle ou les loisirs (Murman 2015). Une personne présentant une faible réserve cognitive franchirait le seuil des 40% de perte synaptique plus tôt dans sa vie et développerait ainsi des signes et symptômes de démence prématurément. De façon contraire, un style de vie favorisant la réserve cognitive ralentit le taux de perte synaptique corticale, permettant de retarder le dépassement du seuil synaptique de 40% (Murman 2015). Cette réserve synaptique influence ainsi le processus de déclin cognitif au cours du vieillissement et la susceptibilité aux maladies neurodégénératives : une réserve cognitive plus élevée est considérée comme un facteur de protection, alors qu'une réserve cognitive plus faible conférerait une vulnérabilité (Stern 2003).

- **Déclin dans la production des neurotransmetteurs**

Une diminution de la production de neurotransmetteurs, et en particulier celle de la dopamine (Backman et al 2010), a été corrélée grâce aux études d'imagerie moléculaires avec les déficits cognitifs liés à l'âge, notamment l'altération de la mémoire épisodique et de travail (Li & Rieckmann 2014). Ce déclin de production de

neurotransmetteurs au cours du vieillissement n'a cependant jamais été étudié en intégrant la rigidité artérielle (ni l'augmentation de la PP) comme co-variable.

- **Vulnérabilité du cerveau à l'inflammation, au stress oxydant et à la sénescence**

Comme presque tous les tissus vieillissants de l'organisme, le cerveau se caractérise lui aussi au cours du vieillissement par une inflammation de faible intensité (Chung et al 2009). Ce phénomène inflammatoire est d'ailleurs appelé «*inflammaging*» (ou dans le cerveau «*neuro-inflammaging*») (Franceschi et al 2007). Cette inflammation est considérée d'une part, comme chronique car la réponse est faible mais perdure sur le temps et se perpétue elle-même (Nathan & Ding 2010), et d'autre part, comme une inflammation «stérile» parce qu'elle se produit en l'absence d'un agent pathogène évident ou d'un corps étranger (Chinta et al 2015). Dans le cerveau vieillissant, les changements observés et décrits plus hauts, tel que la diminution de certaines populations neuronales, la diminution des marqueurs présynaptiques, des synapses et du volume cortical, ont tous été associés avec l'inflammation chronique (Chinta et al 2015). Les cellules gliales prolifératives (astrocytes, oligodendrocytes et microglies) seraient une source importante de *neuro-inflammaging* dans le cerveau vieillissant, notamment en raison de la production chronique de facteurs pro-inflammatoires, y compris les ROS et les cytokines, telles que l'interleukine-1 β (IL-1 β) et IL-6, dont la production est accrue au cours du vieillissement cérébral (Bachstetter et al 2011). De plus, due à sa forte activité métabolique, le tissu neuronal est inévitablement une grande source de ROS (Belanger & Magistretti 2009). Cependant, le cerveau est anormalement sensible au stress oxydant : il contient un niveau élevé d'acides gras insaturés qui sont une cible privilégiée à la peroxydation et aux modifications oxydatives par les radicaux libres (Uttara et al 2009). De plus, par rapport à d'autres tissus, le cerveau n'est d'une part, pas particulièrement enrichi en défenses anti-oxydantes et d'autre part, cette faible surveillance oxydante diminue avec l'âge (Uttara et al 2009). Les cellules gliales et les neurones, qui sont des cellules post-mitotiques, sont par conséquent particulièrement vulnérables aux radicaux libres conduisant à des dommages de l'ADN (Gilgun-Sherki et al 2001) et la production de

ROS par les cellules gliales peut répercuter ses effets néfastes sur les neurones voisins (Chinta et al 2015). L'accumulation excessive de ROS peut ainsi mener jusqu'à l'apoptose des cellules neuronales, notamment via une dérégulation des voies de signalisation du Ca^{2+} initiées physiologiquement par les ROS (Ermak & Davies 2002): l'afflux de Ca^{2+} conduit à la libération du glutamate dont l'accumulation induit une toxicité (appelée excitotoxicité) envers les neurones du système nerveux central (Uttara et al 2009). La dysfonction mitochondriale qui semblerait survenir au cours du vieillissement, entraîne également une élévation des ROS et des dommages cellulaires, notamment via la toxicité de la relâche du fer mitochondrial (Urrutia et al 2014) et son accumulation dans le cerveau (Yankner et al 2008). D'autre part, l'immunosurveillance qui diminue avec l'âge également au niveau cérébral, entraîne une vulnérabilité cérébrale en défense anti-inflammatoires (Chung et al 2009). De plus, il existe d'autres sources potentielles de ROS dans le cerveau au niveau vasculaire, notamment la xanthine oxydase, les enzymes mitochondriales et les enzymes impliquées dans la synthèse du NO ou le métabolisme de l'AA (pour revues, voir (Cai & Harrison 2000, Faraci 2006)). Chez la souris âgée, un traitement au resvératrol (anti-oxydant) rétablit les réponses de couplage neurovasculaire, probablement en restaurant la fonction endothéliale cérébrovasculaire via une régulation négative de la production de ROS dérivées de la NADPH-oxydase (Toth et al 2014). Il est ainsi suggéré que la dysfonction de la fonction cérébrovasculaire induite par le vieillissement serait due au stress oxydant chronique (pour revue, voir (Faraci 2006)) en induisant l'inflammation, en altérant la perméabilité vasculaire ou encore la structure vasculaire (Faraci 2006). De plus, il a été démontré dans des études *in vitro*, qu'une pulsatilité excessive contribue à la production de stress oxydant dans la microcirculation cérébrale (pour revue, voir (Lehoux 2006)). Chez la souris, il a été démontré qu'une augmentation de PP (par augmentation de la rigidité artérielle par calcification des carotides) était associée avec une augmentation de la production d' $O_2^{\bullet-}$ (mesurée par l'activité de la NADPH-oxydase) dans l'hippocampe (Sadekova et al 2013), menant notamment à une réponse inflammatoire (Sadekova et al 2018). Ces résultats ont été confirmés dans une autre étude, où l'augmentation de PP

(par chirurgie de constriction transverse aortique (TAC)) était associée à une augmentation de l'inflammation cérébrale et du stress oxydant. Le stress oxydant influence notamment la formation des AGEs circulants, modulant à leur tour un récepteur localisé au niveau de la BHE dont l'activation détériore la fonction cognitive (Carnevale et al 2012b). Finalement, une autre source d'inflammation cérébrale pourrait provenir de la perturbation de l'intégrité de la BHE liée à l'âge, entraînant l'afflux de facteurs inflammatoires périphériques pouvant alors contribuer à la perte ultérieure de cellules neuronales (Franceschi et al 2007, Zlokovic 2008). La source potentielle de ce *neuroinflammaging* et de la production de stress oxydant accrue pourrait provenir, tout comme nous l'avons décrit au niveau vasculaire, des SASP pro-inflammatoires majoritairement sécrétées par les cellules gliales sénescentes (pour revue, voir (Chinta et al 2015)), qui sont détectables dans le cerveau chez l'Homme et pourraient perturber l'homéostasie métabolique et ionique et les contacts cellule-cellule nécessaires à l'interaction neuronale-gliale structurelle et fonctionnelle (Chinta et al 2015). Malgré l'état différencié des neurones, une étude a rapporté des marqueurs de sénescence dans des neurones du cerveau vieillissant chez la souris (Jurk et al 2012). Il est très fortement suggéré que la présence de cellules sénescentes dans le cerveau pourrait constituer un lien entre le vieillissement et des processus pathologiques comme le développement de maladies neurodégénératives telles que la MA (pour revue, voir (Boccardi et al 2015, Chinta et al 2015)).

En résumé, l'ensemble de la vascularisation, qu'elle soit centrale, périphérique ou cérébrale, ainsi que les cellules vasculaires, neuronales et gliales, sont sujets au cours du vieillissement à un processus de sénescence cellulaire, s'accompagnant d'une augmentation du stress oxydant et d'une inflammation accrue, entraînant des modifications structurelles et fonctionnelles. L'ensemble de ces altérations qui s'effectuent de l'échelon moléculaire à tissulaire prédispose le cerveau vieillissant à une altération de son homéostasie conduisant progressivement à une déficience cognitive. L'ensemble des modifications dans le processus du vieillissement cérébral peut en effet

converger vers une démence, comme la MA (Yankner et al 2008) ou la démence vasculaire. La perte de mémoire liée au vieillissement « normal » se distinguera de la perte de mémoire pathologique par la vitesse et le degré de dégradation du déclin cognitif (Yankner et al 2008). D'autre part, les modifications structurelles et fonctionnelles que subit la vascularisation centrale au cours du vieillissement ont un impact au niveau cérébral (notamment via la propagation de la PP). La fonction optimale de la vascularisation centrale est donc intimement liée avec l'homéostasie cérébrale. Il est clair que la dysfonction cérébrale avec l'âge associée au déclin cognitif peut être accélérée en présence de facteurs de risque des maladies cardiovasculaires, qui comme nous allons le voir, sont néfastes à la vasculature.

1.3.5 Contribution des facteurs de risque cardiovasculaires dans la dysfonction cérébrale associée au déclin cognitif au cours du vieillissement

Le cerveau expérimente au cours du vieillissement des changements multiformes: changement structurel (remodelage vasculaire et atrophie cérébrale), fonctionnel (diminution de la fonction endothéliale, de la réactivité cérébrovasculaire, du tonus myogénique, du couplage neurovasculaire et de la connectivité neuronale), hémodynamique (diminution du DSC), neurogène (réduction des neurotransmetteurs) et métabolique (diminution du glucose et du métabolisme de l'O₂) (pour revue (Thorin-Trescases et al 2018)). Ces changements s'accompagnent avec des degrés variables de déficits cognitifs. De ce fait, l'âge représente en lui-même le plus grand facteur de risque dans l'incidence du déclin cognitif (Murman 2015, Yankner et al 2008). Cependant avec l'âge, l'exposition aux facteurs de risque CV augmente (Felix-Redondo et al 2013). Il a ainsi été démontré que les individus présentant dès la quarantaine des facteurs de risque des maladies CV comme l'hypertension, l'obésité ou le diabète, augmentent alors leur probabilité de développer une démence tardive (Fotuhi et al 2009) ou un taux de déclin cognitif plus rapide (O'Donnell et al 2012). En association avec l'âge, il est suggéré que les facteurs de risque des MCV, causent des dommages cumulatifs au niveau cérébrovasculaire et entraîne ou révèle un déclin cognitif prématuré.

L'hypertension est le facteur de risque des MCV le plus répandu chez les personnes âgées, affectant près de 50% de la population humaine mondiale à partir de la cinquantaine, d'après l'Organisation mondiale de la Santé. Parmi les conséquences de l'hypertension chez l'Homme, les AVC sont les plus invalidants et sont une cause majeure de déficience cognitive (Faraco & Iadecola 2013). D'après l'étude épidémiologique ROTTERDAM SCAN, l'hypertension est le principal facteur de risque pour le développement de microhémorragies cérébrales chez les personnes âgées (Poels et al 2011). Notamment, il est suggéré que l'altération de l'adaptation fonctionnelle des artères cérébrales avec l'âge exacerbe la fréquence des microhémorragies cérébrales en présence d'hypertension (pour revue, voir (Toth et al 2017)). La présence d'hypertension favorise la raréfaction des microvaisseaux cérébraux, comme démontré dans un modèle animal (Tarantini et al 2016, Toth et al 2015) et induit un effet synergique avec l'âge, comme démontré par une perte microvasculaire cérébrale considérablement exacerbée chez la souris (Toth et al 2015). L'hypertension est également associée à une diminution de la réactivité cérébrovasculaire chez des individus hypertendus, comme démontré par une diminution de la vasodilatation cérébrale (Ficzere et al 1997). De plus, chez les personnes souffrant d'hypertension, mais aussi de diabète et d'obésité, une atrophie de la matière blanche et grise, particulièrement au niveau de l'hippocampe a été mesurée (Fotuhi et al 2009).

Le diabète, particulièrement le diabète de type 2 qui est la forme la plus fréquente, affecte 10% de la population âgée (Corriere et al 2013) et est lié à des complications macro- et micro-vasculaires (Chen et al 2016). Les personnes atteintes de diabète de type 2 sont plus susceptibles de souffrir d'obésité, de maladies artérielles périphériques, d'athérosclérose et d'accident vasculaire cérébral, comparativement à la population normale (Chen et al 2016). La présence de diabète est en effet un facteur de risque bien établi d'accident vasculaire cérébral (Chen et al 2016, Saczynski et al 2009), dont certains des mécanismes sous-jacents seraient associés au niveau périphérique, à une rigidité artérielle accrue, une inflammation et un dysfonctionnement de l'endothélium cérébral (Chen et al 2016). D'ailleurs, chez des sujets présentant des

facteurs de risque vasculaires, la dysfonction endothéliale cérébrale se développe de manière prématurée (Cai & Harrison 2000) et, de façon importante, il a été démontré que la dysfonction est de plus grande ampleur dans le cerveau qu'au niveau de la périphérie (pour revue, voir (Faraci 2011)). La présence d'une dysfonction endothéliale à la fois périphérique et cérébrale a été bien décrite dans les modèles animaux d'hypertension, de diabète et d'hyperhomocystéinémie (pour revue, voir (Faraci 2011)). De plus, une diminution du DSC a été rapportée chez des sujets diabétiques (Cui et al 2017). Dans des modèles animaux, il a également été démontré que la présence d'hyperglycémie est associée à une altération fonctionnelle et structurelle de la BHE et à un stress oxydatif dans les microvaisseaux cérébraux (pour revue (Prasad et al 2014)). Une atrophie de certaines régions du cerveau (hippocampe, amygdale, lobe temporal) a été rapportée chez des patients diabétiques ((Saczynski et al 2009) et pour revue, voir (Moheet et al 2015)). Aussi, il a été démontré chez l'Homme que le diabète était prédictif d'un déclin cognitif (Moheet et al 2015), dont l'incidence serait notamment liée à sa durée et à la qualité du contrôle glycémique (Kalmijn et al 1995).

L'athérosclérose, qui peut se développer au cours du vieillissement et qui prédispose au développement de MCV, est également fortement corrélée chez l'Homme avec une altération des fonctions cognitives (van Exel et al 2002). Il est suggéré que les mécanismes sous-jacents de la déficience cognitive soient majoritairement de nature vasculaire. Notamment, la présence de lésions athérosclérotiques au niveau carotidien chez l'Homme, est associée à une réduction de la perfusion cérébrale globale et pourrait induire le dysfonctionnement cognitif (Balestrini et al 2013). Des travaux chez la souris dyslipidémique et spontanément athérosclérotique (souris $LDLr^{-/-}$; $hAPOB^{+/+}_{100}$) ont en effet démontré que le développement de l'athérosclérose au cours du vieillissement endommage la circulation cérébrale ; il a été démontré dans notre laboratoire que la diminution significative avec l'âge de la dysfonction endothéliale périphérique (artères rénales et aortique) (Gendron et al 2010) est associée à une dysfonction endothéliale cérébrale, ainsi qu'à une diminution du couplage neurovasculaire (altération du mécanisme d'hyperémie fonctionnelle) et d'un déficit cognitif (Drouin et al 2011a).

D'ailleurs, un traitement avec la catéchine (anti-oxydant) chez la souris LDLr^{-/-};hAPOB^{+/+}₁₀₀ diminue les niveaux de stress oxydant et est associé avec un rétablissement des altérations vasculaires énumérées ci-dessus et (Drouin et al 2011a). De plus, il a été démontré à la fois que l'exposition chronique à des antécédents de facteurs de risque des MCV (athérosclérose) et à des facteurs de risque des MCV (dyslipidémie, diabète et hypertension), accélèrent le développement de la sénescence endothéliale sur une culture de cellules endothéliales isolées des artères mammaires de patients atteints de coronaropathie (Voghel et al 2007). Il est ainsi spéculé que les facteurs de risques pour les MCV et l'athérosclérose promeuvent la sénescence cellulaire, contribuant ainsi de façon cyclique à l'aggravation fonctionnelle et métabolique des tissus vasculaires et cérébraux (pour revue, voir (Palmer et al 2015)). D'ailleurs, le développement de plaques d'athéroscléroses chez l'homme au niveau aortique et carotidien, est prédicteur de lésions de la matière blanche chez les personnes âgées (de Leeuw et al 2000) et a été associé à une atrophie du cerveau (atrophie globale, corticale et subcorticale), respectivement (Muller et al 2011). De plus, parmi les facteurs environnementaux associés au vieillissement et prédisposant à l'athérosclérose, l'hyperlipidémie est très prévalente (Felix-Redondo et al 2013). En effet, chez les personnes âgées, environ 40% d'entre elles sont caractérisées mondialement par la présence de taux de lipides excessivement élevés (Felix-Redondo et al 2013). De façon importante, il a été rapporté que parmi les patients participant à des essais cliniques, 60% d'entre eux présentent des taux élevés de lipides sanguins, y compris de cholestérol ((Menet et al 2018). L'hyperlipidémie est ainsi associée à un haut risque d'accident vasculaire cérébral athérotrombotique (Amarenco 2001) mais il faut souligner, qu'indépendamment des sténoses athérosclérotiques, les effets néfastes de l'hyperlipidémie sont principalement liés à un dysfonctionnement vasculaire périphérique et cérébral. Notamment, il a été démontré dans des modèles murins transgéniques, que l'hyperlipidémie altère les fonctions endothéliales et des CMLV au niveau périphérique et cérébral (Bonthonu et al 1997). De plus, il a été démontré dans les modèles murins d'hyperlipidémie, que l'hyperlipidémie exacerbe les dommages ischémiques par un dommage aux cellules

endothéliales, une augmentation du stress oxydant, de l'inflammation et de la perte neuronale (Ayata et al 2013, Cao et al 2015).

Finalement, de façon intéressante, il a collectivement été rapporté qu'en présence de ces facteurs de risques CV énoncés plus haut, il existait une corrélation significative entre le déclin des fonctions cognitives et des marqueurs vasculaire du vieillissement tels que l'augmentation de la PP, la rigidité artérielle, la sensibilité des barorécepteurs, la dysfonction endothéliale et l'augmentation de l'épaisseur intima-carotidienne (pour revue, voir (Avolio et al 2018)). La rigidité artérielle de l'artère carotide a en effet été associée à une diminution des performances cognitives chez des individus diabétiques (Geijselaers et al 2016). Dans une autre étude chez l'Homme, il a été rapporté que l'élévation de la PP était la plus marquée en présence de diabète et d'athérosclérose (McEniery et al 2008). De même, l'augmentation de la rigidité de la paroi aortique, qui est observée au cours du vieillissement chez l'Homme, est accélérée en présence d'hypertension, de diabète, d'obésité, d'hypercholestérolémie/ dyslipidémie) (Mitchell et al 2007).

Collectivement, la littérature démontre que l'exposition à des facteurs de risque CV avec l'âge, endommage la vascularisation périphérique et cérébrale et est associé à un déclin cognitif prématuré. Plus globalement, comme cela est schématisé dans la figure 20, l'ensemble de ces données suggère que les modifications vasculaires participant à l'augmentation de l'amplitude de la PP, ont un impact délétère sur la fonction de la vascularisation cérébrale et sur le maintien ds fonctions cognitives.

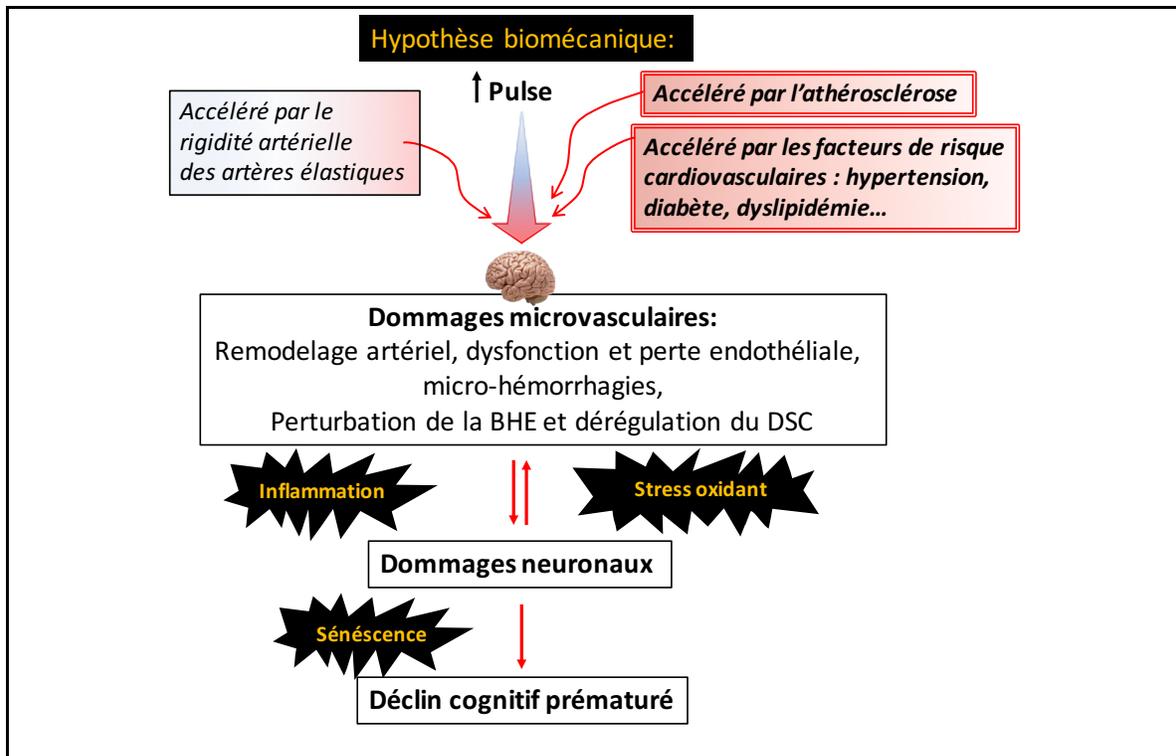


Figure 20 : Schématisation de l'hypothèse biomécanique conduisant au déclin cognitif au cours du vieillissement, en association avec des facteurs de risque vasculaires.

Adapté de (Stone et al 2015). Les facteurs de risque des maladies CV et l'athérosclérose amplifient l'effet destructeur de la PP au niveau cérébral, à la fois en amplifiant la rigidité artérielle et en amplifiant ainsi la propagation de la PP au niveau cérébral. L'augmentation centrale de la PP et sa propagation au niveau cérébral endommagent directement les microvaisseaux cérébraux via un mécanisme biomécanique. Il en résulte un remodelage artériel, une dysfonction endothéliale cérébrale, induisant des micro-hémorragies, une perturbation de la BHE et une dérégulation du DSC. L'ensemble de ces altérations cérébrovasculaires induit des dommages neuronaux qui peuvent mutuellement exacerber la fragilité des microvaisseaux cérébraux. (PP : pression pulsée, BHE : barrière hémato-encéphalique, DSC : débit sanguin cérébral).

En résumé, au cours du vieillissement, la combinaison de facteurs de risque CV accélèrent la formation d'anomalies cérébrovasculaires via l'effet destructeur de la propagation de la PP, rendant le cerveau vulnérable dans le maintien de ses fonctions cognitives. **Les facteurs de risque vasculaires** augmentent donc les dommages que subit le cerveau au cours du vieillissement, et ils **révèlent** la susceptibilité pour un individu de développer des troubles cognitifs légers pouvant évoluer vers un état pathologique, comme une condition de démence vasculaire ou de la MA.

1.4 La démence : la démence vasculaire et la maladie d'Alzheimer

1.4.1 Définition de la démence

La démence est un terme général qui désigne un déclin de la capacité cognitive, suffisamment important pour qu'il puisse entraîner une perte d'autonomie des activités de la vie quotidienne. La démence affecte environ 7% de la population générale âgée de plus de 65 ans et 30% des personnes âgées de plus de 80 ans (O'Brien et al 2003). La MA est le type de démence le plus courant chez les personnes âgées de 65 ans et plus, suivi de la démence vasculaire (Plassman et al 2007).

1.4.2 La maladie d'Alzheimer

Le vieillissement étant associé au déclin cognitif, les sujets âgés peuvent démontrer des signes de déficience cognitive sans encore atteindre le seuil de démence. Cette atteinte a été qualifiée de «déficience cognitive légère» (*mild cognitive impairment*, ou déficience cognitive légère (MCI)) (Lopez 2013). Ces patients ont un risque accru de développer une démence, en particulier la MA. Cette dernière est considérée comme une maladie neurodégénérative, résultant d'une perte neuronale et synaptique (Terry 2000), commençant par de légers déficits de mémoire et évoluant progressivement vers une déficience invalidante des fonctions cognitives, y compris celles de la mémoire, la compréhension, le langage, l'attention, le raisonnement et le jugement (Murman 2015). Ce processus prend cependant plusieurs dizaines d'années à s'établir avant que des symptômes de la maladie n'apparaissent (Kelley & Petersen 2007).

1.4.2.1 Caractérisation histopathologique de la maladie d'Alzheimer

De façon histopathologique, la MA est caractérisée par deux types de lésions (Figure 21): par (1) l'accumulation des plaques amyloïdes extraneuronales et dans la paroi des vaisseaux sanguins (appelée angiopathie amyloïde cérébrale (CAA)), ainsi que par (2) la formation de dégénérescences neurofibrillaires (DNF), qui correspondent à l'agrégation intraneuronale de la protéine tau anormalement phosphorylée (Brion 2006).

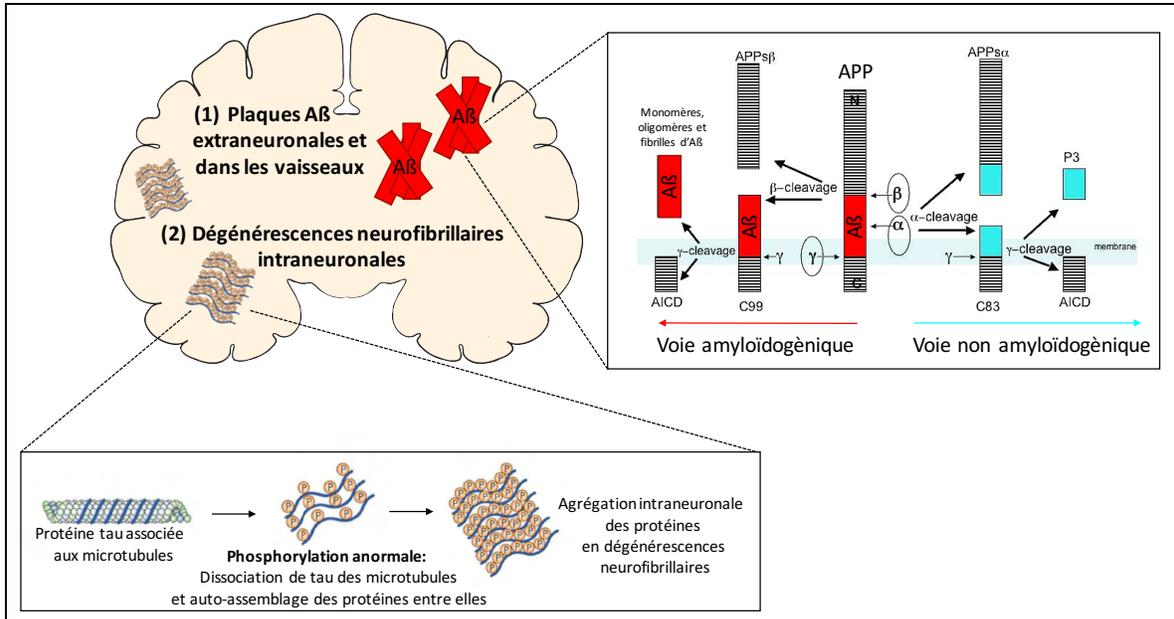


Figure 21 : Lésions cérébrales caractéristiques de la maladie d'Alzheimer.

La MA est caractérisée histopathologiquement par la présence dans le cerveau de deux types de lésions, qui sont respectivement (1) l'accumulation des plaques A β extraneuronales et dans la paroi des vaisseaux sanguins cérébraux et (2) la formation de dégénérescences neurofibrillaires qui correspondent à l'agrégation intraneuronale de la protéine tau anormalement phosphorylée. Les plaques A β sont constituées du peptide A β qui est un fragment de 39-42 acides aminés provenant de la voie amyloïdogénique depuis le clivage de la protéine APP qui est son précurseur (MA : maladie d'Alzheimer, A β : amyloïde-béta, APP : protéine précurseur de l'amyloïde, AICD : APP IntraCellular Domain).

Le peptide A β , qui est le principal constituant des plaques amyloïdes (Selkoe 1991), est un fragment de 42 acides aminés, tandis que le peptide amyloïde retrouvé au niveau vasculaire est principalement constitué de fragment de 40 acides aminés (Tokuda et al 2000). Les peptides A β sont dérivés de la protéolyse de la protéine précurseur de l'amyloïde (APP) qui peut subir deux voies de maturation (Figure 21). Le clivage de l'APP est régulé par les enzymes protéolytiques alpha (comme la protéine *A disintegrin and metalloproteinase* (ADAM)), beta (comme la bêta-sécrétase 1 (BACE1)) et gamma sécrétase (comme la présénilline 1 (PSEN1) et 2 (PSEN2)) (O'Brien & Wong 2011) (Figure 21). La voie non amyloïdogénique est initiée par le clivage d'une α -sécrétase dans le domaine cytosolique de l'APP et conduit à la libération d'un fragment correspondant au domaine extracellulaire soluble de l'APP (APPs α) (O'Brien et al 2003), qui semblerait être impliqué dans la croissance des neurites et avoir un effet neuroprotecteur (Baratchi et al 2012). Le fragment C-terminal de l'APP (APP-CTF α ou C83) peut être à son tour clivé par

la γ -sécrétase, aboutissant à la formation d'un fragment AICD (APP *IntraCellular Domain*), et du peptide p3 (O'Brien & Wong 2011). La voie amyloïdogénique est initiée par l'action de la β -sécrétase qui clive la partie cytosolique de l'APP, libérant un fragment soluble APPs β et un fragment APP-CTF β (ou C99) membranaire. Par la suite, la γ -sécrétase clive le fragment APP-CTF β , générant les peptides A β et les fragments AICD (O'Brien & Wong 2011). De grandes quantités d'APP sont continuellement métabolisées en A β dans le cerveau (Bateman et al 2006). Plusieurs domaines de l'APP, y compris l'extrémité C-terminale, sont nécessaires au bon fonctionnement du système nerveux, notamment dans la fonction synaptique (Klevanski et al 2015). En condition saine physiologique, la voie non amyloïdogénique représente 90% de la protéolyse de l'APP ((Kametani & Hasegawa 2018). La transition vers la voie amyloïdogénique dans la pathogénèse de la MA pourrait provenir d'une altération du clivage de l'APP. Une acétylation excessive du gène de l' α -sécrétase liée à l'âge pourrait en effet diminuer l'activité de l' α -sécrétase et ainsi diminuer la voie non amyloïdogénique de l'APP (O'Brien & Wong 2011) et/ou une augmentation de l'activité de BACE1, comme cela a été mesuré dans le tissu cérébral chez des patients de la MA, pourrait augmenter l'activité protéolytique de type amyloïdogénique (Holsinger et al 2002). D'ailleurs, l'augmentation de l'activité de BACE1 observée pourrait être induite par un stress oxydant accru en condition ischémique, comme cela a été à la fois démontré *in vitro* dans une lignée cellulaire humaine de neuroblastomes et *in vivo* chez des rats ischémiques (Guglielmotto et al 2009). Néanmoins, l'augmentation du métabolisme de l'APP augmenterait la formation du peptide A β , favorisant notamment la production de l'A β ₄₂ qui, étant plus hydrophobique, s'agrège plus facilement en plaques séniles (Selkoe 2001). L'accumulation de l'A β dans le cerveau entraîne l'activation de la réponse immunitaire innée des cellules microgliales (Boccardi et al 2015) qui se regroupent autour des dépôts A β , comme cela a été démontré dans des modèles animaux de la MA, comme le modèle APP/PS1 (Radde et al 2006). La réponse immunitaire constitue un stimulus inflammatoire chronique ayant une activité neurotoxique élevée (O'Brien & Wong 2011).

La protéine tau (*tubulin associated unit*) appartient à la famille des MAP (*microtubule-associated protein*) et est une protéine associée aux microtubules (Figure 21) favorisant leur polymérisation et leur stabilité, et participe ainsi au transport axonal et à la plasticité synaptique (Buee et al 2000). L'interaction de la protéine tau avec les microtubules est régulée par phosphorylation, par l'action d'un grand nombre de kinases (Buee et al 2000). Une hyperphosphorylation de la protéine ou sur des sites de phosphorylation anormaux diminue son affinité pour les microtubules, ce qui entraîne leur déstabilisation et une désorganisation du cytosquelette. De plus, ceci conduit à l'auto-assemblage et l'agrégation intraneuronale de la protéine en filaments, connus sous le nom de dégénérescence fibrillaire dans la MA (Buee et al 2000) (Figure 21). L'hyperphosphorylation et l'agrégation de la protéine tau est également retrouvée dans d'autres démences neurodégénératives (comme la démence fronto-temporale, la maladie de Pick), regroupées sous le terme de tauopathies (Buee et al 2000) et causant également des démences (Kametani & Hasegawa 2018).

Il faut noter que ces deux lésions peuvent également être retrouvées dans les cerveaux d'individus cognitivement normaux ; elles sont observées à l'autopsie chez 25% des personnes âgées non démentes (Schneider et al 2007). Cette variabilité interindividuelle suggère qu'une multitude de facteurs peuvent être impliqués dans la progression des déficits cognitifs dans la MA. Bien qu'il soit alors possible que les plaques et DNT ne soient pas causaux dans la pathogenèse de la MA, ces deux dépôts anormaux de protéines définissent néanmoins la MA comme une maladie neurodégénérative (Jack et al 2018).

1.4.2.2 Causes et contribution des facteurs de risque vasculaires dans la MA

Des formes familiales autosomiques dominantes rares (environ 0,3 % des cas) de la MA existent et se manifestent plus précocement. Chez ces individus, des anomalies génétiques, par exemple des mutations sur le gène *APP* ou dans les gènes encodant pour les acteurs du métabolisme de l'APP comme ceux des préséniline 1 *PSEN1* et préséniline 2 *PSEN2*, conduisent soit à une surexpression du peptide A β , soit à la formation de la forme A β 42 qui est moins soluble, plus agrégante et caractérisée par une toxicité

neuronale plus importante (O'Brien & Wong 2011). L'APP a donc un rôle déterminant dans les formes familiales de la MA. Dans la majorité des cas, il n'existe pas de cause génétique de la maladie et en ce qui concerne l'incidence de ces formes sporadiques, l'étiologie est encore inconnue. Plusieurs facteurs de risque modifiables et non modifiables ont néanmoins été associés avec l'incidence de la MA et plus d'une 20^{aine} ont depuis été proposés (pour revue, (de la Torre 2004b)), et les 3 plus importants facteurs de risque vasculaire ayant été rapportés sont l'hypertension, les maladies cardiaques et l'athérosclérose (de la Torre 2004b).

Parmi les facteurs de risque non modifiables, le vieillissement reste le facteur de risque le plus important (Murman 2015). La présence de l'allèle $\epsilon 4$ du gène de l'apolipoprotéine E (APOE) a également été identifiée comme un contributeur majeur à la pathogenèse de la MA, dans environ 20% des cas (O'Brien & Wong 2011). L'APOE est une apolipoprotéine prédominante du complexe des lipides de hautes densités (HDL) dans le cerveau, dont l'expression est située dans les cellules gliales et semblerait ainsi jouer des rôles physiologiques comme la synaptogénèse (pour revue, voir (Kim et al 2009)). L'APOE existe sous trois principaux isoformes chez l'homme (APOE E2, E3 et E4) (Kim et al 2009) qui sont des produits de trois allèles situés sur le même locus génique (Zannis & Breslow 1981). La littérature recense surtout des données sur l'isoforme E4 et son rôle dans le développement de la MA, et notamment sa capacité à lier le peptide A β , comme cela a pu être démontré *in vivo* et *in vitro* (pour revue, voir (Kim et al 2009)). La présence de l'allèle APOE $\epsilon 4$ est ainsi fortement associée à une augmentation des dépôts de A β dans le cerveau, comme cela a été démontré dans des cerveaux autopsiés de patients de la MA porteurs de l'allèle $\epsilon 4$ (Tiraboschi et al 2004). De plus, l'expression de gènes humains APOE chez des souris transgéniques de la MA porteuses d'une mutation APP (souris APPV717F) a montré que la présence de l'isoforme E2 et E3 diminue les dépôts de l'A β *in vivo*, alors que la présence de l'isoforme E4 l'augmente (Holtzman et al 1999). Comparativement aux individus sans allèles $\epsilon 4$, le risque accru de MA semblerait être de 2 à 3 fois plus élevé chez les individus ayant un allèle $\epsilon 4$ et environ de 12 fois plus élevé chez ceux ayant deux allèles $\epsilon 4$ (Kim et al 2009).

Parmi les facteurs de risque modifiables, il est maintenant bien reconnu que les facteurs de risque vasculaires, comme l'hypertension, le diabète, l'hypercholestérolémie et l'obésité sont significativement impliqués dans la pathogenèse de la MA (Barnes & Yaffe 2011, de la Torre 2004b). Les résultats des données épidémiologiques, notamment avec la cohorte de l'étude *Rotterdam* (Breteler 2000) et de l'étude *Kungsholmen* (Aguero-Torres et al 2006)), ont permis de recenser l'ensemble des facteurs de risque de la MA (pour revues, voir (de la Torre 2004b, Henderson 1988, Santos et al 2017)). De façon intéressante, ils ont tous une composante vasculaire (de la Torre 2004b) et altèrent ou réduisent la perfusion cérébrale (de la Torre 2004b). De plus, ces facteurs de risque de la MA sont présents au début de la maladie, mais également des décennies avant que les symptômes cliniques n'apparaissent (de la Torre 2004b). Il a ainsi été rapporté qu'environ 5% des cas de la MA sont potentiellement liés à l'hypertension (Barnes & Yaffe, 2011). Le rôle délétère de l'hypertension dans la progression de la MA a particulièrement été étudié dans des modèles expérimentaux d'hypertension chronique et aiguë (Carnevale et al 2012b, Cifuentes et al 2015, Faraco et al 2016, Gentile et al 2009) et chez l'Homme (pour revue, (Qiu et al 2005)). Notamment, d'après les analyses histopathologiques de l'étude Honolulu-Asia Aging, il a été démontré que les individus ayant développé une hypertension dès la quarantaine, présentaient un plus grand nombre de plaques amyloïdes au niveau de l'hippocampe, des DNFs et une atrophie plus précoce (Petrovitch et al 2000). Il a aussi été démontré chez l'Homme, que les taux plasmatiques de l'A β commencent à augmenter 15 ans avant le diagnostic de la MA, et que cette association était accrue chez les individus hypertendus (Shah et al 2012), suggérant que l'hypertension artérielle peut interférer avec le système vasculaire et la clairance de l'A β (Shah et al 2012). L'incidence de la MA est en effet fortement associée avec une PAS et une PP augmentées (pour revue, voir (Gupta & Bodakhe 2013, Hughes et al 2015)). De même, chez l'animal une augmentation des dépôts de A β a expérimentalement été observée dans un modèle murin de PAS élevée (Gentile et al 2009).

Sur une base d'observations communes (études épidémiologiques et éléments physiopathologiques), il est suggéré que l'athérosclérose et la MA seraient des

pathologies convergentes (pour revue, voir (Casserly & Topol 2004)). L'âge avancé représente le facteur de risque dominant pour les deux pathologies ; l'inflammation cérébrale est présente dans les deux cas et il est aussi avancé qu'une dérégulation de l'homéostasie du cholestérol (à la base du développement de l'athérosclérose) pourrait également jouer un rôle important dans la pathogénèse de la MA (pour revue, voir (Casserly & Topol 2004)). L'athérosclérose étant en effet un processus se développant sur plusieurs décennies et se manifestant dans de nombreux cas par des artères sténosées ou thrombosées, il est supposé que le flux sanguin occlusif vers le cerveau pourrait être un événement initiant l'hypoperfusion et qui précéderait de plusieurs années les symptômes de démence (de la Torre 2004b). Les facteurs de risque vasculaires présents chez l'homme pourraient agir de façon synergique avec les peptides A β dans la progression du déclin cognitif (Rabin et al 2018).

De plus, les lésions athérosclérotiques peuvent se développer au niveau cérébral et il a été suggéré que l'athérosclérose cérébrale pouvait entraîner le développement d'une « démence athérosclérotique » dont la cause est justement une augmentation de la PP cérébrale due à une dysfonction de l'effet Windkessel central (pour revue, voir (Henry Feugeas et al 2005)). De façon intéressante, une PP élevée est fortement corrélée à un risque accru de la MA et de démence chez des personnes âgées, indépendamment d'hypertension et d'AVC (Qiu et al 2003). Il a aussi été rapporté qu'une PP élevée chez l'homme augmente l'accumulation de l'A β et la phosphorylation de tau dans le parenchyme cérébral (Nation et al 2013). Néanmoins, aucune étude chez l'animal n'a étudié le lien entre l'augmentation spécifique de la PP et l'incidence ou la progression de la pathogénèse de la MA.

Finalement, on peut également recenser les antécédents familiaux de démence, les traumatismes crâniens, les maladies cérébrales, la dépression ou encore le tabagisme (pour revue, voir (de la Torre 2004b)) comme facteurs de risque de la MA. Au contraire, de façon protectrice, l'enrichissement intellectuel comme l'enseignement supérieur, et l'exercice régulier aérobie sembleraient réduire le risque de la MA (Murman 2015) ; cela

a notamment été démontré chez des souris transgéniques de la MA (souris Tg2576) où l'exercice volontaire pendant 16 semaines a induit la stimulation des processus synaptiques et des facteurs de croissance et l'augmentation du volume hippocampique (Yuede et al 2009). Ceci est en accord avec les recherches effectuées chez l'Homme démontrant que la stimulation intellectuelle (Verghese et al 2006) et l'activité physique (Rovio et al 2005) (et pour revue, (Camandola & Mattson 2017)) sembleraient être protecteurs contre la démence.

1.4.2.3 Hypothèses de la pathogenèse de la MA

Dans les années 1900, il était pensé que la MA était principalement causée par le «durcissement des artères» (démence artérioscléreuse) et les facteurs vasculaires étaient considérés comme des acteurs majeurs pathologiques (pour revue, (Iadecola 2013)). Alois Alzheimer, dans l'un de ses premiers articles, avait effectivement fait remarquer que la présence de lésions cérébrovasculaires dans les tissus post-mortem pourrait contribuer à la formation de plaques séniles et d'enchevêtrements neurofibrillaires présents dans le cerveau du patient atteint de MA (Alzheimer A. 1907). Huit décennies plus tard, le peptide A β a été identifié comme le principal constituant des plaques amyloïdes et vasculaires (Glennner & Wong 1984) et les mutations du gène de l'APP ont été identifiées dans les formes familiales de la MA (Bertram & Tanzi 2008), ce qui a massivement concentré les recherches scientifiques du XX^{ème} siècle autour de « l'hypothèse amyloïde ».

- L'hypothèse amyloïde

Selon « l'hypothèse amyloïde », le dépôt et l'accumulation du peptide A β dans le cerveau sont la cause principale du processus neurodégénératif (Hardy & Higgins 1992, Selkoe 1991). Cette hypothèse est devenue, au cours du temps, un dogme où toute anomalie autour du métabolisme de l'APP conduit à l'accumulation du peptide A β (Selkoe 1991). En conséquence de la déposition du peptide A β s'ensuit l'agrégation de tau en dégénérescence fibrillaire, la mort neuronale, une neuroinflammation, des dommages vasculaires et les déficits cognitifs entraînant la démence (Hardy & Higgins 1992). D'après

cette hypothèse, le processus pathologique impliquant la formation des DNF est donc initié par le déséquilibre entre la production et la clairance de l'A β (Figure 22). L'accumulation du peptide A β est toxique et conduit à une dérégulation de l'homéostasie cellulaire en activant de façon anarchique un certain nombre de kinases, conduisant à la phosphorylation anormale de tau et à son agrégation (Buee et al 2000). Afin d'étudier la pathogenèse de la MA et notamment l'hypothèse amyloïde, un certain nombre de modèles de souris génétiquement modifiés ont été produits (dont quelques-uns sont présentés dans le tableau 2), menant au dépôt de l'A β dans le cerveau. Néanmoins, bien qu'il y ait présence de plaques séniles dans le parenchyme de ces souris, ni l'accumulation de tau sous forme de DNF, ni la mort neuronale ne sont observées chez ces souris, ou alors de façon très tardive (pour références, voir le tableau 2). Ceci a alors suggéré que l'accumulation extracellulaire de l'A β n'est pas intrinsèquement cytotoxique et que l'A β n'induit pas l'accumulation de tau (Kametani & Hasegawa 2018). L'hypothèse amyloïde a donc évolué vers la proposition que les oligomères solubles A β_{40} et A β_{42} et non leur formes fibrilles amyloïdes insolubles ou monomères qui s'accumulent en plaques séniles, représentaient la forme la plus toxique et seraient ainsi la cause du dysfonctionnement synaptique dans la MA (Selkoe 2002). La perte importante de synapses expliquerait alors la perte neuronale (Small et al 2001). Un autre concept a également émergé, d'après lequel les plaques amyloïdes seraient un mécanisme de défense permettant de séquestrer les niveaux excessifs et nocifs de peptides A β solubles et de les inactiver sous forme de structure fibrillaire (Roher et al 2009). En parallèle des nombreuses recherches en faveur de l'hypothèse amyloïde, l'existence de plusieurs tauopathies humaines menant à la démence supporte le rôle important de la protéine tau dans la pathogenèse de la MA (pour revue, voir (Teich & Arancio 2012)). D'ailleurs, l'apparition chronologique des DNF (du cortex entorhinal jusqu'à une propagation dans le reste du cortex) corrèle très bien avec l'apparition des symptômes cliniques de la MA (Buee & Delacourte 2006). La répartition topographique et hiérarchique des DNF dans le cerveau est à la base de l'appellation des stades « Braak » (stades allant de I à VI,) de la maladie (Braak & Braak 1991). Une topologie comparable dans la hiérarchie des dépôts du peptide

A β (stades A, B et C) a aussi été proposée mais n'est pas aussi universellement acceptée (Braak & Braak 1991). De plus, l'état anormal de la protéine tau serait stimulée par le dysfonctionnement de l'APP (pour revue, voir (Kametani & Hasegawa 2018), conduisant alors à la propagation des DNF à l'ensemble du cerveau (Buee et al 2000).

Malgré une compréhension incomplète du rôle respectif de l'A β et de tau, ainsi que de leur interaction mutuelle, leur caractérisation histopathologique de la MA étant elle bien établie, a permis au développement de méthodes de diagnostic de la MA. Utilisés en recherche, les biomarqueurs de diagnostic sont ainsi regroupés selon trois groupes basés soit sur la mesure du peptide A β , de la pathologie de tau ou de la neurodégénérescence. L'imagerie par tomographie par émission de positrons (PET) permet ainsi la détection *in vivo* des dépôts A β dans le parenchyme cérébral, chez des individus symptomatiques ou non (Thal et al 2015) ainsi que la détection de tau (Saint-Aubert et al 2017) par l'utilisation de ligands radioactifs spécifiques. Cependant, l'imagerie TEP est coûteuse et confère une charge radioactive pour le patient. La mesure de l'A β 42 (ou le rapport A β 42/A β 40) (Blennow et al 2015) ainsi que de tau phosphorylé (Jack et al 2018) dans le LCR est un indicateur pathologique d'une accumulation anormale des protéines (Jack et al 2018). Il est à noter que la mesure de neurodégénérescence ou de lésion neuronale, qui est couramment utilisée dans la recherche sur la MA, notamment par IRM n'est pas spécifique à la MA mais est plutôt identifié comme étant des dommages non spécifiques de dommages pouvant découler de diverses étiologies, notamment de lésions cérébrovasculaires (Wirth et al 2013).

De plus, l'hypothèse amyloïde étant largement acceptée dans la communauté scientifique, elle a été utilisée comme appui pour concevoir des traitements contre la MA. Néanmoins, les approches expérimentales et les essais cliniques de phase III ciblant le peptide A β ont jusqu'à maintenant échoué. Par exemple, des inhibiteurs de la γ -sécrétase ont été développés, tels que le semagacestat ; ils sont capables d'inhiber la production du peptide A β à des concentrations élevées, mais stimulent la γ -sécrétase à des concentrations inférieures (Karran et al 2011). Il a été démontré *in vivo* qu'une administration orale de ce composé pendant 5 mois dans un modèle de souris

transgéniques de la MA (souris PDAPP), réduisait significativement les dépôts A β (Karran et al 2011). Cependant, en phase III clinique, les patients traités avec le semagacestat ont présenté une détérioration accrue de la cognition et des activités de la vie quotidienne par rapport aux témoins traités par placebo (pour revue, voir (Karran et al 2011)). Il reste à déterminer si l'aggravation de la maladie induite par le composé est réversible ou non, permettant de savoir si le composé a accéléré le processus de la maladie ou s'il a eu un effet temporaire sur les symptômes de la maladie (pour revue, voir (Karran et al 2011)). Puisque la γ -sécrétase a une large gamme de substrats (Wakabayashi & De Strooper 2008), ce composé ne semble pas assez restrictif dans l'approche thérapeutique de la MA. Une approche alternative attrayante était l'approche « anti-oligomérisation » (Selkoe 2001), consistant à utiliser de petites molécules capables de lier les monomères A β (la forme soluble potentiellement toxique) afin d'empêcher leur assemblage en oligomères (potentiellement cytotoxiques aussi). L'un des avantages de cette stratégie était de cibler un événement purement pathologique de la maladie plutôt que d'interférer avec des réactions métaboliques normales telles que celles de la γ -sécrétase. Dans cette optique, le tramiprosate a été développé (Gervais et al 2007) et a démontré *in vitro* une neuroprotection contre la neurotoxicité induite par l'A β dans les cultures neuronales isolées d'hippocampes de souris (Aisen et al 2011). *In vivo*, le tramiprosate a permis une réduction significative des dépôts d'A β dans le cerveau de souris transgéniques de la MA (souris TgCRND8) (Gervais et al 2007). Bien que les études cliniques aient démontré l'innocuité et la tolérance de ce composé chez l'Homme, les essais cliniques de phase III n'ont pas montré d'amélioration contre la MA (Aisen et al 2011). La stratégie d'immunisation contre le peptide A β a également été testée ; Une étude effectuée avec cette approche sur des souris transgéniques (souris PDAPP), chez lesquelles l'immunisation parentérale avec le peptide synthétique A β_{42} humain a entraîné une forte réponse humorale et un mouvement apparent de certains anticorps anti-A β à travers la BHE dans le parenchyme (Schenk et al 1999). Cependant, l'essai clinique testant l'A β_{42} complet comme vaccin actif pour stimuler le système immunitaire a été suspendu à la phase IIa, certains des patients ayant contracté une méningo-encéphalite (Spencer &

Masliah 2014). Depuis, plusieurs anticorps humanisés de l'A β ont été développés, mais sans succès évident (pour revue, voir(Gibbs et al 2019)).

Collectivement, malgré le nombre d'approches thérapeutiques développées à partir de la cascade amyloïde, aucune n'a vraiment eu d'effet significatif dans le traitement des patients, et la cause exacte de l'échec ne semble pas être déterminée. De façon non exclusive, il est possible que les traitements des patients aient été entrepris trop tardivement dans la progression de la MA. Une autre explication possible est la variabilité interindividuelle où des patients cognitivement normaux présentent de nombreux dépôts amyloïdes, et inversement certains patients atteints de la MA ont très peu de dépôts amyloïdes (Edison et al 2007, Li et al 2008). De même, dans le cerveau des patients âgés non atteints de démence, la distribution des plaques séniles est parfois aussi étendue que celle des patients atteints de démence (pour revue, voir (Kametani & Hasegawa 2018)). Ces études suggèrent que le dépôt du peptide A β serait plutôt un phénomène de vieillissement et le lien direct avec l'apparition de la MA peut être remis en cause (Chetelat et al 2013). Devant autant de scepticisme, la communauté scientifique s'est progressivement intéressée à investiguer l'implication d'autres acteurs indépendants de la cascade amyloïde. Des médicaments sont actuellement commercialisés et sont disponibles comme la tacrine (arrêté depuis pour hépatotoxicité), le donepezil, la rivastigmine, la galantamine, qui sont des anti-cholinestérase ((de la Torre 2004b) et ralentissent la dégradation extracellulaire du neurotransmetteur acétylcholine et améliorent ainsi les performances cognitives. Malheureusement, ces traitements ne fournissent qu'un modeste contrôle symptomatique aux premiers stades de la MA et offrent peu d'avantage aux derniers stades de la maladie (de la Torre 2004b).

Plus récemment, une appréciation croissante de l'impact des lésions cérébrovasculaires dans la MA a entraîné un retour d'intérêt envers l'importance des facteurs de risque vasculaires dans le développement et la progression de la MA, supportant « l'hypothèse vasculaire » (pour revue, voir (Iadecola 2013)).

- **L'hypothèse vasculaire**

De nos jours, il est désormais fortement et collectivement soutenu que la MA serait révélée par un trouble d'origine vasculaire ; les atteintes de la MA sont majoritairement cérébrovasculaires et surviennent de façon précoce (de la Torre 2004b, Iadecola 2004, Kalaria 2003, Sweeney et al 2018a, Sweeney et al 2019, Zlokovic 2002, Zlokovic 2008). Cette « **hypothèse vasculaire** » originellement proposée sous le nom de « **l'hypothèse CATCH** » (*Critically attained threshold of cerebral hypoperfusion*) par de la Torre (de la Torre 2000), avance que le dysfonctionnement cérébrovasculaire, et plus spécifiquement l'hypoperfusion cérébrale chronique, est un événement précoce dans l'incidence de la MA (de la Torre 2000). Plus récemment, cette hypothèse a été actualisée sous le nom de « **the two-hit vascular hypothesis of Alzheimer's disease** », selon laquelle l'atteinte cérébrovasculaire (« *hit 1* »), notamment via une hypoperfusion et /ou une dysfonction de la BHE, est une première insulte autosuffisante pour initier une lésion neuronale et une neurodégénérescence, mais peut également favoriser l'accumulation du peptide A β d'Alzheimer dans le cerveau (« *hit 2* ») (Nelson et al 2016, Sweeney et al 2018b). En faveur de l'hypothèse vasculaire, il existe également une relation de cause à effet entre les mécanismes vasculaires et le développement de la MA sporadique, contrairement à l'hypothèse amyloïde. L'hypothèse vasculaire explique comment les événements physiopathologiques se développent dans la MA à partir d'une crise énergétique neuronale directement secondaire à une hypoperfusion cérébrale (de la Torre 2008) (Figure 22). À la suite d'une hypoperfusion cérébrale chronique, la réduction de l'apport en glucose et en O₂ entraîne une réduction de la synthèse d'ATP, ce qui favorise à la production de ROS dans les neurones sensibles à l'ischémie, conduisant à des anomalies de la synthèse des protéines (désassemblage, mauvais repliement, clivage aberrant) nuisant à la structure et la fonction cellulaire. Cette réduction en ATP génère une défaillance dans l'action des neurotransmetteurs, le clivage défectueux de l'APP conduisant à une régulation à la hausse de BACE-1 et à la surproduction de l'A β , l'hyperphosphorylation de tau et sa déposition en DNF (Figure 22). Le transport axonal rétrograde des facteurs trophiques et de croissance (comme le facteur neurotrophique

dérivé du cerveau (BDNF), par exemple) qui sont essentiels à la survie neuronale est diminué, notamment via les dommages aux microtubules dus à l'hyperphosphorylation de la protéine tau (pour revue, voir (de la Torre 2008)). Cette crise énergétique a pu être étudiée chez l'animal, comme démontré *in vivo* chez le rat ischémique (par occlusions multiples réversibles de la MCA et par occlusion bilatérale des carotides) où l'hypoperfusion menait à l'accumulation du peptide A β (Kalaria et al 1993). Les conditions ischémiques seraient également susceptibles de moduler l'expression des gènes de la préséniline, comme démontré chez le rat ischémique (par occlusion de la MCA) (Pennypacker et al 1999) et d'accélérer la formation des radicaux libres. L'implication de cette crise d'hypométabolisme neuronal dans la MA a été confirmée chez l'Homme où le taux métabolique cérébral de glucose était réduit de 19% chez des patients atteints de démence légère et de 40% chez ceux ayant un stade de déficience cognitive avancée (de la Torre 1997). De plus, l'atteinte vasculaire semblerait influencer la voie amyloïdogène, par la réduction de la clairance de l'A β et son accumulation dans le cerveau (Zlokovic 2011). La considération de la composante vasculaire comme insulte primaire pathologique dans la MA ne nie pas les biomarqueurs et les mécanismes neurodégénératifs caractéristiques de la MA ; au contraire, il est émis que les mécanismes vasculaires et dégénératifs sont interconnectés et évoluent en parallèle (Viswanathan et al 2009). Selon cette hypothèse vasculaire (Figure 22), la fonction vasculaire est la première à décliner et est donc déjà détériorée quand les patients sont asymptomatiques (Iadecola 2004). Lorsque la fonction cognitive commence progressivement à décliner, les altérations neuropathologiques se manifesteraient et seraient susceptibles de résulter du dysfonctionnement neuronal et vasculaire (pour revue, voir (Iadecola 2004)). À mesure que les changements neuropathologiques progressent, la fonction cérébrovasculaire continue de se détériorer en parallèle, de même que la perte des fonctions cognitives (Iadecola 2004). Aux dernières phases de la maladie, la fonction neuro-vasculaire du cerveau est compromise à son maximum (Iadecola 2004). Cette séquence d'événements a récemment été confirmée par une analyse multifactorielle d'images cérébrales (chez des sujets âgés atteints de la MA comparativement à des sujets âgés non déments), dans

laquelle un classement chronologique de la progression de la maladie a été réalisé (Iturria-Medina et al 2016). Ces données d'imagerie suggèrent que la dérégulation vasculaire intra-cérébrale est un événement pathologique précoce lors du développement de la maladie d'Alzheimer, ayant pour conséquence la neurodégénérescence tissulaire cérébrale (Iturria-Medina et al 2016).

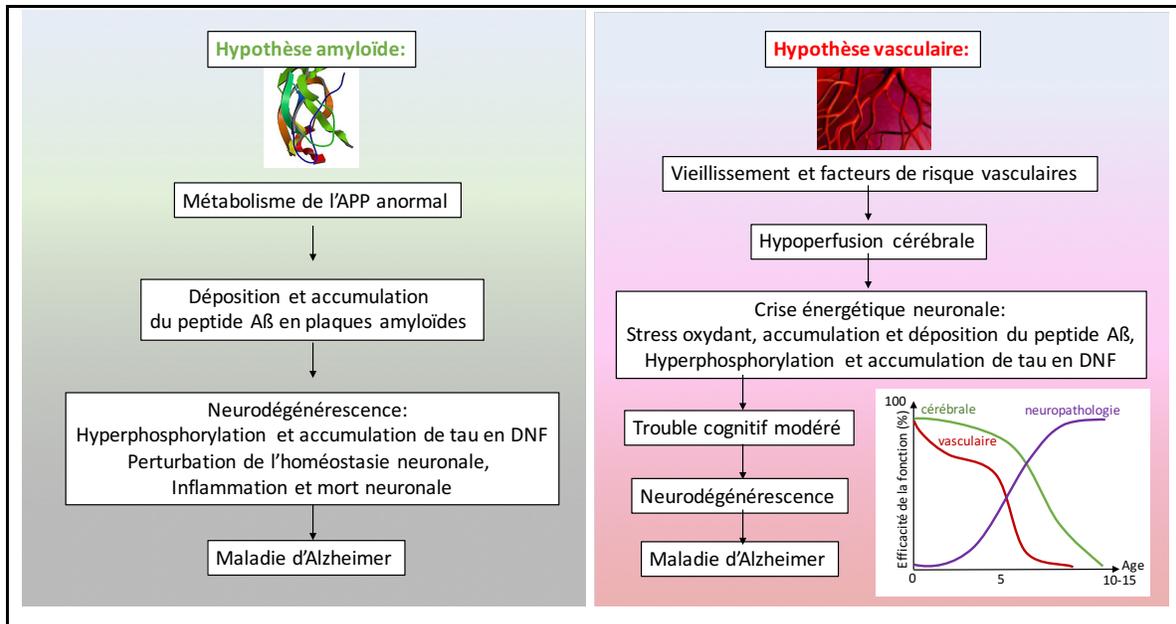


Figure 22 : Représentation schématique de l'hypothèse amyloïde et de l'hypothèse vasculaire dans l'incidence de la MA.

Adapté de (de la Torre 2004b, Iadecola 2004). Selon l'hypothèse amyloïde, la cascade pathologique est initiée par une dérégulation du métabolisme de l'APP et le processus de neurodégénérescence entraînant la MA est exclusif à la toxicité du peptide A β . L'hypothèse vasculaire propose que la fonction cérébrovasculaire soit la première à décliner, sous l'impact délétère du vieillissement associé aux facteurs de risque cardiovasculaires, par des détériorations vasculaires entraînant progressivement une hypoperfusion cérébrale, qui a des répercussions néfastes sur l'homéostasie neuronale, dont celle du métabolisme de l'A β , induisant les premiers troubles cognitifs. La dysfonction vasculaire et cérébrale déclinent en parallèle à mesure que l'atteinte neuropathologique progresse (APP : protéine précurseur de l'A β ; MA : maladie d'Alzheimer).

1.4.2.4 La dysfonction cérébrovasculaire dans la MA

D'une part, les anomalies cérébrovasculaires ont été démontrées dans des cerveaux autopsiés de sujets atteints de MA, par la mise en évidence d'une structure anormale des vaisseaux cérébraux, des microangiopathies (lésion de la paroi) dégénérative, la présence de CAA, d'infarctus et d'hémorragies intracérébrales et des

ruptures de la BHE (pour revues, voir (de la Torre 1997, de la Torre 2004b, Kalaria 2010, Kalaria et al 1993, Montagne et al 2017, Sweeney et al 2019)). Notamment, une diminution de l'expression de certaines protéines de la BHE, dont les transporteurs du glucose et des nutriments, les récepteurs des neurotransmetteurs et enzymes de dégradation, a été rapportée dans la microvascularisation cérébrale de sujets atteints de démence (Kalaria 2003). Il a été suggéré que cette altération du transport du glucose favoriserait l'hyperphosphorylation anormale de tau par activation excessive de la kinase *Glycogen synthase kinase 3 beta* (GSK3B) (Deng et al 2009). De plus, une réduction des protéines LRP1 et Pgp exprimées au niveau de la BHE et spécifiques du transport de l'A β , résulterait en une diminution de la clairance de l'A β et ainsi une augmentation de son accumulation cérébrale (Cirrito et al 2005, Deane et al 2004). D'autre part, des dysfonctions vasculaires ont également été rapportées chez l'Homme de son vivant, notamment de façon précoce dans la MA (pour revue, (Sweeney et al 2019)). Plusieurs études chez l'Homme ont ainsi démontré chez des patients à un stade précoce de la MA, une altération de la BHE (van de Haar et al 2016), une altération de la réactivité cérébrovasculaire (Suri et al 2015), une diminution du DSC (Alexopoulos et al 2012, Kogure et al 2000) ou encore l'augmentation de la résistance cérébrovasculaire (Yew & Nation 2017). Ces observations de l'atteinte vasculaire cérébrale dans la MA sont considérées comme primaires et inhérentes à la MA (Sweeney, 2019).

D'ailleurs, la caractérisation de ces dysfonctions cérébrovasculaires a ainsi permis de développer des techniques pour identifier les biomarqueurs vasculaires de façon précoce et ainsi prédire le déclin cognitif (pour revue, voir (de la Torre 2018, Sweeney et al 2019)). Ainsi, la mesure des changements de perfusion cérébrale dans certaines régions du cerveau, par techniques de neuro-imagerie (tomographie par émission monophotonique (SPECT), IRM, échographie Doppler transcranien (TCD) et l'injection de fluoro-2-désoxy-D-glucose (FDG) par tomographie par émission de positons (PET) (de la Torre 2008)) permet la détection préclinique de la MA (de la Torre 2008). Il a en effet été démontré que des personnes à risque de MA qui ne présentent aucun déficit cognitif mais des réductions métaboliques locales du taux de glucose cérébral (mesuré par FDG-PET) dans

l'hippocampe, ont développé plus tard une atrophie neurodégénérative et tissulaire et un déclin cognitif (de Leon et al 2007, Mosconi et al 2008). Les mesures du taux métabolique cérébral de glucose et du DSC étant pratiquement linéaires (Johnson et al 2005), ce qui suggère qu'une hypoperfusion cérébrale est prédictive d'un déclin cognitif et de la MA. De plus, l'utilisation de différentes séquences d'imagerie IRM permet un diagnostic vasculaire précoce de la MA, en évaluant les hyperintensités de la matière blanche (Sweeney et al 2019), les microhémorragies (Poliakova et al 2016), la perméabilité de la BHE (Sweeney et al 2019) ainsi que la diminution de la réactivité cérébrovasculaire (Pillai & Mikulis 2015). De plus, le rapport entre le LCR et l'albumine plasmatique (un marqueur de la dysfonction de la BHE) est également augmenté chez les patients atteints de la MA et de façon intéressante, en particulier chez les patients avec des facteurs de risque vasculaires (Bowman et al 2012).

En parallèle des études menées chez l'Homme, des études menées sur des modèles animaux ou cellulaires, ont également permis d'étudier l'interaction des composants vasculaires avec les marqueurs de la MA. Notamment, l'action vasoconstrictive de l'A β sur les artères cérébrales a été démontrée chez l'animal par l'application directe d'A β ₄₀ *ex vivo* sur des artères cérébrales isolées pressurisées de souris (Niwa et al 2001). Cette vasoconstriction induite par A β ₄₀ diminue la réponse vasodilatatrice de l'endothélium, notamment via une dysfonction endothéliale associée à la production de ROS et a été démontrée sur des artères cérébrales de rat (Price et al 1997). De plus, il a été démontré *in vivo* que les cellules endothéliales (culture de cellules endothéliales d'aorte humaine) sont plus sensibles à l'A β ₄₂ qu'à l'A β ₄₀, via une voie impliquant un excès de ROS et un afflux de Ca²⁺ (Suo et al 1997). L'A β semblerait être néfaste à la fois pour l'endothélium, les CMLV (démontré chez l'homme (Kalaria 1997)) et les péricytes (démontré dans une culture de péricytes humaines (Verbeek et al 1997)) où l'A β induit une toxicité et une dégénérescence cellulaire. De plus, chez la souris infusée avec du peptide A β ₄₀ et chez la souris transgénique de la MA (souris Tg2576), une clairance déficiente de l'A β au niveau de la BHE par ses transporteurs spécifiques LRP-1 et RAGE induit un découplage

neurovasculaire, une accumulation de l'A β , une hypoperfusion cérébrale et une inflammation neurovasculaire (Deane & Zlokovic 2007).

1.4.2.5 Modèles animaux de la maladie d'Alzheimer

Afin d'étudier la mécanistique pathologique de la MA, la communauté scientifique s'est largement appuyée sur l'utilisation de modèles transgéniques murins qui sur-expriment des gènes humains mutés associés aux formes familiales de la MA. Ces modèles murins transgéniques reproduisent, dans leur grande majorité, certaines des lésions neuropathologiques de la MA, en particulier les dépôts extracellulaires du peptide A β sous forme de plaques amyloïdes extraneuronales et au niveau des vaisseaux sanguins, ainsi que les signes cliniques associés à cette maladie, tels que les déficits cognitifs d'apprentissage et de mémoire (Tableau 2). Les anomalies cérébrovasculaires observées chez l'homme (diminution du DSC, l'altération de l'hyperémie fonctionnelle et des réponses vasodilatatrices dépendantes de l'endothélium (pour références, voir le tableau 2)) sont néanmoins majoritairement retrouvées dans l'ensemble des modèles transgéniques murins de la MA. Des micro-hémorragies, une diminution des réponses vasodilatatrices dépendantes de l'endothélium, une hypoperfusion cérébrale ou une atteinte de la BHE sont ainsi pu être mesurées. Notamment, une diminution des performances de mémoire spatiale a été démontré chez la souris transgénique eNOS^{-/-} (Austin et al 2013). Dans certains modèles, les anomalies vasculaires ont pu être mesurées avant le dépôt des plaques séniles et/ou le développement des déficits cognitifs, supportant ainsi le concept que les altérations vasculaires sont primaires et impliquées dans l'incidence de la pathogénèse de la MA (pour revue, voir (Iadecola 2013)).

Aucun de ces modèles ne récapitule exactement la pathologie humaine, mais chacun permet d'enrichir les informations sur ses mécanismes potentiels. Le tableau ci-dessous (Tableau 2) décrit ainsi les modèles les plus utilisés en recherche, tels que PDAPP, Tg2576, APP23, TgCRND8, PS1(M146V) et PS1(M146L), APP/PS1 ou encore 5xFAD et recense, s'il y a, les altérations cérébrovasculaires. Ce tableau est non exhaustif ; pour une liste complète de tous les modèles disponibles, se référer au site ALZOFORUM

<https://www.alzforum.org/research-models/search?species%5B%5D=319&diseases%5B%5D=145&genes=&types=&keyword-s-entry=&keywords=#results>).

Tableau 2 : Exemples de modèles transgéniques murins de la maladie d’Alzheimer.

Les modèles transgéniques murins représentatifs de la MA sur-expriment des gènes humains mutés associés aux formes familiales de la MA. Ces modèles murins transgéniques reproduisent ainsi dans leur grande majorité, les lésions neuropathologiques caractéristiques de la MA, en particulier les dépôts extracellulaires du peptide Aβ sous forme de plaques amyloïdes extraneuronales et au niveau des vaisseaux sanguins, et l’hyperphosphorylation de la protéine tau. De plus, ces modèles animaux développent aussi les signes cliniques associés à cette maladie, tels que les déficits cognitifs (de l’apprentissage, de la mémoire de travail, spatiale, de reconnaissance, etc). Certains modèles présentent également des altérations cérébrovasculaires, dont une hypoperfusion cérébrale et une altération de la BHE.

Modèles murins de la maladie d’Alzheimer familiale :		
Les modèles « APP » :	Papier original Caractéristiques du modèle	Altérations cérébrovasculaires
PD-APP : la mutation V717F ou mutation Indiana <i>Considéré comme le premier modèle murin de la MA.</i>	- Déficiences de la mémoire de travail dès 3 mois qui précèdent l’apparition de lésions histologiques amyloïdes qui apparaissent à 6 mois et dont la quantité augmente avec l’âge (plaques Aβ extraneuronales et CAA). - activation gliale et atteinte neuritique, mais pas de DNF (Games et al 1995).	Microhémorragies (Domnitz et al 2005)
APP SWE : La mutation KM670/671NL ou mutation suédoise • Le modèle Tg2576 <i>Modèle MA murin le plus cité.</i>	- Déficiences de la mémoire de travail dès 9 mois qui sont corrélés à une augmentation des peptides Aβ ₄₀ et Aβ ₄₂ , plaques Aβ extraneuronales et CAA. - Activation gliale et neurodystrophie, mais pas de DNF (Hsiao et al 1996).	Diminution de la réactivité cérébrovasculaire, diminution du couplage neurovasculaire, hypoperfusion cérébrale (Papadopoulos et al 2017), microhémorragies (Yan et al 2015)
• Le modèle APP23	- Lésions amyloïdes dès 6 mois dont la quantité augmente avec l’âge (plaques Aβ extraneuronales et CAA), activation gliale et neurodystrophie, augmentation de TAU phosphorylée et structures ressemblant à des DNF. - Déficiences de la mémoire spatiale et de reconnaissance dès 3 mois et de la mémoire de travail dès l’âge de 19 mois (Sturchler-Pierrat et al 1997).	Microhémorragies (Reuter et al 2016), anomalies cérébrovasculaires et troubles du flux sanguin cérébral (Beckmann et al 2003)
Combinaisons de plusieurs mutations de l’APP • Le modèle TgCRND8 = mutation suédoise + mutation V717F	- Augmentation des peptides Aβ ₄₀ et Aβ ₄₂ avec l’âge, dépôts amyloïdes associées à une activation gliale et une neurodystrophie, sans DNF.	Altération de la structure des microvaisseaux : tortuosité et diminution de leur calibre. Altération fonctionnelle des microvaisseaux : diminution de la réactivité

	- Déficits cognitifs dès 3 mois, de mémoire de travail, de mémoire associative et de reconnaissance. (Chishti et al 2001).	cérébrovasculaire (Dorr et al 2012)
Les modèles « Présénilines" : mutations sur le gène PSEN1		
• Les modèles PS1(M146V) et PS1(M146L)	Augmentation des peptides A β ₄₂ avec l'âge et dépôts amyloïdes (Duff et al 1996).	Non décrit
Les modèles sur des gènes multiples :		
• Le modèle APP/PS1 = mutation suédoise du gène de l'APP + mutation L166P du gène PSEN1	- Lésions amyloïdes dès 3 mois dont la quantité augmente avec l'âge (plaques A β extraneuronales et CAA). - Activation gliale. - Troubles de la mémoire de travail dès 3 mois et de la mémoire de référence et associative dès 6 mois (Radde et al 2006).	Diminution du couplage neurovasculaire (Rancillac et al 2012), altération structurelle des microvaisseaux (Cifuentes et al 2015), microhémorragies corticales, diminution de la réactivité cérébrovasculaire, altérations de la BHE et hypoperfusion cérébrale (de Montgolfier et al 2019)
• Le modèle 5xFAD = trois mutations du gène de l'APP : la suédoise, la « Florida », la londonienne + deux mutations du gène PSEN1: la M146L et la L286V.	- Accumulation intracellulaire précoce d'A β ₄₂ dès 1,5 mois, suivie à 2 mois de l'apparition de lésions amyloïdes. - Activation gliale. (Oakley et al 2006).	Altération de la BHE (Ahn et al 2018) et microhémorragies (Yan et al 2015).
• Le modèle 3xTg-AD = mutation suédoise du gène de l'APP + mutation M146V du gène PSEN1 + mutation P301L sur le gène TAU.	- Lésions amyloïdes et dépôts d'A β intracellulaire dès 6 mois et formes agrégées de TAU hyperphosphorylées à 15 mois. - Activation gliale. - Atteinte séquentielle dès 3 mois de la mémoire associative, de travail, de reconnaissance, et de référence. (Oddo et al 2003).	Altération du couplage neurovasculaire (Lourenco et al 2017)

(MA : maladie d'Alzheimer, BHE : barrière hémato encéphalique, CAA : angiopathie amyloïde cérébrale).

Les modèles transgéniques pouvant être désignés comme des modèles de la forme sporadique de la MA sont des modèles limités au gène *APOE*, considéré comme un facteur de risque de la MA. L'inactivation du gène *APOE* chez la souris mène ainsi à des dépôts diffus d'A β extraneuronaux mais pas de plaques amyloïdes et à des troubles d'anxiété (Raber et al 2000) ; Le transgène *APOE* humain spécifique d'un type cellulaire

(astrocytes, neurones) chez la souris conduit à l'augmentation de la phosphorylation de la protéine tau et à une altération de la mémoire de travail des souris (Brecht et al 2004, Holtzman et al 1999). La substitution du gène APOE par les allèles humains hAPOEε3 ou hAPOEε4 a été démontré induire des déficits de mémoire et d'apprentissage et l'accélération des dépôts amyloïdes dans un modèle murin transgénique (les souris APP(V717F)) de la MA familiale (Holtzman et al 2000).

De plus, l'étude de la contribution des facteurs de risque des MCV dans la MA s'effectue généralement grâce à l'utilisation des modèles murins transgéniques classiques de la MA familiale (comme ceux représenté dans le tableau 2). L'étude de la contribution de l'hypertension (induite par infusion d'Ang II), qui est très prévalente dans l'incidence de la MA, a été particulièrement étudiée dans le modèle APP/PS1 ((Cifuentes et al 2017, Cifuentes et al 2015).

En résumé, l'ensemble des données établissent le fait selon lequel la MA sporadique serait un trouble d'origine vasculaire avec des conséquences neurodégénératives, révélé avec l'âge en présence de facteurs de risque vasculaires. Cette composante vasculaire fondamentale dans la physiopathologie de la MA a redéfini cette maladie comme une **vasocognopathie** (trouble cognitif lié au système vasculaire) et il est proposé qu'elle soit traitée comme tel (de la Torre 2004a).

1.4.3 La démence vasculaire

La démence vasculaire correspond à un groupe hétérogène de troubles cérébraux dans lesquels les déficiences cognitives sont attribuables à des pathologies cérébrovasculaires (Iadecola 2013). La démence vasculaire serait responsable de 20% des cas de démences (Gorelick et al 2011).

1.4.3.1 Caractérisation de la démence vasculaire

Tout d'abord, la démence vasculaire est caractérisée comme un type de démence initialement différent de la MA, dont l'événement primaire n'est pas une perte neuronale mais une vascularisation cérébrale altérée et un débit sanguin cérébral réduit

(Enciu et al 2011, Kalaria 2010). Des sous-types de démence vasculaire tels que le terme « **Multi Infarct dementia ou démence multi infarctus** » (**MID**) (Enciu et al 2011) ont été introduits pour caractériser les patients qui développaient une démence après plusieurs AVC, puis par extension, pour les patients ayant une seule atteinte vasculaire. Par la suite, le terme « **Vascular Dementia ou démence vasculaire** » (**VaD**) a été utilisé globalement quelle que soit la pathogenèse de la lésion vasculaire (ischémique, hémorragique, infarctus simple ou multiples) (Enciu et al 2011). Les maladies cérébrovasculaires pouvant entraîner de légers déficits cognitifs affectant plusieurs fonctions cognitives, certains auteurs ont alors proposé l'expression « **Vascular mild cognitive Impairment ou déficience cognitive légère vasculaire** » (**VaMCI**) (Gorelick et al 2011). Il s'agit de l'équivalent vasculaire de la MCI qui est utilisé pour identifier les sujets atteints de déficits cognitifs et étant en transition vers un état pathologique de la MA (Petersen et al 1999). Désormais, l'emploi du terme « **Vascular Cognitive Impairment ou déficience cognitive vasculaire** » (**VCI**) englobe l'ensemble des troubles cognitifs associés à une maladie cérébrovasculaire, que ce soit de légers déficits cognitifs à de la démence franche (Gorelick et al 2011). La VCI est ainsi un syndrome englobant la preuve clinique d'accident vasculaire cérébral ou d'atteinte cérébrale vasculaire avec déficience cognitive affectant au moins 1 domaine cognitif.

La forme la plus pathologique de la VCI est ainsi la VaD, alors que des atteintes cognitives moins importantes correspondent à la VaMCI (Gorelick et al 2011).

1.4.3.2 Causes et contribution des facteurs de risque vasculaire dans la démence vasculaire

L'artériopathie cérébrale autosomique dominante avec infarctus sous-corticaux et leucoencéphalopathie (CADASIL) est une maladie héréditaire des petits vaisseaux de type non amyloïde qui résulte soit d'un gain, soit d'une perte d'un ou de trois résidus de cystéine dans la région N-terminale extracellulaire du gène *NOTCH3* (Gorelick et al 2011). *NOTCH3* code pour le récepteur Notch3 exprimé principalement dans les CMLV et l'activation de sa signalisation participe à l'intégrité structurale et fonctionnelle des artères de résistance cérébrales (Henshall et al 2015). Chez l'Homme, les artères

cérébrales parenchymateuses touchées montrent une dégénérescence des CMLV accompagnée d'un épaissement progressif de la paroi et d'un rétrécissement de la lumière provoqué par cet épaissement et une fibrose (Miao et al 2004). Ce phénotype a également pu être étudié dans des modèles animaux représentatifs de la maladie (présentés ultérieurement dans le tableau 3, dans la section 1.4.3.4). La maladie est caractérisée par des AVC sous-corticaux récurrents chez les patients âgés de 40 à 60 ans (Selnes & Vinters 2006). Les manifestations cliniques comprennent une déficience cognitive et des symptômes psychiatriques; certains patients ne peuvent d'ailleurs présenter que des migraines et aucun symptôme cognitif (Selnes & Vinters 2006). D'autres syndromes héréditaires cérébraux des petits vaisseaux associés à la démence vasculaire existent mais sont rares. Par exemple, la CAA familiale est causée par des mutations ou des duplications du gène de la protéine APP (Selnes & Vinters 2006). Des mutations du gène de la sous-unité du collagène *COL4A1* ont également été rapportées en association à la présence d'hémorragie intracérébrale (pour revue, voir (Gorelick et al 2011)). Un polymorphisme dans le gène *COL4A1* a d'ailleurs été associé à une VOP augmentée (Tarasov et al 2009), suggérant qu'une modification de la structure des vaisseaux augmente la rigidité artérielle (et donc la PP) et pourrait être prédictive de déficits cognitifs.

L'âge est bien sûr un facteur de risque déterminant dans l'incidence de la VCI (Enciu et al 2011). L'allèle $\epsilon 4$ de l'APOE est associé à une augmentation du niveau de facteurs de risque cardiovasculaires (Eichner et al 2002), mais aucune association de ce polymorphisme dans l'incidence de la VaD n'a été rapportée (Kim et al 2008). Les facteurs de risque cardiovasculaires co-existants avec l'âge tels que l'hypertension, le diabète, le syndrome métabolique ou encore l'hyperglycémie sont fortement associés avec l'incidence et le développement de VCI (pour revue, voir (Gorelick et al 2011)). L'hypertension est notamment le facteur de risque nmajoritaire contribuant à la pathogenèse de la démence vasculaire (Eftekhari et al 2007).

1.4.3.3 La dysfonction cérébrovasculaire dans la VCI

Chez l'Homme, les altérations vasculaires qui causent des lésions vasculaires et une déficience cognitive vasculaire sont diverses et incluent des changements systémiques affectant la perfusion cérébrale globale ou des altérations impliquant des vaisseaux sanguins cérébraux, le plus souvent des artéριοles de petite taille ou des veinules (pour revue, voir (Iadecola 2013)). Une réduction de la perfusion cérébrale globale causée par un arrêt cardiaque, des arythmies, une insuffisance cardiaque, ou l'hypotension peut produire un dysfonctionnement du tissu cérébral et altérer la cognition de manière transitoire ou permanente (Iadecola 2013). Une sténose ou une occlusion des artères carotides internes est associée avec une ischémie chronique et peut conduire à une déficience cognitive (Iadecola 2013). Néanmoins, si la réduction du DSC est soutenue, un AVC ischémique s'ensuit et la présence d'AVC double le risque de démence (Moskowitz et al 2010). Il a notamment été rapporté qu'environ 30% des patients ayant subi un AVC développent un dysfonctionnement cognitif dans les 3 ans qui suivent (pour revue, (Iadecola 2013)). L'occurrence de plusieurs infarctus causés au fil du temps par plusieurs occlusions artérielles altère la cognition, mais les études chez l'Homme ne démontrent pas de relation cohérente entre le volume, le nombre d'infarctus et la sévérité de la déficience cognitive (Vinters et al 2000). La gravité de la déficience cognitive serait plutôt liée à l'emplacement de l'infarctus ; l'occurrence des infarctus dans les régions du cerveau critiques pour la fonction cognitive, telles que le thalamus, le lobe frontal, le gyrus angulaire et les ganglions de la base, seraient plus susceptibles d'entraîner une déficience cognitive vasculaire (Jellinger 2008). Les lésions vasculaires les plus fréquentes associées à la VCI sont liées à des altérations marquées de la structure microvasculaire cérébrale, comme cela a été rapporté chez l'Homme (pour revues, voir (Brown & Thore 2011, Iadecola 2013, Jellinger 2013, Thal et al 2012)) (et représentées dans la figure 23). Il a ainsi été rapporté que la membrane basale des microvaisseaux s'épaissit, les microvaisseaux deviennent tortueux et une raréfaction de leur nombre s'effectue (pour revue, voir (Brown & Thore 2011)). Notamment, il a été observé chez l'Homme que les capillaires deviennent non fonctionnels suite à la perte de leur

endothélium et ne conservent que la membrane basale (pour revue, voir (Brown & Thore 2011)). De plus, les artérioles cérébrales présentent des signes de lipohyalinose (Figure 23) qui correspond à une hypertrophie suivie d'une dégénérescence des CMLV et à la présence de sclérose et de dépôts lipidiques dans la paroi artériolaire (Iadecola 2013, Thal et al 2012). L'artériosclérose (Figure 23) est caractérisée par des modifications de la paroi vasculaire des petites artères (durcissement), similaires à celles observées dans l'athérosclérose des vaisseaux périphériques à l'exception des calcifications (Thal et al 2012). Ces altérations microvasculaires cérébrales entraînent des lésions vasculaires de type infarctus lacunaires, micro-infarctus, hémorragies et microhémorragies (Figure 23) (Thal et al 2012) et leur occurrence a pu être observée dans des modèles animaux (récapitulés dans le tableau 3). Les infarctus sont des lésions nettement délimitées comprenant une nécrose et une inflammation (astrogliose, microgliose et infiltration de macrophages) (Thal et al 2012) et découlent d'un processus plus généralisé tel que l'hypoxie, l'inflammation, le stress oxydant ou de la perturbation de la BHE (Gorelick et al 2011). Notamment, des études post-mortem chez l'Homme ont démontré que les zones de la leucoaraïose sont chroniquement hypoxiques, indiqué par l'expression des facteurs inductibles à l'hypoxie (Fernando et al 2006). Dans une étude chez la gerbille soumise à une sténose bilatérale de l'artère carotide (BCAS) et entraînant des zones ischémiques de la matière blanche, il a été rapporté que celles-ci sont caractérisées par une nécrose et une inflammation. Ce modèle démontre également une hypoperfusion cérébrale et un déclin cognitif (Hattori et al 1992). Dans ce modèle animal de BCAS, il a également été observé que les dommages du tissu cérébral s'accumulent à mesure que l'hypoperfusion cérébrale persiste (Hattori et al 1992). De même, dans un autre modèle de sténose des artères carotides chez la souris, la sévérité des dommages de la matière blanche (démyélination, vacuoles) corrèle avec l'augmentation temporelle de l'inflammation cérébrale (astrogliose) (Shibata et al 2004). Les microhémorragies correspondent à l'extravasation de sang due à la rupture de la paroi des artérioles et sont limitées à l'espace périvasculaire (Iadecola 2013). Il a été rapporté que les microhémorragies corticales sont fréquemment associées à la présence de CAA (dépôt principalement de

peptide A β dans les artères (pour revue, voir (Revesz et al 2009)) (Figure 23) alors que les microhémorragies dans les régions profondes tendent à être associées à une altération microvasculaire secondaire à des facteurs de risque vasculaires (Iadecola 2013). Néanmoins, les micro-infarctus et les microhémorragies sont associés avec un déclin cognitif et sont observés chez les patients déments (Iadecola 2013). Ces altérations microvasculaires cérébrales entraînent différentes lésions neuropathologiques qui consistent en une vacuolisation (œdème intramyélinique), une démyélinisation et une perte axonale (pour revue, voir (Iadecola 2013, Jellinger 2013)). Ces lésions de la matière blanche correspondent en général à l'hyper-intensité des signaux détectés par technique d'IRM (Gouw et al 2011). Les lésions de la matière blanche évoluent avec le temps et l'expansion des lésions existantes (plutôt que la formation de nouveaux foyers (Maillard et al 2012)) est corrélée à l'évolution de la déficience cognitive (Maillard et al 2012). Notamment, des dommages aux fibres de myéline peuvent ainsi compromettre ces fonctions et contribuer à la déficience cognitive, en affectant les processus de neuroplasticité et donc l'apprentissage (pour revue, voir (Fields 2010)).

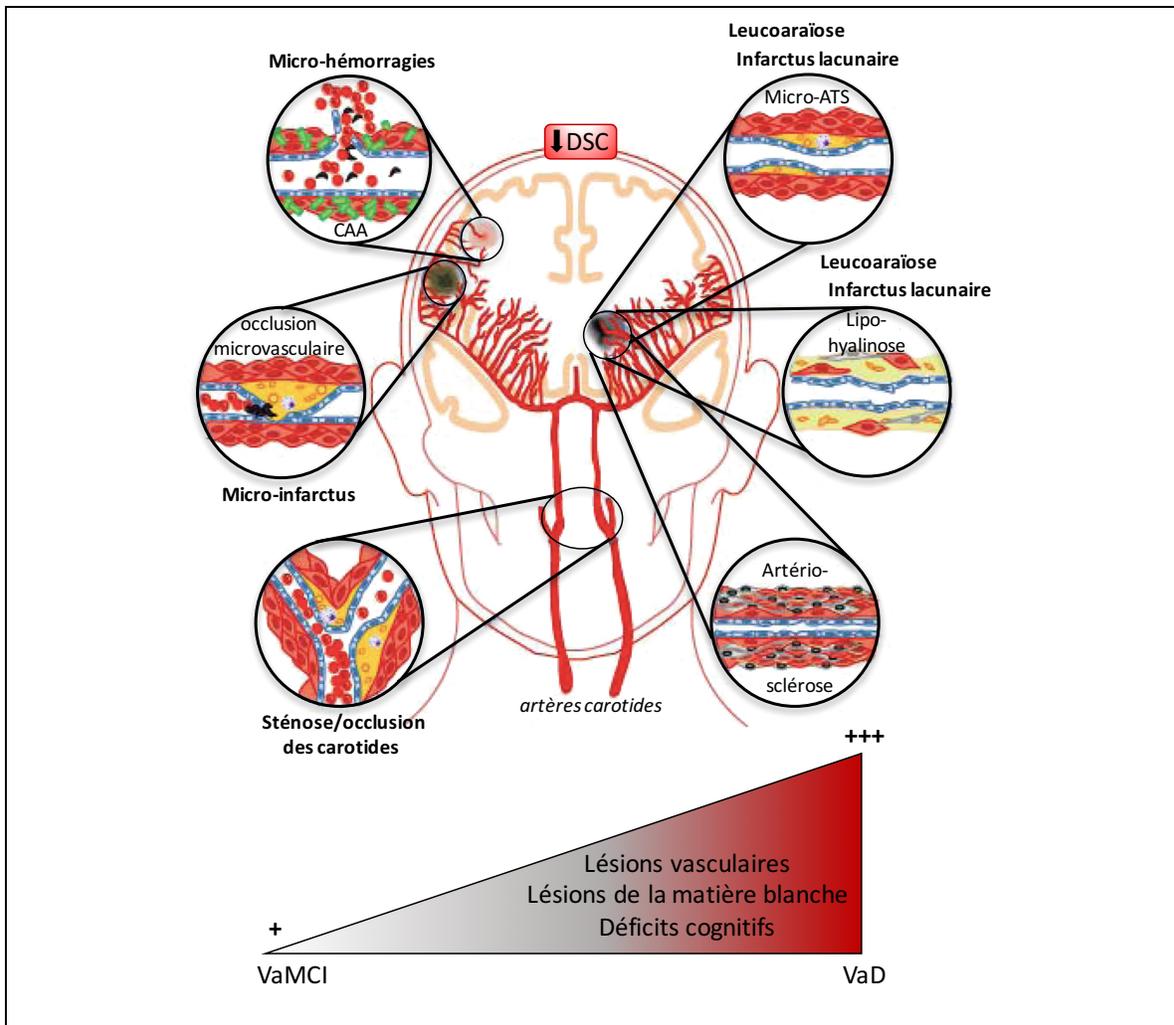


Figure 23 : Représentation des lésions vasculaires associées à la VCI.

Adapté de (Iadecola 2013). Les altérations vasculaires qui causent une déficience cognitive vasculaire sont diverses et incluent des affections systémiques affectant la perfusion cérébrale globale (comme la sténose ou l'occlusion des carotides) ou des altérations impliquant les vaisseaux sanguins cérébraux. Les lésions vasculaires cérébrales les plus fréquentes associées au déclin cognitif sont des lésions de la matière blanche, appelées leucoaraïose, et des infarctus lacunaires. Les pathologies sous-jacentes à ces lésions consistent en des plaques athérosclérotiques, à la lipohyalinose et à l'artériolosclérose. Les micro-infarctus et les microhémorragies sont secondaires à la leucoaraïose et aux infarctus lacunaires et à la CAA. Les lésions vasculaires entraînent des lésions de la matière blanche, qui s'étendent avec le temps et l'expansion de ces lésions est corrélée à l'évolution de la déficience cognitive. La forme la plus pathologique de VCI est la VaD et des atteintes cognitives moins importantes correspondent à la VaMCI. (CAA: cerebral amyloid angiopathy, ATS: athérosclérose, VCI: déficience cognitive vasculaire, VaMCI : déficience cognitive légère vasculaire, VAD : démence vasculaire, DSC: débit sanguin cérébral).

La dysfonction vasculaire associée à la VCI inclut également la dysfonction endothéliale, notamment démontrée chez l'homme par une altération précoce de la BHE (Farrall & Wardlaw 2009, Iadecola 2013). Chez le rat, dans le modèle d'hypoperfusion

chronique de BCAS, une réduction des réponses vasodilatatrices dépendantes de l'endothélium des artères piales a été démontrée (Matin et al 2016)). Chez l'Homme, une augmentation des niveaux d'ICAM-1 cérébraux a été mesurée par IRM, et sont corrélés avec la progression des signaux d'hyper-intensité de la matière blanche (Markus et al 2005). Cette observation a également été retrouvée dans un modèle de BCAS chez le rat, où les niveaux à la hausse d'ICAM-1 et de VCAM-1 corrént avec la sévérité des lésions de la matière blanche (Huang et al 2010). L'autorégulation cérébrale est également altérée (Iadecola 2013), ce qui est associé chez l'Homme avec la présence de dommages de la matière blanche lors d'une élévation de pression (Matsushita et al 1994). L'hyperémie fonctionnelle cérébrale chez des patients présentant des facteurs de risque pour la VCI (hypertension, diabète) est aussi diminuée (Jennings et al 2005, Sorond et al 2011). Une réduction du DSC est observée chez l'Homme avant l'apparition de la démence (Ruitenberg et al 2005). Des altérations de la fonction cérébrovasculaire sont ainsi impliquées dans la pathogenèse de la VCI et il est généralement admis que les troubles cognitifs résultent de l'accumulation de lésions vasculaires (pour revue (Gorelick et al 2011, Iadecola 2013)), comme cela est d'ailleurs retrouvé dans les modèles animaux d'hypoperfusion chronique cérébrale (Kudo et al 1993, Matin et al 2016). L'ensemble de ces lésions vasculaires affectent la structure du cerveau et son fonctionnement, et sont associées à des réductions de l'utilisation du glucose, comme démontré dans le lobe frontal, à une réduction globale du débit sanguin cortical, à une perturbation de la connectivité cérébrale et à une atrophie cérébrale (pour revue, voir (Iadecola 2013)). De plus, la diminution des facteurs de croissance tels que le BDNF peut contribuer à la dysfonction cérébrale associée à l'établissement de la VCI (pour revue, voir (Iadecola 2013)). Des études chez l'Homme et chez l'animal (comme dans un modèle d'ischémie cérébrale par occlusion des vaisseaux cérébraux (Iwasaki et al 1996)) ont également montré une altération des systèmes des neurotransmetteurs, en particulier celui des projections cholinergiques (pour revue, voir (Roman & Kalara 2006)). Puisque les mécanismes cholinergiques jouent un rôle dans la régulation du DSC (Hamel 2006), un

dysfonctionnement du système cholinergique peut entraîner une hypoperfusion et avoir un rôle critique dans la pathogénèse de la VCI.

De plus, l'augmentation de la PP centrale est significativement plus élevée chez des patients atteints de leucoaraïose (lésions de la matière blanche) (Kuo et al 2010, Webb et al 2012) et la rigidité artérielle et l'augmentation de la PP sont également associés à une réduction du DSC (Tarumi et al 2011). Ceci appuie donc que la perte d'élasticité des grandes artères augmente le stress pulsatile sur les microvaisseaux cérébraux et peut participer aux altérations vasculaires menant aux dommages cérébraux, notamment ceux de la matière blanche, et ainsi à la démence vasculaire.

1.4.3.4 Modèles animaux de la VCI

Plusieurs types de modèles animaux sont actuellement utilisés pour étudier la contribution des lésions vasculaires dans l'incidence de la VCI. Certains exemples sont présentés dans le tableau 3, mais une liste plus complète peut être retrouvée dans la revue de Jiwa et collaborateurs (Jiwa et al 2010). La démence vasculaire est majoritairement induite par méthode chirurgicale ou pharmacologique et a été étudiée dans plusieurs espèces animales, comme chez le rat, la gerbille, la souris ou le singe. Un des modèles chirurgicaux le plus utilisé chez le rat (Jiwa et al 2010) est la sténose bilatérale ou asymétrique de l'artère carotide commune (BCAS ou ACAS) (Tableau 3) ; il s'agit d'un modèle de démence vasculaire ischémique sous-corticale associée à des micro-infarctus, à une diminution du DSC, à des dommages de la matière blanche, à une diminution du métabolisme, une augmentation de l'inflammation vasculaire et de la perméabilité de la BHE, une atrophie cérébrale et une déficience cognitive. Ce modèle est particulièrement représentatif de la démence vasculaire retrouvée chez les patients (Gooch & Wilcock 2016). Le modèle ACAS mime également avec succès l'hypoperfusion à long terme qui diminue progressivement dans les deux hémisphères avec un maximum de diminution dans la zone ipsilatérale. Par la suite, de multiples accidents ischémiques (micro-infarctus) sont observés dans la zone sous-corticale ipsilatérale (pour revue, (Gooch & Wilcock 2016)) (Tableau 3). De brèves périodes d'ischémie cérébrale globale réalisées

chirurgicalement par occlusion des artères carotides et/ou cérébrales produisent des dommages cellulaires et des déficits cognitifs (Tableau 3). L'occlusion de 2 artères carotides (2-VO) est utilisée pour reproduire les changements neuropathologiques et comportementaux compatibles avec ceux observés chez les patients atteints de déficience cognitive vasculaire ; néanmoins ces effets ne perdurent pas, c'est pourquoi l'occlusion d'autres artères peut-être effectuée (modèles de 3-VO et 4-VO) (pour revue, voir (Gooch & Wilcock 2016)). L'occurrence des multi-infarctus ou des infarctus stratégiques (dans des zones cérébrales critiques pour les fonctions cognitives) étant fortement associée à l'apparition de déficits cognitifs, d'autres modèles d'infarctus utilisant d'autres techniques (comme l'injection de microembolies) ont été développées (Tableau 3). De plus, les infarctus principalement corticaux et résultants chez l'Homme de l'athérosclérose des artères périphériques (par exemple, la carotide) avec une thromboembolie généralisée peuvent être étudiés dans les modèles animaux de l'athérosclérose (Tableau 3) (pour revue, voir (Jiwa et al 2010)). L'étude des accidents vasculaires cérébraux et de la démence vasculaire peut également être étudiée chez l'animal par modifications génétiques associées à CADASIL, notamment celle de *Notch 3* (Tableau 3) (Jiwa et al 2010). L'étude de la VCI peut aussi être investiguée dans des modèles de pathologie cérébrale des microvaisseaux cérébraux induisant un remodelage des microvaisseaux cérébraux dû à l'hypertension artérielle, ce qui entraîne des troubles cognitifs subtils mais constants. Le modèle de rat spontanément hypertendu (SHR) est un exemple (Tableau 3) : il est caractérisé par des hémorragies cérébrales spontanées, un dysfonctionnement de la BHE, des dommages de la matière blanche et l'activation microgliale cérébrale (Yamori et al 1976).

Ces altérations peuvent être retrouvées dans d'autres modèles d'hypertension comme celui de l'infusion de l'Ang II ou par TAC (Carnevale et al 2012b, Foulquier et al 2018, Rockman et al 1991). De façon additive à l'hypertension, d'autres modèles utilisent d'autres facteurs de risque de la VCI, comme le diabète, l'hypercholestérolémie, l'athérosclérose, l'hyperhomocystéinémie ou encore la rigidité artérielle (Tableau 3). L'ensemble de ces facteurs de risque peuvent induire des déficits cognitifs dans les

modèles de souris et de rat (pour revue, voir (Gooch & Wilcock 2016). L'hyperhomocystéinémie et l'athérosclérose peuvent être obtenus génétiquement ou par modification du régime alimentaire de l'animal (Bink et al 2013, Gooch & Wilcock 2016). Pour terminer avec le survol des modèles animaux reproduisant la VCI, la CAA, qui se réfère au dépôt de fibrilles amyloïdes dans la paroi des vaisseaux et entraînant une dégénérescence vasculaire secondaire, peut-être étudiée dans plusieurs modèles de souris transgéniques de la MA (Tableau 2) dont les souris possédant la mutation suédoise et qui développent facilement une CAA (Tableau 2).

Tableau 3 : Exemples de modèles expérimentaux de démence vasculaire (VCI).

La déficience cognitive vasculaire, définie comme tout trouble cognitif clinique d'origine cérébrovasculaire résulte de l'altération des petits vaisseaux, d'infarctus multiples ou stratégiques, de microhémorragies, de CAA, d'hypoperfusion et de vasculopathie héréditaire. L'étude de ces altérations vasculaires peut être réalisée chez l'animal (rat, souris, gerbille, singes, lapins) par de brèves périodes d'ischémies globales, par une hypoperfusion globale chronique, par des infarctus multiples, par des modifications génétiques menant à des vasculopathies généralisées et à l'athérosclérose, par l'induction de diabète, d'hyperhomocystéinémie ou d'hypertension. Les lésions observées sont bien souvent des micro-infarctus, des microhémorragies des lésions de la matière blanche, une mort neuronale de l'hippocampe, une inflammation et sont associées chez les animaux à des déficits de la mémoire de travail et de référence.

Modèles de démence vasculaire chez l'animal	Altérations vasculaires cérébrales
Modèle de démence vasculaire ischémique sous-corticale : <ul style="list-style-type: none"> • sténose bilatérale de l'artère carotide commune (BCAS) (Bink et al 2013, Gooch & Wilcock 2016) • sténose asymétrique de l'artère carotide commune (ACAS) (Gooch & Wilcock 2016) 	Microhémorragies, micro-infarctus, rupture de la BHE, lésions de la matière blanche, hypoperfusion (Bink et al 2013, Nakaji et al 2006)
Modèle d'ischémie cérébrale et de neurodégénérescence : Modèle d'occlusion des vaisseaux (Gooch & Wilcock 2016, Neto et al 2005) (occlusion de 2 vaisseaux (2-VO), 3 vaisseaux (3-VO) et occlusion transitoire à 4 vaisseaux (4-VO))	Hypoperfusion cérébrale, micro-infarctus, lésions de la matière blanche (Gooch & Wilcock 2016)
Modèle d'infarctus multiples et de thromboembolie : Injection de microembolies (cristaux/ microsphères ou microbilles/ thrombi de cholestérol de 40 à 100 µm) dans l'artère carotide interne (Jiwa et al 2010)	Altération de la BHE, micro-infarctus, hypoperfusion (Gooch & Wilcock 2016)
Modèle transgénique de CADASIL : <ul style="list-style-type: none"> • mutation de Notch3 (Cognat et al 2014) • TgPACNotch3R^{169C} (Hainsworth & Markus 2008) et Notch3Arg^{170Cys} (Wallays et al 2011) 	Microhémorragies, lésions de la matière blanche, infarctus, dégénérescence progressive des CMLV (Cognat et al 2014, Hainsworth & Markus 2008, Wallays et al 2011)
Modèles utilisant les facteurs de risque cardiovasculaires pour induire la démence	Altération cérébrovasculaires
<ul style="list-style-type: none"> • Modèle de régime alimentaire riche en graisses (High Fat Diet) : (Winocur & Greenwood 2005) 	Rupture de la BHE ((Winocur & Greenwood 2005)

<ul style="list-style-type: none"> • Modèle d'hypertension : constriction aortique transverse (Rockman et al 1991), infusion d'Ang II (Foulquier et al 2018), rats hypertendus spontanément prédisposés aux accidents vasculaires cérébraux (SHRSP) (Yamori et al 1976) 	Hypoperfusion cérébrale, remodelage des microvaisseaux cérébraux, altération et/ou rupture de la BHE, diminution de la réactivité cérébrovasculaire, microhémorragies, lésions de la matière blanche, infarctus
<ul style="list-style-type: none"> • Modèle d'athérosclérose : Réalisé génétiquement LDLr^{-/-}, LDLr^{-/-} x hApoB, ApoB100/LDLr^{-/-}, ApoE^{-/-} (Bink et al 2013) 	Hypoperfusion cérébrale, diminution de la réactivité cérébrovasculaire, microhémorragies, altération structurelle des microvaisseaux, rupture de la BHE (Bink et al 2013)
<ul style="list-style-type: none"> • Modèle de rigidité artérielle : • Calcification aortique (Iulita et al 2018) 	Diminution de la réactivité cérébrovasculaire, découplage neurovasculaire, hypoperfusion cérébrale.
<ul style="list-style-type: none"> • Modèle de diabète de type 1 ou 2 (T1DM, T2DM) : (Gooch & Wilcock 2016, Huber et al 2006) 	Rupture de la BHE.
<ul style="list-style-type: none"> • Modèle d'hyperhomocystéinémie : Réalisé génétiquement par suppression des gènes de la cystathionine bêta-synthase ou de la méthylène tétrahydrofolate réductase, ou par modification du régime alimentaire (déficience en vitamines B6, B12 et B9 et supplémenté en méthionine) (Gooch & Wilcock 2016). 	Microhémorragies, micro-infarctus, rupture de la BHE, lésions de la matière blanche (Gooch & Wilcock 2016).

(VCI : déficience cognitive vasculaire, BHE : barrière hémato-encéphalique).

1.4.4 Coexistence des 2 démences et perspectives de recherche sur la démence

Selon la quatrième édition du « Manuel de diagnostic des troubles mentaux », la présence de pathologie cérébrovasculaire chez un individu atteint de démence excluait auparavant le diagnostic de la MA et, alternativement, le trouble était incontestablement classé comme une démence de type vasculaire, donc une VCI (Association 1994). Cependant, de nos jours, une véritable distinction entre le diagnostic de la MA et de la VCI est ambiguë étant donné que les deux troubles présentent des caractéristiques cliniques, des facteurs de risque, une neuropathologie et des changements hémodynamiques communs (Iadecola 2013). À mesure que la maladie progresse, les deux composantes (vasculaires ou neurodégénérative) deviennent de moins en moins distinctes. C'est ainsi qu'une forte proportion d'individus remplissant les critères neuropathologiques du diagnostic de la MA présentent également des lésions cérébrovasculaires importantes et que les patients atteints de démence vasculaire

développent des caractéristiques propres à la MA (Attems & Jellinger 2014, Kalaria & Ballard 1999, Ravona-Springer et al 2003, Viswanathan et al 2009). D'ailleurs, de nombreuses données ont suggéré que l'occurrence de la démence vasculaire «pure» est rare (pour revue (Jellinger & Attems 2010)). Il a ainsi été rapporté chez l'homme que 50% des cas de démences sont caractérisés à la fois par des lésions cérébrovasculaires et des lésions histopathologiques typiques de la MA (Jellinger, 2013). Les lésions vasculaires comprennent la présence d'athérosclérose au niveau des artères du cercle de Willis, une leucoaraïose, des infarctus lacunaires, des microhémorragies, des micro-infarctus et la présence de CAA (Jellinger 2013). Des régions ischémiques dues à une hypoperfusion sont également incluses (Iadecola 2013).

Ainsi, le terme de « **démence mixte** » a été introduit et correspond au diagnostic d'une pathologie de « la maladie d'Alzheimer et les infarctus cérébraux contribuant à la démence » (Hachinski 1990). La MA et la VCI représentent ainsi des pathologies dans lesquelles des facteurs vasculaires et non vasculaires coexistent à des degrés divers. Dans certains cas, le processus pathogène initial pourrait être induit par la toxicité du peptide A β , tandis que dans d'autres cas, l'ischémie est le principal processus neurodégénératif (Iadecola & Gorelick 2003). Selon un modèle additif et/ou synergique, l'effet global sur la dégradation des fonctions cognitives résulterait de la combinaison de la pathologie vasculaire et neurodégénérative (Iadecola 2013). Autrement dit, dans de nombreux cas, la combinaison des deux pathologies provoque la démence, alors que de façon individuelle les pathologies ne l'auraient pas provoquée. D'ailleurs, cet effet synergique est retrouvé dans les modèles animaux, comme par exemple dans la combinaison d'un modèle de démence vasculaire (modèle de BCAS) à un modèle transgénique de la MA qui accélère la pathologie vasculaire et celle de la MA (Gooch & Wilcock 2016). Malgré la prise de conscience que la plupart des cas de démence ont des caractéristiques pathologiques mixtes (Alzheimer et VCI), il reste difficile d'identifier si les dommages vasculaires sont causals ou consécutifs à la dégénérescence du tissu neural. Un certain nombre de scientifiques supportent la causalité des lésions cérébrovasculaires dans l'incidence de la MA (pour revues, ((Nation et al 2019, Nelson et al 2016, Stone et al 2015, Sweeney et al

2018a, Sweeney et al 2019, Sweeney et al 2018b, Zlokovic 2005, Zlokovic 2008)); les plaques A β , les enchevêtrements neurofibrillaires, l'inflammation, le stress oxydant et la dégénérescence observés dans la MA se produiraient en conséquence de la pathologie cérébrovasculaire (Tublin et al 2019). De plus, l'impact cognitif de la neuropathologie vasculaire et de la MA dépend de la gravité de la MA et de la localisation des lésions vasculaires (Gold et al 2007). Néanmoins, dans certains cas avancés de la MA, les lésions vasculaires n'auront pas d'influence majeure sur la progression des déficits cognitifs (Chui et al 2006, Jellinger 2001). De façon critique, comme cela a été soulevé par Hachinski, les maladies cérébrovasculaires et la MA étant communes chez les personnes âgées, la coexistence des deux pathologies pourrait simplement être une coïncidence (Hachinski 2011) et ne pas avoir de lien entre elles. Il faut également noter que d'autres pathologies co-existantes à la MA sont également courantes, telles que la maladie de Parkinson (chez environ 20% des patients atteints de MA) et la démence à corps de Lewy (jusqu'à 50% des patients) (Enciu et al 2011).

Devant la reconnaissance de la contribution des mécanismes cérébromicrovasculaires dans le déclin cognitif et de la coexistence des 2 types de démences, le terme « **contributions vasculaires à la déficience cognitive et démence** » (**VCID**) a été proposé (Corriveau et al 2016, Gorelick et al 2011, Snyder et al 2015) (Figure 24). Le concept de VCID implique qu'un large éventail de maladies vasculaires liées à l'âge (y compris les AVC, les micro-infarctus, les microhémorragies, la leucoaraïose et la CAA) peuvent favoriser les troubles cognitifs chez les patients âgés (Toth et al 2017). Le VCID constitue ainsi un groupe hétérogène de troubles cognitifs attribuables à des causes vasculaires, dont les altérations vasculaires ont des bases pathogènes similaires, caractérisées par du stress oxydant et de l'inflammation, une dysfonction endothéliale, une dégradation de la BHE et la perturbation du couplage entre les cellules vasculaires et cérébrales, résultant en une hypoperfusion cérébrale.

Malgré des progrès significatifs dans la compréhension de la pathogénèse de la démence, les causes réelles du VCID chez les personnes touchées restent inconnues. De plus, en raison de la coexistence fréquente de la MA avec le diagnostic de VCI, il peut être difficile

d'adopter la meilleure approche thérapeutique (Wang et al 2012). Cependant, contrairement à l'âge et aux antécédents génétiques, les facteurs de risque vasculaires sont modifiables, notamment par le biais de modifications de la gestion et du style de vie (pour revue, voir (Iadecola 2013, Iulita & Girouard 2017, Kalaria 2010)) et il est donc proposé que la compréhension des mécanismes biologiques du VCID et leur ciblage thérapeutique puissent avoir un impact positif sur la santé publique (Corriveau et al 2016). Cibler les facteurs de risque vasculaires offre donc d'une part, la perspective de développer de nouveaux biomarqueurs futurs essentiels pour identifier de façon pré-clinique les patients à risque de démence et d'autre part, en l'absence de traitements efficaces contre les maladies neurodégénératives comme la MA, l'approche vasculaire apparaît comme étant une nouvelle cible préventive et thérapeutique abordable.

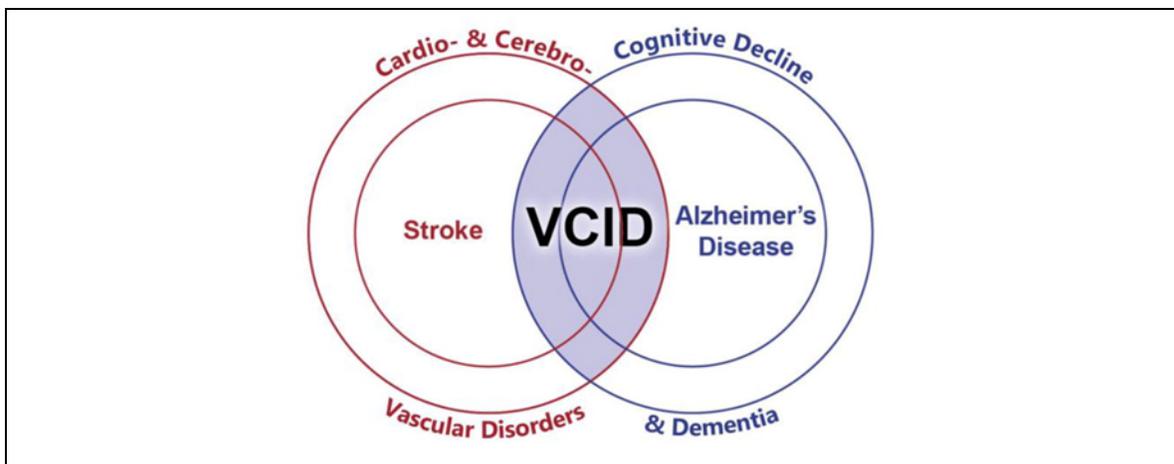


Figure 24 : Schématisation des contributions vasculaires à la déficience cognitive et à la démence.

D'après (Corriveau et al 2016). Les maladies cardio et cérébrovasculaires entraînant des AVC suivis de démence et l'altération vasculaire étant présente dans la maladie d'Alzheimer, le déficit cognitif et la démence semblent résulter de dysfonctions vasculaires. Le VCID constitue ainsi un groupe hétérogène de troubles cognitifs attribuables à des causes vasculaires, dont la MA, les AVC, les microinfarctus, les microhémorragies, la leucoaraïose et l'angiopathie amyloïde cérébrale (VCID : contributions vasculaires à la déficience cognitive et à la démence, AVC : accident vasculaire cérébral, MA : maladie d'Alzheimer).

En résumé de cette introduction, et comme cela est représenté de façon récapitulative dans la figure 25, le vieillissement augmente la PP centrale et favorise sa pénétration dans la microcirculation cérébrale, modifiant à la fois la structure et la fonction vasculaire des artères piales. C'est notamment l'altération du mécanisme

cellulaire et moléculaire mécano-sensible induit par l'augmentation de la pression dans la paroi vasculaire cérébrale qui rend la microcirculation distale du cerveau vieillissant vulnérable à l'augmentation de la PP. La PP a ainsi un impact délétère sur la fonction et sur l'intégrité des microvaisseaux cérébraux, pouvant notamment entraîner des microhémorragies (Figure 25). De plus, l'augmentation de la PP est associée à la production accrue au niveau vasculaire de stress oxydant, d'inflammation cérébrale et de sénescence (Figure 25) ayant des répercussions au niveau des cellules du compartiment neuronal, perturbant ainsi le couplage neurovasculaire dont le déséquilibre se traduit par la rupture de la BHE et une diminution du DSC (Figure 25). L'ensemble des modifications modèle un environnement hypoxique et toxique pour l'ensemble de l'unité neurovasculaire et conduit progressivement à un déclin de l'homéostasie cérébrale, dont le déclin des fonctions cognitives (Figure 25). Le déclin cognitif qui résulte donc de la détérioration des fonctions vasculaires à la fois périphériques et cérébrales et de la fonction cérébrale, se manifeste progressivement avec l'âge vers un état pathologique pouvant entraîner le diagnostic de la MA, de la VCI ou de la démence mixte. Au cours du vieillissement, l'incidence de la pathologie cérébrale est notamment influencée par la présence des facteurs de risque des MCV qui ciblent et altèrent la fonction vasculaire, accélérant et amplifiant alors la survenue des déficits cognitifs.

À ce jour, l'ensemble de la cascade d'événements pathologiques découlant de l'hypothèse biomécanique de l'effet destructeur de la PP, avec l'âge et en association avec des facteurs de risque vasculaires (Figure 25), n'a néanmoins jamais été démontrée de façon continue dans un seul et même modèle.

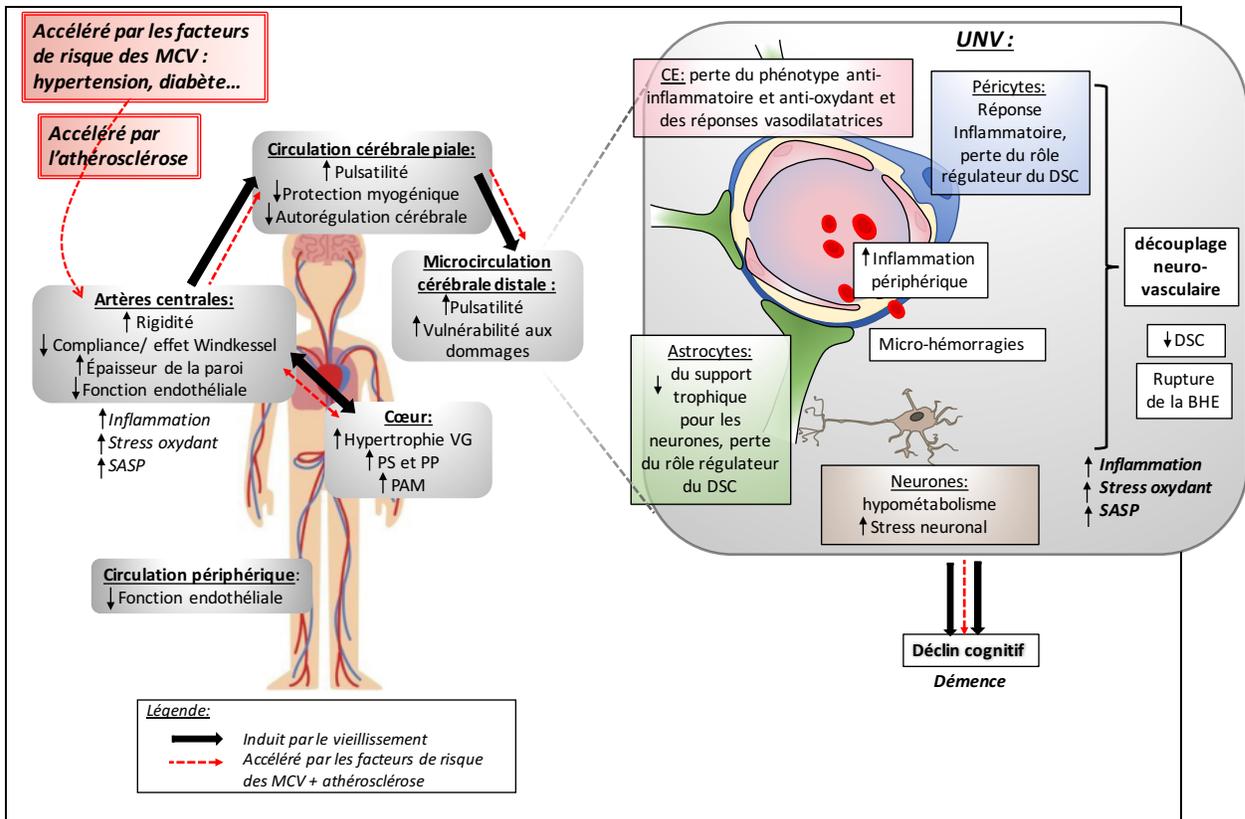


Figure 25 : Représentation schématique et récapitulative de l'impact des changements cardio- et cérébro-vasculaires sur le cerveau, au cours du vieillissement et en association avec des facteurs de risque vasculaires.

Adapté de (Tarumi & Zhang 2018). Le vieillissement artériel est caractérisé par une augmentation de la rigidité artérielle centrale, diminuant la complaisance et ainsi l'effet Windkessel des artères élastiques. Cette perte d'élasticité de la paroi artérielle augmente la vitesse de propagation de l'onde de pouls vers la périphérie et de celle des ondes de réflexion, dont le retour prématuré dans l'aorte entraîne une augmentation de la pression systolique centrale. De plus, la perte d'élasticité des artères élastiques augmente l'amplification de la PP et sa propagation au niveau cérébral, ayant un effet destructeur sur l'autorégulation cérébrale, notamment via l'altération du mécanisme myogénique assurant la protection de la microcirculation cérébrale distale. La microcirculation cérébrale se retrouve alors anormalement exposée à la PP, ce qui conduit à une perturbation de l'homéostasie de l'unité neurovasculaire, notamment via une altération fonctionnelle et structurelle des cellules du cerveau et via la génération d'un phénotype inflammatoire, de stress oxydant et de sénescence des cellules vasculaires et gliales. Ces altérations ciblant chacun de ses constituants, un découplage fonctionnel de l'unité neurovasculaire s'effectue et se traduit par une rupture de la BHE, des microhémorragies, une diminution du DSC, un hypométabolisme neuronal et un haut taux de stress neuronal, conduisant progressivement à un déclin des fonctions cognitives. Le cerveau étant vulnérable à l'accumulation des lésions vasculaires et du tissu cérébral, il peut progressivement évoluer vers un état clinique de démence. En association avec les facteurs de risque des MCV, l'ensemble des modifications cardio- et cérébro-vasculaires et cérébrales se retrouvent accélérées ou exacerbées avec l'âge, précipitant l'incidence du déclin cognitif et de la démence vasculaire (BHE : barrière hémato-encéphalique, CE : cellules endothéliales, MCV : maladie cardiovasculaire, UNV : unité neurovasculaire, SASP : phénotype sécrétoire associé à la sénescence, PS : pression systolique, PP : pression pulsée, PAM : pression artérielle moyenne).

2 RECHERCHE SCIENTIFIQUE : HYPOTHÈSE ET OBJECTIFS DE RECHERCHE

2.1 Contexte scientifique

Il est maintenant reconnu que les atteintes cérébrovasculaires et la présence de facteurs de risque des MCV sont impliquées dans la pathogenèse de nombreux types de démence, affectant à la fois l'incidence et l'évolution du déclin cognitif (de la Torre 2002, Gorelick et al 2011, Sweeney et al 2018a, Sweeney et al 2019, Tublin et al 2019). Dans le concept selon lequel des altérations du système vasculaire précèdent les troubles neurodégénératifs, les événements et mécanismes pathologiques qui se produisent dans le cerveau avec le vieillissement ne sont que partiellement caractérisés. Le mécanisme commun aux pathologies vasculaires et neurologiques, dans l'incidence des troubles cognitifs, pourrait être l'augmentation de la PP avec l'âge (comme schématisé dans la figure 25). En effet, l'hypothèse biomécanique avance le rôle de l'augmentation de la PP dans l'incidence du déclin cognitif via des dommages cérébrovasculaires. De plus, l'association des facteurs de risque des MCV amplifierait les dommages vasculaires liés au vieillissement, conduisant à une incidence précoce des troubles cognitifs. Notamment, les facteurs de risque des MCV étant également communs avec ceux de la MA (de la Torre 2004b), l'augmentation de la PP avec l'âge pourrait ainsi révéler l'incidence et/ou le développement de démence (notamment la MA) chez des personnes à risque (Stone, 2015; Faraco, 2013). Néanmoins, la cascade d'événements pathologiques découlant de l'effet destructeur de la PP, avec l'âge et en association avec des facteurs de risque vasculaires, n'a jamais été démontrée de façon continue.

2.2 Problématique de recherche

Le lien entre l'augmentation de la PP cérébrale, les facteurs de risque vasculaires, les dommages cérébrovasculaires et l'incidence de la démence reste à être plus clairement investigué. La problématique de recherche est schématisée dans la figure 26 : d'une part, l'amplitude de la PP augmente au cours du vieillissement et que son augmentation est amplifiée par les facteurs de risque des MCV. D'autre part, il est connu qu'au cours du vieillissement, il y a augmentation de l'incidence de maladies

cardiovasculaires et neurologiques, incidence qui est d'ailleurs influencée par les facteurs de risque vasculaires. Ces pathologies sont associées au déclin cognitif et sont caractérisées par des lésions vasculaires cérébrales. **Quel est donc le rôle de l'augmentation de l'amplitude de la PP au cours du vieillissement, et en association avec des facteurs de risque vasculaires, dans l'altération des fonctions cérébrovasculaires et dans l'incidence de la démence ?**

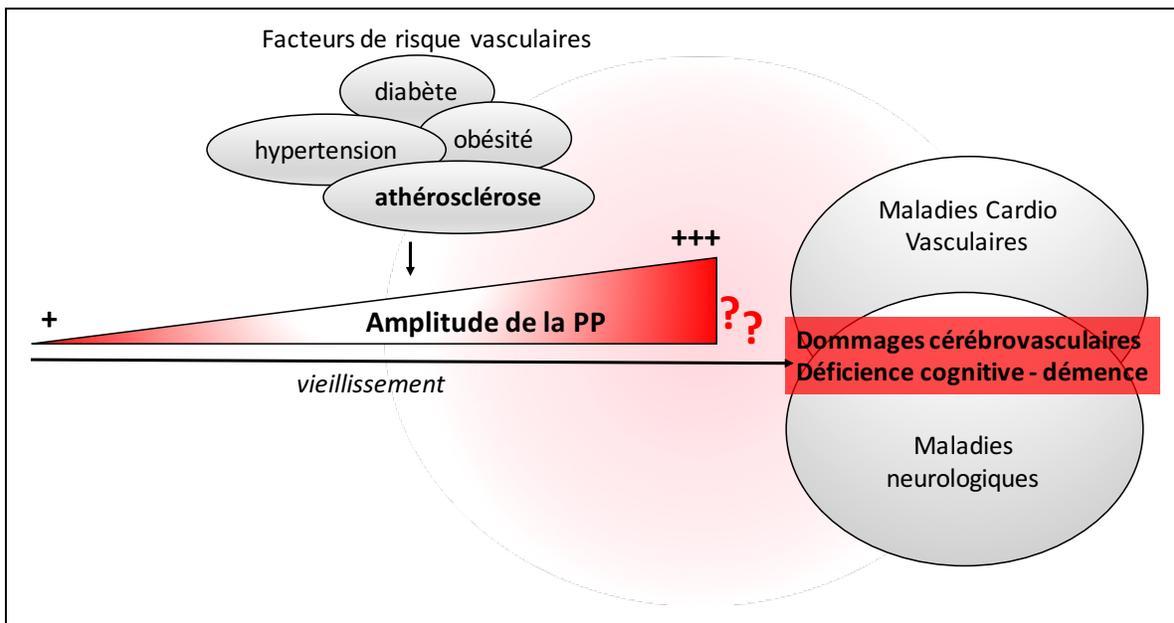


Figure 26 : Schématisation de la réflexion dans la mise en place du projet de recherche

2.3 Objectifs de recherche :

Afin de répondre à notre problématique, nous avons ainsi entrepris deux études chez la souris, visant à :

- 1) Etudier l'impact de l'augmentation de la pression pulsée dans le cerveau, en présence ou non de facteurs de risque des MCV, sur les fonctions vasculaires et cognitives
- 2) Caractériser au niveau cellulaire et moléculaire les dommages cérébrovasculaires, cérébraux et cognitifs.

2.4 ÉTUDE #1 :

2.4.1 Contexte :

L'endothélium est un acteur clé dans l'homéostasie vasculaire, particulièrement au niveau cérébral où il contribue à la fonctionnalité de l'UNV, au maintien de la BHE et du DSC (Iadecola 2004). La fonction vasculaire endothéliale cérébrale est régulée par des faibles valeurs optimales de PP (Raignault et al 2017). Chez un sujet sain de 30 ans, l'amplitude de la PP centrale est d'environ 30 mm Hg (Diaz et al 2014). Avec l'âge, la PAS et la PAD augmentent de façon linéaire (Franklin et al 1997). Or, à partir de 60 ans, seule la PAS continue à augmenter progressivement et cet état hémodynamique est défini comme étant de l'hypertension systolique isolée (Franklin 2006). Par définition, ce type d'hypertension systolique isolée correspond à une augmentation de l'amplitude de la PP (Franklin 2006) et est associée au déclin cognitif et à la démence chez les personnes âgées (O'Rourke & Hashimoto 2007). Il est rapporté que l'amplitude de la PP augmente également dans la circulation cérébrale d'individus âgés (Zarrinkoob et al 2016). Les deux principaux types de démence chez les personnes âgées sont la forme sporadique de la MA et la VCI. Traditionnellement considérées comme deux pathologies distinctes, elles partagent néanmoins des caractéristiques communes (Attems & Jellinger 2014, Iadecola 2010), dont une diminution des fonctions de dilatation et de barrière endothéliales (Iadecola 2013). Globalement, ces données suggèrent que le système vasculaire cérébral, et en particulier l'endothélium, est une cible critique pathologique du stress mécanique de l'augmentation de la PP et que son dysfonctionnement serait impliqué dans le développement et la progression des deux types de démence via un dysfonctionnement de son rôle régulateur de l'unité neurovasculaire.

2.4.2 Hypothèse :

Une augmentation anormale de la pulsativité dans le cerveau entraîne un stress mécanique endothélial microvasculaire et endommage l'unité neurovasculaire, contribuant à augmenter l'incidence des déficits cognitifs.

2.4.3 Approche expérimentale :

Nous avons utilisé le modèle chirurgical d'hypertension systolique isolée obtenu par constriction aortique transverse (TAC) (Rockman et al 1991) pendant 6 semaines, dans lequel la surcharge en PP dans la carotide droite (coté « ipsilatéral ») est susceptible de se propager à la circulation cérébrale de l'hémisphère droit et, dans une moindre mesure, à l'hémisphère controlatéral. Cette chirurgie TAC a été réalisée chez des souris témoins (WT) C57Bl/6 jeunes âgées de 4,5 mois et également chez des souris APP/PS1 (âgées de 4,5 mois), un modèle transgénique représentatif de la MA (Radde et al 2006). Toutes les expériences ont été réalisées après 6 semaines de constriction, soit chez les souris âgées de 6 mois.

2.4.4 Objectifs

Les objectifs de l'étude #1 étaient les suivants (Figure 27) :

- 1)** Démontrer que le modèle de TAC est associé à un phénotype de déclin cognitif chez la souris WT adulte qui ne présente pas de déficit des fonctions cognitives à cet âge ;
- 2)** Caractériser l'impact délétère de l'augmentation de la PP sur les composantes fonctionnelles et structurelles cérébrovasculaires, ainsi que sur les marqueurs d'inflammation cérébrale chez la souris WT ;
- 3)** Confirmer le rôle néfaste de l'augmentation de la PP dans l'incidence de la démence en démontrant que celle-ci accélère la progression de la pathologie dans le modèle APP/PS1 ;
- 4)** Démontrer dans le modèle APP/PS1, que la pathologie amyloïde est associée avec des altérations vasculaires cérébrales, afin de renforcer la contribution du dysfonctionnement vasculaire dans l'établissement des déficits neuronaux et cognitifs.

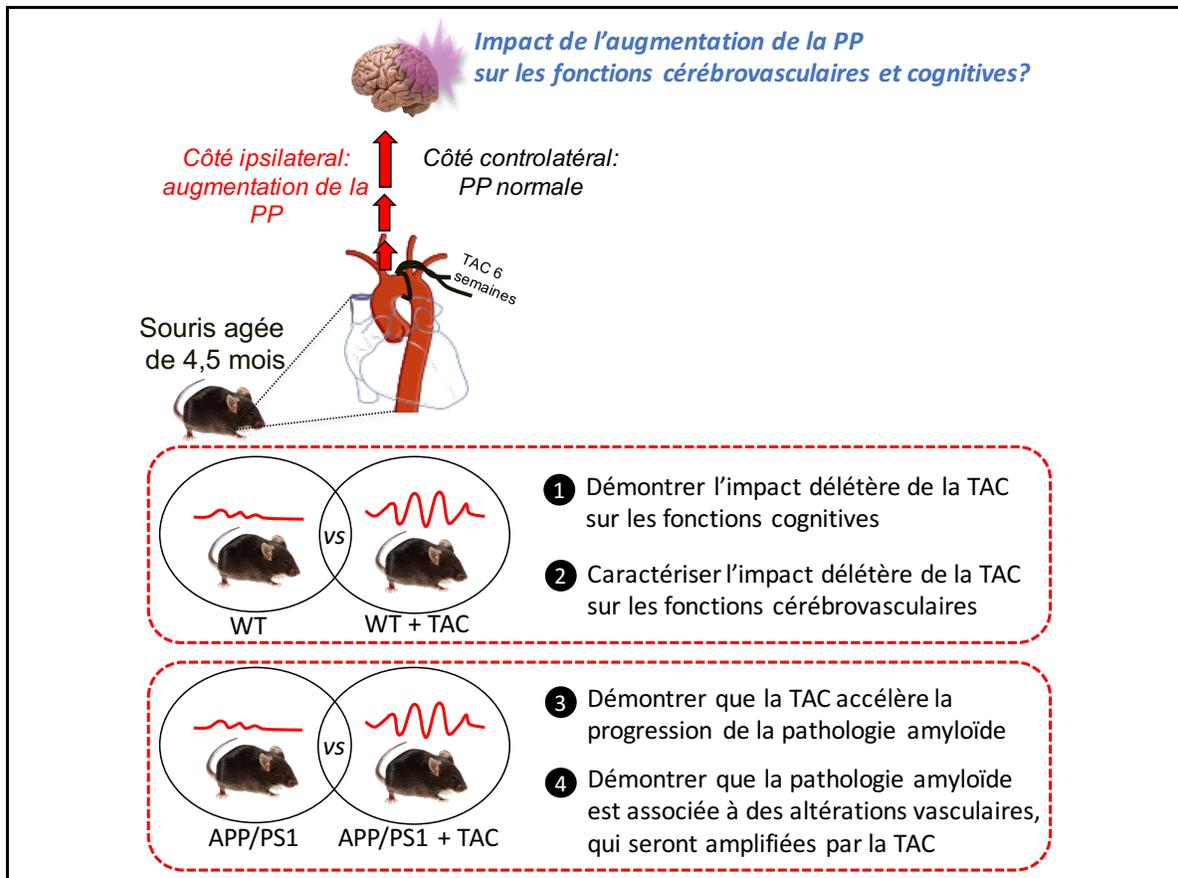


Figure 27 : Schématisation des objectifs de l'étude #1

2.5 ÉTUDE #2 :

2.5.1 Contexte :

L'âge est le facteur de risque le plus puissant dans le développement de la démence (Enciu et al 2011). De façon co-existante à l'âge, les facteurs de risque des MCV, tels que l'hypertension, l'athérosclérose, le diabète, un haut taux de cholestérol, ont également été associés avec l'incidence et/ou la progression du déclin cognitif (de la Torre 2012, DeCarli 2012, Gorelick et al 2011, Hughes & Sink 2016, Iadecola 2013). Ces facteurs de risque des MCV ont un impact délétère sur la vasculature, particulièrement l'athérosclérose qui se développe lors de la dysfonction endothéliale liée au vieillissement, et peut se manifester au niveau des artères périphériques et cérébrales. Selon un cercle vicieux, l'endothélium se retrouve plus fortement endommagé et l'athérosclérose contribue ainsi à l'amplification de l'élévation de la PP centrale (Dart & Kingwell 2001). Une atteinte de la vasculature aura donc des répercussions au niveau cérébral, notamment via la propagation de la PP, où l'on sait que la fonctionnalité et l'intégrité de l'UNV sont critiques au maintien de l'homéostasie cérébrale et cognitive (Girouard & Iadecola 2006, Iadecola 2004).

2.5.2 Hypothèse :

En association avec des facteurs de risque cardiovasculaires comme l'athérosclérose, la vasculature est plus susceptible d'être fortement endommagée, amplifiant l'effet délétère de la PP et conduisant à l'altération de l'homéostasie neurovasculaire et à un déclin cognitif précoce.

2.5.3 Approche expérimentale :

Nous avons utilisé le modèle de souris $LDLr^{-/-}:hApoB_{100}^{+/+}$ (souris ATX) gravement dyslipidémiques, qui développent spontanément des lésions athérosclérotiques dès l'âge de 6 mois (Farhat et al 2013) et une dysfonction endothéliale périphérique et cérébrale dès 3 mois (Drouin et al 2011c, Gendron et al 2010). Ce modèle représente ainsi le profil vasculaire d'un adulte âgé et les lésions caractéristiques de

l'athérosclérose. Ce modèle nous permet d'étudier l'impact de la dysfonction vasculaire sur l'homéostasie cérébrale. D'ailleurs, une étude antérieure du laboratoire a démontré que les souris ATX présentaient des déficits cognitifs dès l'âge de 6 mois (Drouin et al 2011b), appuyant l'hypothèse de l'altération des fonctions cognitives en présence d'une pathologie vasculaire. Cependant, une caractérisation fonctionnelle et structurale plus poussée sur le cerveau n'avait pas été entreprise dans cette étude. Dans notre étude, les souris ont été étudiées à l'âge de 12 mois, avec en parallèle des souris WT témoins du même âge. Les souris ont également été soumises à un stress aigu vasculaire par chirurgie TAC, à l'âge de 10,5 mois, pendant 6 semaines.

2.5.4 Objectifs

Les objectifs de l'étude #2 étaient les suivants (Figure 28) :

- 1) Caractériser l'impact du phénotype ATX sur les performances cognitives ;
- 2) Caractériser l'impact du phénotype ATX sur la fonctionnalité de l'unité neurovasculaire ;
- 3) Démontrer que l'addition d'un stress vasculaire entraîne des altérations vasculaires et cognitives chez les souris WT témoins qui seront exacerbées chez les souris ATX.

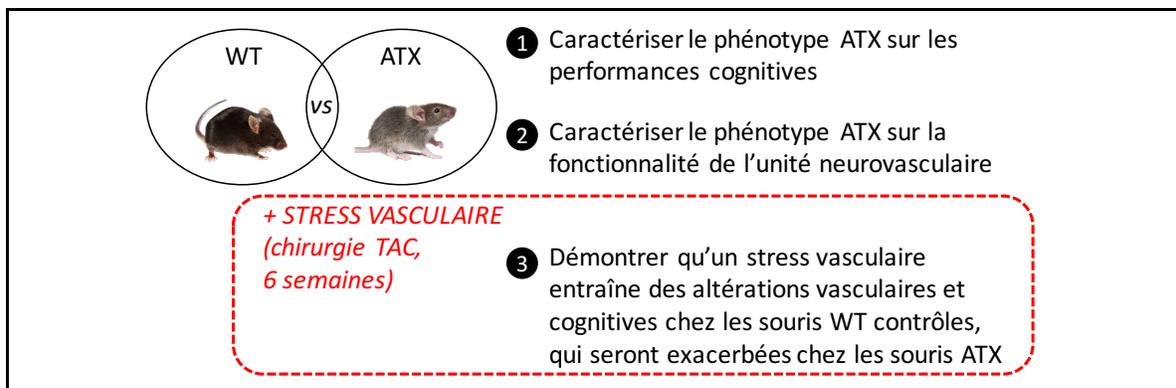


Figure 28 : Schématisation des objectifs de l'étude #2

2.6 Articles originaux issus des études #1 et #2

2.6.1 ARTICLE #1

Titre :

High Systolic Blood Pressure Induces Cerebral Microvascular Endothelial Dysfunction, Neurovascular Unit Damage, and Cognitive Decline in Mice

Statut :

Accepté pour publication le 16 octobre 2018 et publié en ligne le 12 novembre 2018 dans *Hypertension* (Hypertension. 2019 Jan;73(1):217-228).

PMID: 30571552

Apport original et contribution des co-auteurs :

Olivia de Montgolfier : a conçu le projet, génotypé les souris, a effectué l'assistance aux chirurgies des souris et aux scans d'IRM, a effectué le suivi post-opératoire des souris, a conçu et réalisé toutes les expériences, analysé les données, interprété les résultats, réalisé les statistiques, préparé les figures, rédigé le manuscrit et a approuvé la version finale du manuscrit.

Anthony Pinçon : a aidé à la mise en place des expériences de comportement, a aidé à l'interprétation des résultats, a édité le manuscrit et a approuvé la version finale du manuscrit.

Philippe Pouliot : a réalisé les scans et les analyses d'IRM et a approuvé la version finale du manuscrit.

Marc-Antoine Gillis : a réalisé la chirurgie TAC, l'injection transcardiaque du bleu d'Evans, a effectué les mesures de pression Millar et a approuvé la version finale du manuscrit.

Jonathan Bishop : a aidé à la mise en place des scans d'IRM et aux analyses et a approuvé la version finale du manuscrit.

John G. Sled : a aidé à la mise en place des scans d'IRM et aux analyses et a approuvé la version finale du manuscrit.

Louis Villeneuve : a effectué les acquisitions au microscope confocal du marquage à la Thioflavin-S, a formé Olivia de Montgolfier au microscope confocal et a approuvé la version finale du manuscrit.

Guylaine Ferland : a fourni l'expertise pour les expériences de comportement, a édité le manuscrit et a approuvé la version finale du manuscrit.

Bernard I. Lévy : a fourni la lignée de souris APP/PS1, a édité le manuscrit et a approuvé la version finale du manuscrit.

Frédéric Lesage : a fourni de l'expertise pour les expériences d'IRM, a édité le manuscrit et a approuvé la version finale du manuscrit.

Nathalie Thorin-Trescases: a interprété les résultats, aidé à la réalisation des statistiques, édité le manuscrit et a approuvé la version finale du manuscrit.

Éric Thorin : a conçu et financé le projet, contribué à interpréter les résultats, édité le manuscrit et a approuvé la version finale du manuscrit.

High Systolic Blood Pressure Induces Cerebral Microvascular Endothelial Dysfunction, Neurovascular Unit Damage, and Cognitive Decline in Mice

Olivia de Montgolfier, Anthony Pinçon, Philippe Pouliot, Marc-Antoine Gillis, Jonathan Bishop, John G. Sled, Louis Villeneuve, Guylaine Ferland, Bernard I. Lévy, Frédéric Lesage, Nathalie Thorin-Trescases, Éric Thorin

Abstract—A chronic and gradual increase in pulse pressure (PP) is associated with cognitive decline and dementia in older individuals, but the mechanisms remain ill-defined. We hypothesized that a chronic elevation of PP would cause brain microvascular endothelial mechanical stress, damage the neurovascular unit, and ultimately induce cognitive impairment in mice, potentially contributing to the progression of vascular dementia and Alzheimer disease. To test our hypothesis, male control wild-type mice and Alzheimer disease model APP/PS1 (amyloid precursor protein/presenilin 1) mice were exposed to a transverse aortic constriction for 6 weeks, creating a PP overload in the right carotid (ipsilateral). We show that the transverse aortic constriction procedure associated with high PP induces a cascade of vascular damages in the ipsilateral parenchymal microcirculation: in wild-type mice, it impairs endothelial dilatory and blood brain barrier functions and causes microbleeds, a reduction in microvascular density, microvascular cell death by apoptosis, leading to severe hypoperfusion and parenchymal cell senescence. These damages were associated with brain inflammation and a significant reduction in learning and spatial memories. In APP/PS1 mice, that endogenously display severe cerebral vascular dysfunctions, microbleeds, parenchymal inflammation and cognitive dysfunction, transverse aortic constriction–induced high PP further aggravates cerebrovascular damage, A β (beta-amyloid) accumulation, and prevents learning. Our study, therefore, demonstrates that brain microvessels are vulnerable to a high PP and mechanical stress associated with transverse aortic constriction, promoting severe vascular dysfunction, disruption of the neurovascular unit, and cognitive decline. Hence, chronic elevated amplitude of the PP could contribute to the development and progression of vascular dementia including Alzheimer disease. (*Hypertension*. 2019;73:00-00. DOI: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.118.12048.) • [Online Data Supplement](#)

Key Words: Alzheimer disease ■ apoptosis ■ cognitive dysfunction ■ inflammation ■ microvessels ■ senescence

There are 2 major types of dementia in the elderly:¹ sporadic Alzheimer disease (AD) is the most common form, whereas a vascular contribution to neuronal damage, cognitive impairment, and finally to dementia has been proposed and referred to as vascular cognitive impairment and dementia (VCID).² AD is characterized by the neuropathological presence of extracellular A β (beta-amyloid) deposits and intraneuronal aggregates of the hyperphosphorylated microtubule-associated protein tau (neurofibrillary tangles);³ they are presumed to cause the neurodegenerative process.⁴ VCID results from chronic exposure to risk factors for cardiovascular diseases, such as hypertension, diabetes mellitus, dyslipidemia, or is the consequence of pathological events, such as cerebral ischemia, stroke, and arteriosclerosis.⁵ Traditionally

considered as 2 distinct pathological conditions, recent evidences point toward an overlap between AD and VCID.⁵ First, it has been shown that both disorders share common vascular risk factors.⁶ Second, brains from AD patients share some vascular impairments found in VCID, such as vascular dysfunction, decrease in cerebral blood flow, inflammation, and ischemia.⁷ Third, a common feature of the 2 conditions is a decrease in endothelial dilatory and barrier functions.⁸ Altogether, these data suggest that the cerebral vasculature, and specifically the endothelium, is a critical target and that its dysfunction could trigger the development and progression of both types of dementia.

In physiological conditions, blood flows in an oscillatory waveform, creating a pulse pressure (PP) that propagates along

Received August 31, 2018; first decision September 17, 2018; revision accepted October 16, 2018.

From the Department of Pharmacology and Physiology (O.d.M., A.P.), Department of Nutrition (G.F.), and Department of Surgery (E.T.), Université de Montréal, Quebec, Canada; Montreal Heart Institute, Research Center, Quebec, Canada (O.d.M., A.P., M.-A.G., L.V., G.F., F.L., N.T.-T., E.T.); Ecole Polytechnique de Montréal, Quebec, Canada (P.P., F.L.); Mouse Imaging Centre, The Hospital for Sick Children, Toronto, Ontario, Canada (J.B., J.G.S.); Department of Medical Biophysics, University of Toronto, Ontario, Canada (J.G.S.); and Institut des Vaisseaux et du Sang, Hôpital Lariboisière, Paris, France (B.L.L.).

The online-only Data Supplement is available with this article at <https://www.ahajournals.org/doi/suppl/10.1161/HYPERTENSIONAHA.118.12048>.

Correspondence to Éric Thorin, Montreal Heart Institute, Research center, Montreal, Quebec, 5000 rue Bélanger Est, HIT 1C8, Canada. Email eric.thorin@umontreal.ca

© 2018 American Heart Association, Inc.

Hypertension is available at <https://www.ahajournals.org/journal/hyp>

DOI: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.118.12048

the circulation and contributes to the regulation of the cerebrovascular endothelial function and brain perfusion.^{9,10} It has been proposed that because of the age-related stiffening of the aorta and great arteries, the amplitude of the PP increases, facilitating the penetration of the PP wave deeper into the fragile cerebral microcirculation, promoting brain damage.^{11,12} This scenario is at the origin of the biomechanical hypothesis of neuronal damage developing with age.¹³ In aging humans, a chronic increase in PP has been independently associated with cognitive decline¹⁴ and dementia¹⁵ (reviewed in¹⁰). Whether an increase in PP could cause VCID is not clear. Here, we propose to test the hypothesis that an abnormal increase in pulsatility translates into cerebrovascular endothelial mechanical stress, promotes damages to the neurovascular unit and ultimately induces cognitive impairment in mice. To do so, we used a specific model of localized systolic hypertension obtained by transverse aortic constriction (TAC), in which PP overload is driven to the right (ipsilateral) carotid and likely to the cerebral circulation of the right hemisphere and, to a much lesser extent, to the contralateral hemisphere. We first aimed at exploring the deleterious effects of a TAC on brain vascular endothelial functions and cognition in healthy wild-type (WT) mice. Then, to investigate whether an increase in PP could worsen the progression of AD, we also examined the impact of a TAC surgery in APP/PS1 (amyloid precursor protein/presenilin 1) mice. Our results provide new insights into the cellular mechanisms underlying age-related vascular dementia in the presence of graded pathological increase in PP and demonstrate the facilitatory role of PP on the progression of AD.

Methods

The data that support the findings of this study are available from the corresponding author on reasonable request. Experimental protocols are available in the [online-only Data Supplement](#). All animal experiments were performed in accordance with the Guide for the Care and Use of Experimental Animals of the Canadian Council on Animal Care and the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals of the US National Institutes of Health (Publication No. 85-23, revised 1996) and was approved by the Montreal Heart Institute Ethics Committee (ET, No. 2015-62-01).

Statistical Analysis

Statistical analyses were performed with the software Prism (Prism 6.0; GraphPad). Statistical analysis of behavioral tests was performed with the program Smart (Smart 3.0; Panlab). Data are expressed as means±SEM. All group comparisons were analyzed using 2-way ANOVA with repeated measure; Sidak multiple comparisons tests were performed when the interaction between surgery (Sham versus TAC) and side of the brain (contralateral versus ipsilateral) was significant ($P<0.05$).

Results

Increased PP Induced by TAC Surgery Is Associated With Cognitive Impairment in Mice

Six weeks after TAC surgery, systolic, but not diastolic, blood pressure and PP increased in the ipsilateral carotid artery compared with sham-operated mice and to the contralateral side, both in WT and APP/PS1 TAC-mice (Figure 1A; Table S1 in the [online-only Data Supplement](#)).

To assess the impact of PP on cognition, WT and APP/PS1 mice were subjected to the Morris Water maze and the Y maze tests. Compared with sham-WT mice that started to learn

after 2 days, TAC-WT mice showed longer latency to reach the hidden platform during the learning phase of the Morris Water maze test (Figure 1B) and spent significantly less time in the target quadrant during the memory probe test (Figure 1C), revealing learning and memory deficiencies. In addition, the percentage of alternation behavior in the Y maze was significantly decreased in TAC-WT mice compared with sham-WT mice (Figure 1D), suggesting dysfunctional working memory. Analysis of 6-month old sham APP/PS1 mice in the Morris Water maze test revealed important learning and memory deficits evidenced by slow reduction in latency during the learning phase significant the third day only (Figure 1B); in these APP/PS1 mice, TAC further reduced the learning memory evidenced by a 1-day delay in significant reduced latency (Figure 1B). Sham-APP/PS1 mice showed a low, although significant, percentage of alternation behavior in the Y maze test; TAC did not further exacerbate this low working memory in APP/PS1 mice (Figure 1D). As a validation of the protocol of the behavioral tests, in both WT and APP/PS1 mice, neither the speed of swimming in the Morris Water maze test (Figure 1B) nor the number of arm entries in the Y maze (Figure 1D) were changed between sham and TAC-mice. Therefore, TAC induces severe cognitive dysfunction in WT mice and aggravates the deficiency in learning memory in APP/PS1 mice.

Increased PP Induces Brain Hypoperfusion Associated With Microhemorrhages and Loss of Microvascular Density

To investigate the extent of the cerebrovascular damage induced by TAC, we assessed brain perfusion using 7-T magnetic resonance imaging. The rise in PP measured in the carotids resulted in a significant decrease in cerebral perfusion in the ipsilateral hemisphere of both TAC-WT (−50%; $P<0.05$) and TAC-APP/PS1 (−30%; $P<0.05$) mice (Figure 2A). In WT mice, the cerebral perfusion of the contralateral side was, to a lesser extent, also significantly reduced (−35%; $P<0.05$; Figure 2A). We then quantified cerebral microvessel density as a possible contributor to brain hypoperfusion using collagen IV immunostaining. TAC-WT and TAC-APP/PS1 mice had a reduced microvessel density only in the ipsilateral cortex and hippocampus compared with sham mice (Figure 2B). We then performed Prussian blue staining to reveal the presence of microhemorrhages. As expected, no Prussian blue-positive staining was observed in sham-WT mice; in contrast, few microhemorrhages located in the ipsilateral cortical region were detected in TAC-WT (Figure 2C). The presence of some microbleeds was detected in sham-APP/PS1 mice, and it was magnified in TAC-APP/PS1 mice (Figure 2C). Thus, the TAC procedure associated with a high PP and mechanical stress damages the cerebral vasculature, causing microhemorrhages and loss of microvessel density, likely contributing to cerebral hypoperfusion.

Increased PP Induces Mechanical Stress on Brain Vascular Endothelial Cells, Promoting Endothelial Dysfunction and Disruption of Blood-Brain Barrier Permeability

Six weeks of increased PP thickened right carotid artery and middle cerebral artery walls in both WT and APP/PS1 mice

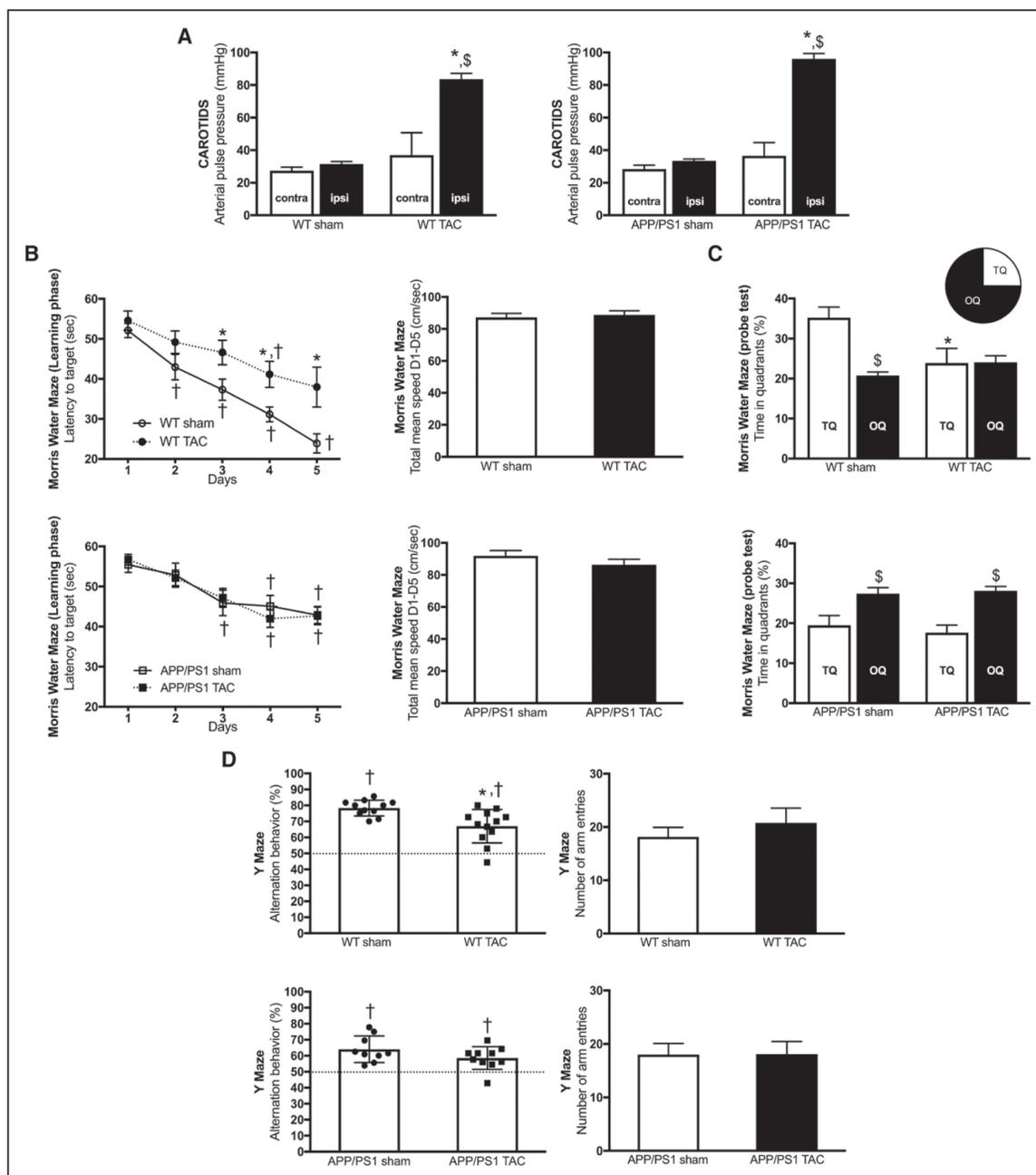


Figure 1. Increased pulse pressure (PP) induced by transverse aortic constriction (TAC) surgery is associated with cognitive impairment in mice. **A**, TAC surgery increased arterial PP (mmHg) in carotid arteries, assessed by Millar catheter from wild-type (WT; $n=4-6$) and APP/PS1 (amyloid precursor protein/presenilin 1; $n=4-5$) mice in the right ipsilateral (ipsi) carotid only. $^*P<0.05$ vs sham; $^{\$}P<0.05$ vs contralateral (contra) side of the brain. **B**, Evaluation of the learning capacities of WT ($n=12$) and APP/PS1 ($n=11-12$) mice with the Morris Water Maze test over 5 d in which a decrease in the latency (s) to reach the target reflects learning. $^*P<0.05$ vs sham; $^{\dagger}P<0.05$ vs d 1. **C**, Long-term memory assessed by the probe test 72 h after the last day of the learning session of the Morris Water Maze in WT and APP/PS1 mice. $^*P<0.05$ vs sham; $^{\$}P<0.05$ vs contra side of the brain. **D**, Evaluation of the spontaneous exploratory behavior with the Y maze test in WT ($n=11-12$) and APP/PS1 ($n=10-11$) mice. $^*P<0.05$ vs sham; $^{\dagger}P<0.05$ vs 50% alternation. Data are mean \pm SEM. $^*P<0.05$ vs sham; $^{\$}P<0.05$ vs target quadrant (TQ). CAROTIDS indicates site of measure of PP; and OQ, opposite quadrants.

(Figure S1A and S1B), suggesting that pial arteries were exposed to a mechanical stress in TAC-mice. This remodeling, however, was not associated with a change in compliance of both right carotids and middle cerebral artery (Figure S1A and

S1B). The endothelium being the first cellular component of the vasculature exposed to the mechanical stress of the PP, we evaluated the impact of TAC on the dilatory and barrier functions of the endothelium. The maximal endothelium-dependent

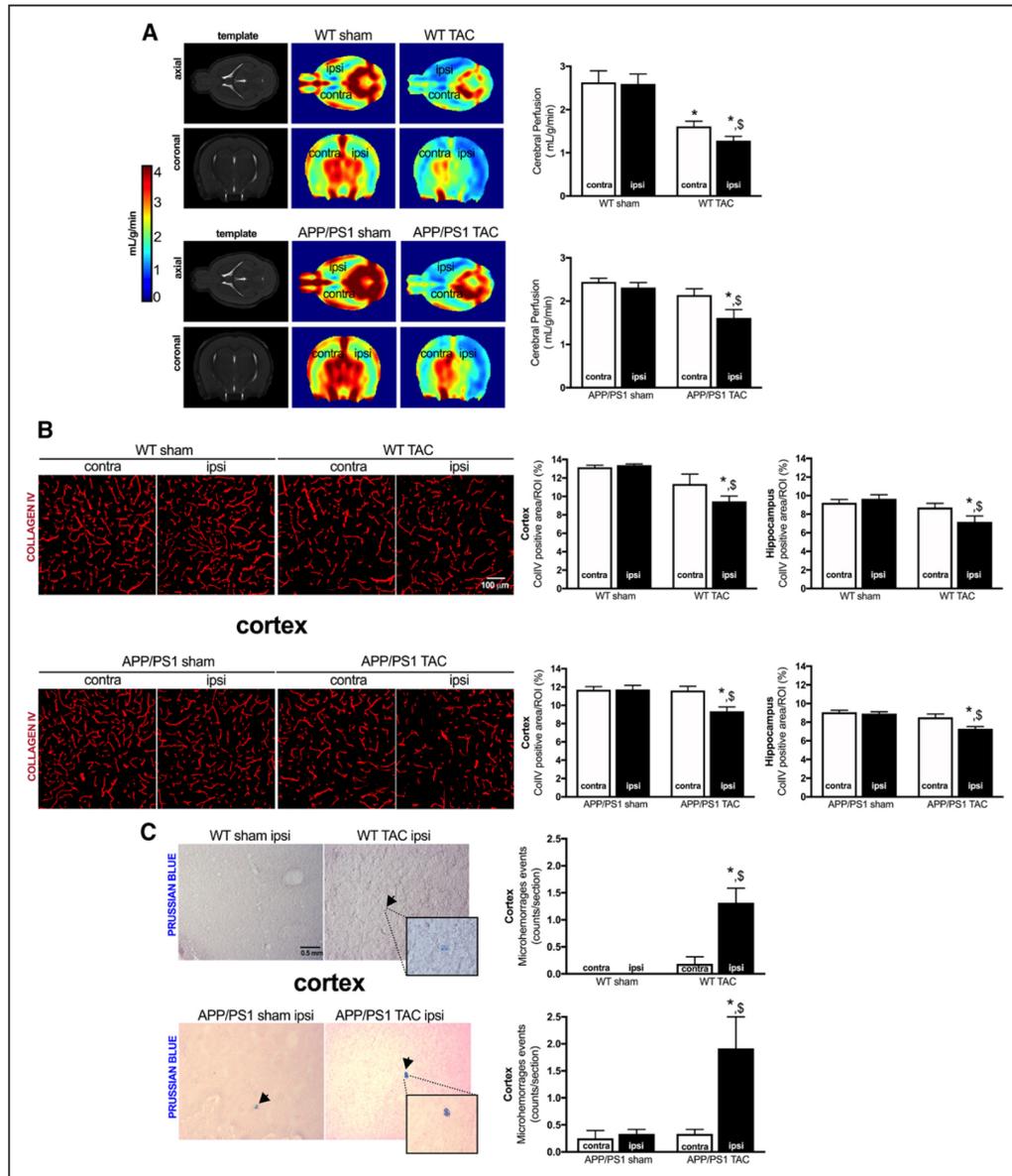


Figure 2. Transverse aortic constriction (TAC) induces brain hypoperfusion associated with microhemorrhages and loss of microvascular density. **A**, Quantification of cerebral perfusion (mL/g per minute), assessed in vivo by 7-T magnetic resonance imaging (MRI) in WT (n=7–8) and APP/PS1 (amyloid precursor protein/presenilin 1; n=10) mice. Typical 7-IRM images are shown. **B**, Cerebral capillary density (% of positive staining per region of interest, ROI) was assessed by immunohistochemistry staining of collagen IV in brain cryosections, in the ipsilateral (ipsi) side of the brain, in the cortex and hippocampal areas from wild-type (WT; n=6) and APP/PS1 (n=6) mice. Typical confocal microscope fluorescent images are shown. **C**, Presence of microbleeds (capillary hemorrhages) was visualized by Prussian Blue staining in brain slices, in the ipsi side of the brain from both WT (n=3–5) and APP/PS1 (n=3) mice. Typical images are shown. Data are mean±SEM. *P<0.05 vs sham; \$P<0.05 vs contralateral (contra) side of the brain.

dilatation to acetylcholine was significantly decreased only in the ipsilateral cerebral arteries of TAC-WT mice (Figure 3A). Endothelial dilatory function was already altered in sham-APP/PS1 mice but was further reduced by TAC in the ipsilateral cerebral arteries (Figure 3A). Endothelial dilatory dysfunction was not associated with a reduction in eNOS (endothelial nitric oxide synthase) protein levels in cerebral microvessels isolated from either TAC-WT or TAC-APP/PS1 mice (Figure S2). We then assessed whether TAC-induced PP could affect

the physical integrity and function of the endothelial blood-brain barrier (BBB), by evaluating Evans blue extravasation in the brain parenchyma. As expected, fluorescence microscopy images of brains from sham-operated mice showed the presence of Evans blue (red fluorescence) only in the blood vessels (Figure 3B), confirming intact BBB. In contrast, in TAC-WT and TAC-APP/PS1 mice, there was an increase in Evans blue fluorescence in the brain parenchyma, demonstrating leakage and extravasation of the dye across blood vessels suggestive

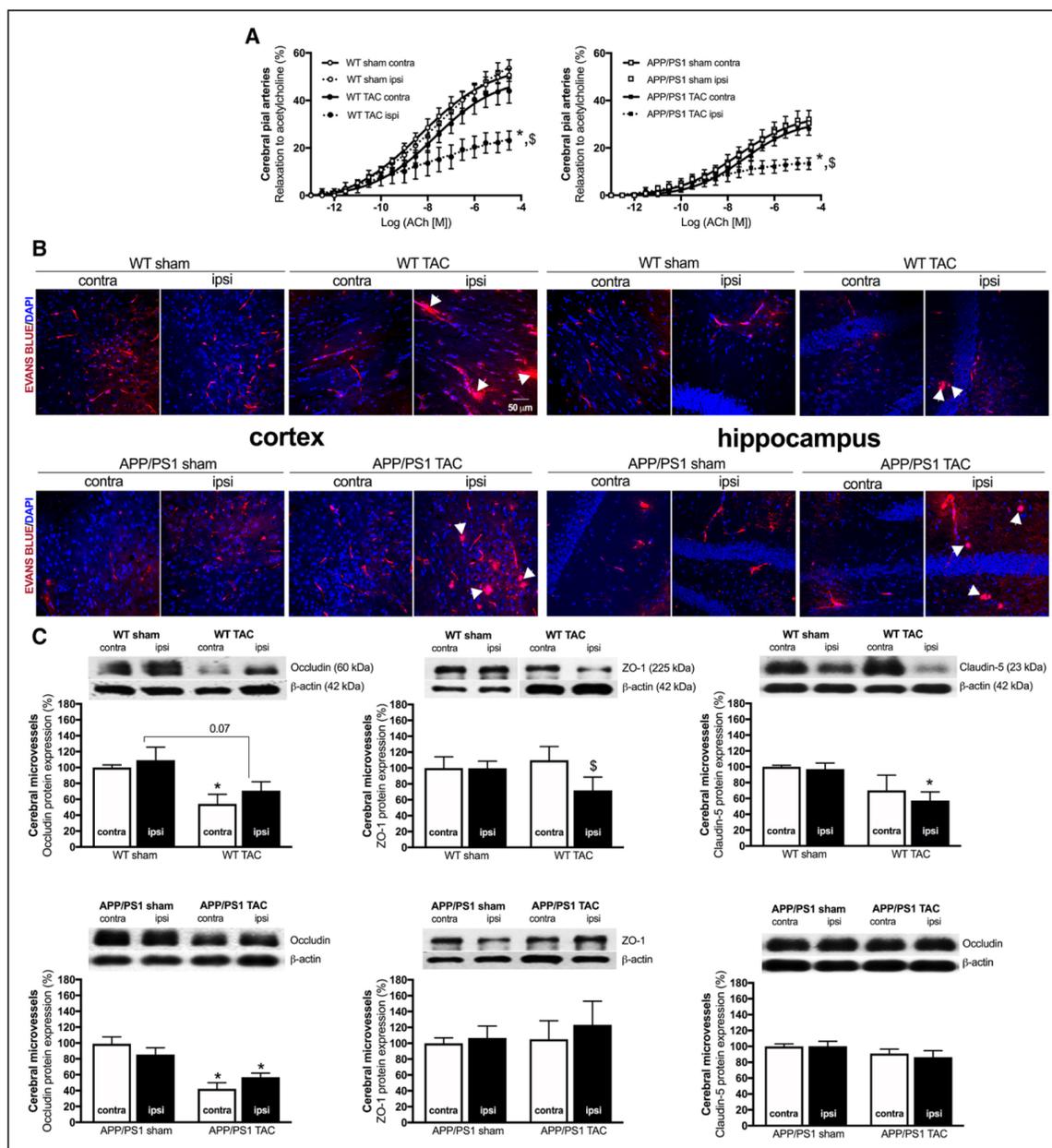


Figure 3. Increased pulse pressure induces mechanical stress on brain endothelial cells, promoting endothelial dysfunction and disruption of blood-brain barrier permeability. **A**, Endothelium-dependent dilatory responses (%) to acetylcholine (ACh) were measured in arteries isolated from both hemispheres in wild-type (WT; $n=5-6$) and in APP/PS1 (amyloid precursor protein/presenilin 1; $n=5-7$) mice. **B**, Blood-brain-barrier (BBB) leakage, illustrated by an increase in permeability, was assessed by extravasation of Evans blue tracer into the brain parenchyma. Representative images of Evans Blue extravasation in both WT and APP/PS1 mice are shown. **C**, Western blot analysis of tight junction protein expression of the BBB (occludin, ZO-1 [zonula occluden-1], and claudin-5) in the isolated microvessel fraction of the brain in WT ($n=5-6$) and APP/PS1 ($n=6$) mice. Data are mean \pm SEM. * $P<0.05$ vs sham; \$ $P<0.05$ vs contralateral (contra) side of the brain. Ipsi indicates ipsilateral; and TAC, transverse aortic constriction.

of an increased BBB permeability (Figure 3B). In the isolated cerebral microvessels, protein levels of tight junctions occludin tended to be lower in the ipsilateral side of TAC-WT and in both side in TAC-APP/PS1 mice ($P<0.05$; Figure 3C), whereas ZO-1 (zonula occluden-1) and claudin-5 protein levels were significantly lower ($P<0.05$) only in the ipsilateral hemisphere of TAC-WT mice (Figure 3C). The TAC surgery,

however, did not change the thickness of the basal lamina in brain microvessels suggesting no remodeling of parenchymal microvessels (Figure S1C). Altogether, these data indicate that the TAC procedure associated with high PP and mechanical stress damages the dilatory and barrier functions of the endothelial cells of the cerebral vasculature. In contrast, the vascular smooth muscle contractile function was not affected by

the TAC as shown by a similar response to phenylephrine in all groups of mice (Table S2). Myogenic tone, the contractile response induced by the rise in intraluminal pressure *ex vivo* that is partly regulated by the endothelium was increased in cerebral arteries isolated from the ipsilateral side of both TAC-WT and APP/PS1 mice compared with sham-WT mice (Table S2).

Increased PP Activates Apoptosis and Senescence in the Brain Microvasculature

To further characterize the nature of the endothelial damage associated with the mechanical stress of the abnormal PP, we investigated apoptotic cell death pathway by TUNEL (terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick-end labeling) with costaining with the CD31 marker of endothelial cells and by measuring the protein product of cleaved caspase-3 in the brain microvasculature. First, we observed a dramatic disappearance of CD31-positive endothelial cells ($P<0.05$) in the ipsilateral cortex and hippocampus of both TAC-WT and TAC-APP/PS1 mice compared with sham mice (Figure 4A). Loss of CD31-positive endothelial cells was paralleled by the induction of apoptosis revealed by TUNEL-positive staining ($P<0.05$) in TAC-mice compared with sham mice in both the ipsilateral cortex and hippocampus of TAC-WT and TAC-APP/PS1 mice (Figure 4A). In addition, in brain microvessels of TAC-WT mice, caspase-3 protein levels tended to be decreased ($P=0.07$) in the ipsilateral side whereas the caspase-3 cleaved protein product tended to increase in both TAC-WT ($P=0.09$) and TAC-APP/PS1 ($P=0.09$; Figure 4B).

The cell fate of a damaged cell is either apoptosis or senescence.¹⁶ Thus, we also assessed the level of senescence-associated p21 protein level in the brain microvasculature. In TAC-WT mice, microvascular p21 level was higher ($P<0.05$) in the contralateral side than in the ipsilateral side (Figure 4C). In contrast, in TAC-APP/PS1 mice, p21 protein level was not increased in the contralateral side and was significantly decreased ($P<0.05$) in the ipsilateral side (Figure 4C).

Increased PP Induces Neuroinflammation, Senescence, and Increases A β Deposits in the Brain Parenchyma

To investigate whether a TAC associated with high PP and mechanical stress could cause stress and injury in the brain parenchyma, we first quantified neuroinflammation in the brain. Immunostaining of the astrocytic protein GFAP (glial fibrillary acidic protein) revealed an increased number of GFAP-positive cells in the ipsilateral cortex and hippocampus of TAC-WT compared with sham-WT mice (Figure 5A). In APP/PS1 mice, important neuroinflammation was already present in both sides of the brain of 6-month old sham mice and was exacerbated by TAC in the ipsilateral cortex (Figure 5A). Cleaved protein product of caspase-3 was neither detected in the brain parenchyma of TAC-WT nor of TAC-APP/PS1 (Figure 5B). The level of senescence-associated p21 protein level, however, increased in the ipsilateral side of the brain in TAC-WT compared with its contralateral side (Figure 5C) but only tended to increase ($P=0.08$) compared with WT-sham mice. Senescence-associated p21 protein level was increased

in the ipsilateral hemisphere of TAC-APP/PS1 mice, compared with sham-APP/PS1 mice (Figure 5C) and tended ($P=0.07$) to increase further compared with the contralateral side. Altogether, these data suggest that the TAC procedure associated with high PP causes parenchymal neuroinflammation and senescence.

To assess whether TAC-induced parenchymal damage was associated with synaptic dysfunctions, we also quantified the expression of pre and postsynaptic protein synaptophysin and PSD-95, respectively, and of BDNF (brain-derived neurotrophic factor); however, no change in protein levels was observed in both TAC-WT and TAC-APP/PS1 (Figure S3). There was only a tendency ($P=0.09$ versus contralateral TAC-WT) for an increase in synaptophysin protein levels in the ipsilateral hemisphere in TAC-WT mice and a tendency ($P=0.08$ versus contralateral TAC-APP/PS1) for a decrease in the parenchymal BDNF protein expression in the ipsilateral hemisphere in TAC-APP/PS1 mice (Figure S3).

Finally, to investigate whether the mechanical stress associated with a high PP may influence AD pathology, we measured the number of A β deposits in the brain. Quantitative analysis of positive deposits for Thioflavin-S staining revealed a modest, but significant, increase of amyloid deposits in the ipsilateral brain of TAC-APP/PS1 mice compared with sham-APP/PS1 mice (Figure 5D). In WT mice, amyloid aggregates were not detectable neither in sham nor in TAC-mice (data not shown). Levels of the soluble amyloid peptide were also quantified by ELISA in brain extracts (Figure 5E): neither the soluble A β 40 nor the soluble A β 42 levels changed in APP/PS1 TAC-operated mice. Hence, TAC-induced high PP slightly increases A β deposits in the brain parenchyma of APP/PS1 mice.

Discussion

The main findings of the present study are that (1) brain microvascular endothelial cells are a prime target of an increase in PP detected in the carotids as shown by severe ipsilateral endothelial dilatatory dysfunction in pial arteries, BBB leakage, and microvascular apoptosis; (2) TAC induces neuroinflammation and, combined with cerebral hypoperfusion and microbleeds, this leads to parenchymal senescence and a significant reduction in learning and spatial memories in WT mice. TAC magnified all these dysfunctions in APP/PS1 mice, further limiting their reduced learning capacities. These data provide therefore strong evidence for a mechanistic link between excessive PP and cognitive decline (Figure 6), strengthening the biomechanical hypothesis of pulse-induced neuronal damage.^{10,13,17}

Clinical studies associate increased pulse wave velocity, a marker of arterial stiffening, and cognitive decline,^{15,18} but the exact mechanisms underlying this association are uncertain. Our hypothesis was that an abnormally high mechanical stress associated with a rise in PP causes irreversible cerebrovascular damage, disruption of the neurovascular unit, leading to cognitive impairment. To characterize the events that could lead to a vascular form of dementia, we examined the effect of a TAC surgery, reported to induce cognitive decline in mice,¹⁹ that significantly raises the amplitude of the PP in the right carotids of WT and APP/PS1 mice that likely penetrates

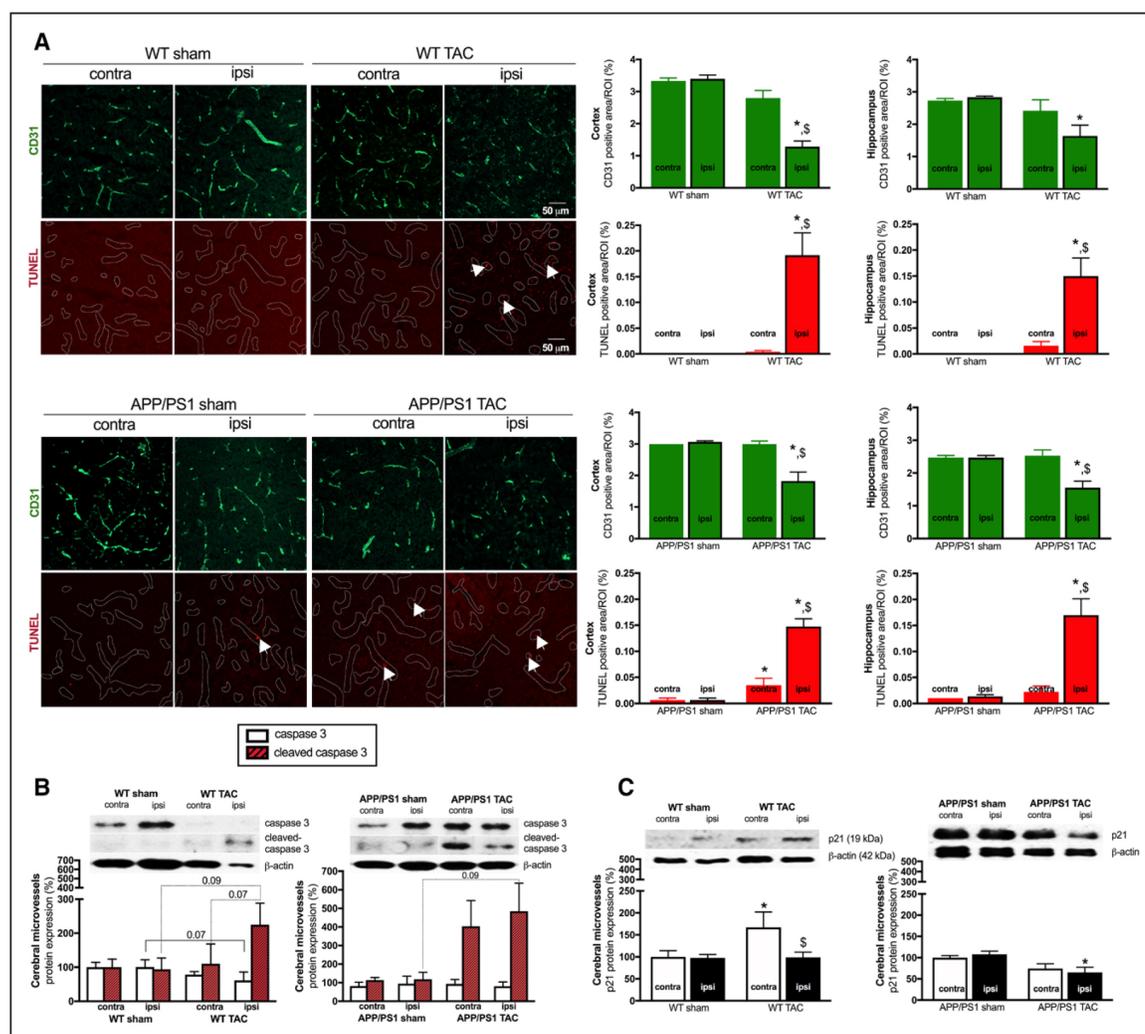


Figure 4. Transverse aortic constriction (TAC) activates apoptosis and senescence in the brain microvasculature. **A**, Double immunostaining of CD31 and TUNEL (terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick-end labeling) in the cortex and hippocampus of both wild-type (WT; $n=3-5$) and APP/PS1 (amyloid precursor protein/presenilin 1; $n=3-4$) mice. Representative images are shown. **B**, Apoptosis was also assessed in the microvascular fraction of the brain by Western blot analysis of caspase-3 and its cleaved product in $n=6$ WT and APP/PS1 mice. **C**, Western Blot analysis of p21, a marker of cellular senescence, in the cerebral microvascular fraction of WT ($n=6$) and APP/PS1 ($n=6$) mice. Data are mean \pm SEM. * $P<0.05$ vs sham; \$ $P<0.05$ vs contralateral (contra) side of the brain. Ipsi indicates ipsilateral; and ROI, region of interest.

deeper into the ipsilateral parenchymal microcirculation generating microbleeds. TAC is originally a model of left ventricular hypertrophy and heart failure,²⁰ but after 6 weeks of TAC, despite left ventricular hypertrophy (Table S1), the mice had normal diastolic pressure and did not develop heart failure (only a 13% reduction in left ventricular ejection fraction; data not shown), suggesting that cognitive impairment observed in TAC-mice was not caused by a reduced cardiac function, which itself could potentially reduce brain perfusion.

Resistance arterioles are critical for autoregulation in the face of a changing blood pressure,²¹ but because of their fragile structure,²² excess of pulsatility is expected to create microvascular damage. The first cells facing the PP-related mechanical stress are the endothelial cells. We recently reported ex vivo in mouse cerebral arteries, that the physiological PP is

not only sensed by the endothelium but also contributes to the regulation of endothelium-dependent cerebral dilations by favoring eNOS coupling, a function lost when the PP reaches abnormally high levels.²³ We now demonstrate that in TAC-WT and TAC-APP/PS1 mice, the endothelium-dependent dilatory responses were strongly reduced in cerebral arteries harvested from the ipsilateral hemisphere, demonstrating endothelial damage and dysfunction after an abnormally high PP and mechanical stress in vivo, in agreement with our previous findings ex vivo.²³ Whether chronic PP rises oxidative stress to reduce NO availability was not tested in the present study and deserves further investigation.

TAC also leads to the loss of microvessel density illustrated by a decrease in CD31-positive endothelial cells and a rise in apoptosis. In the brain, endothelial cells are

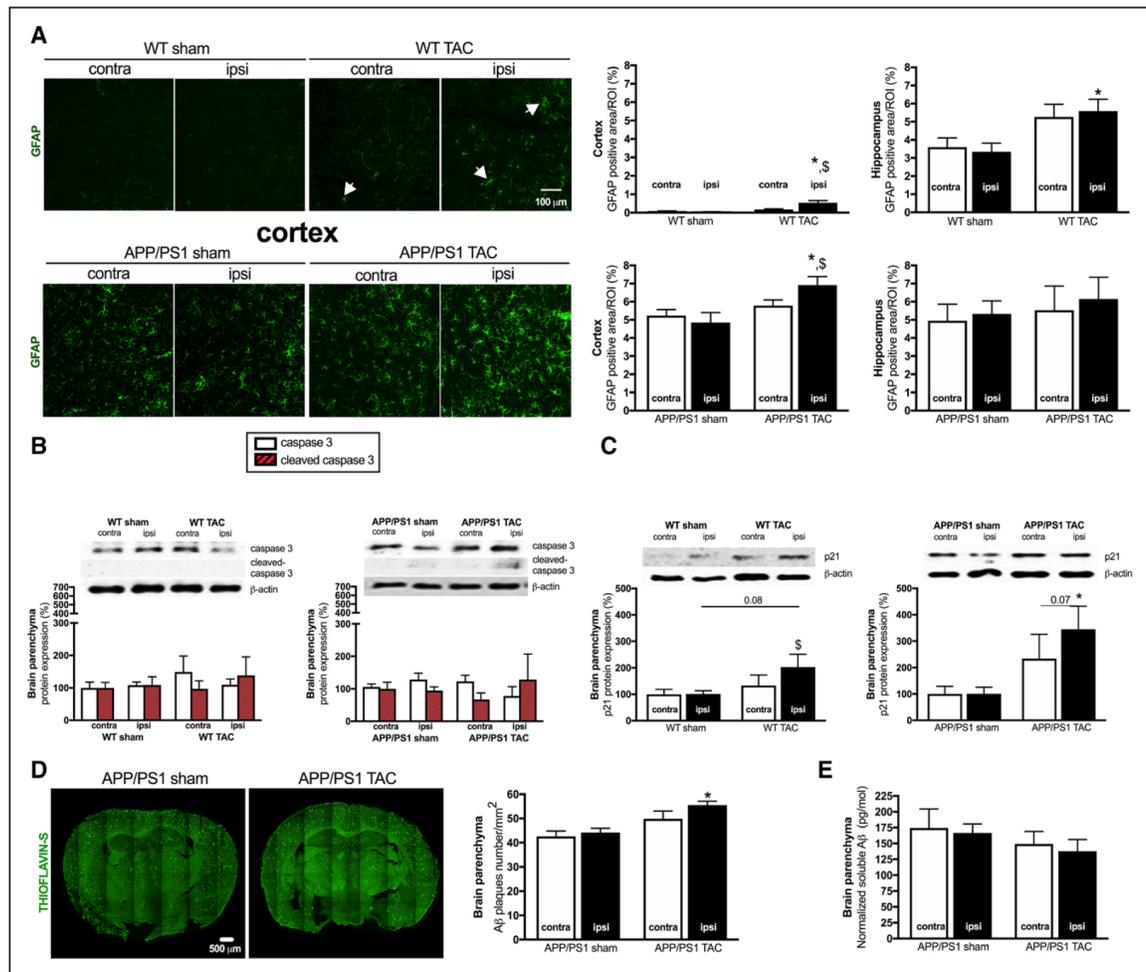
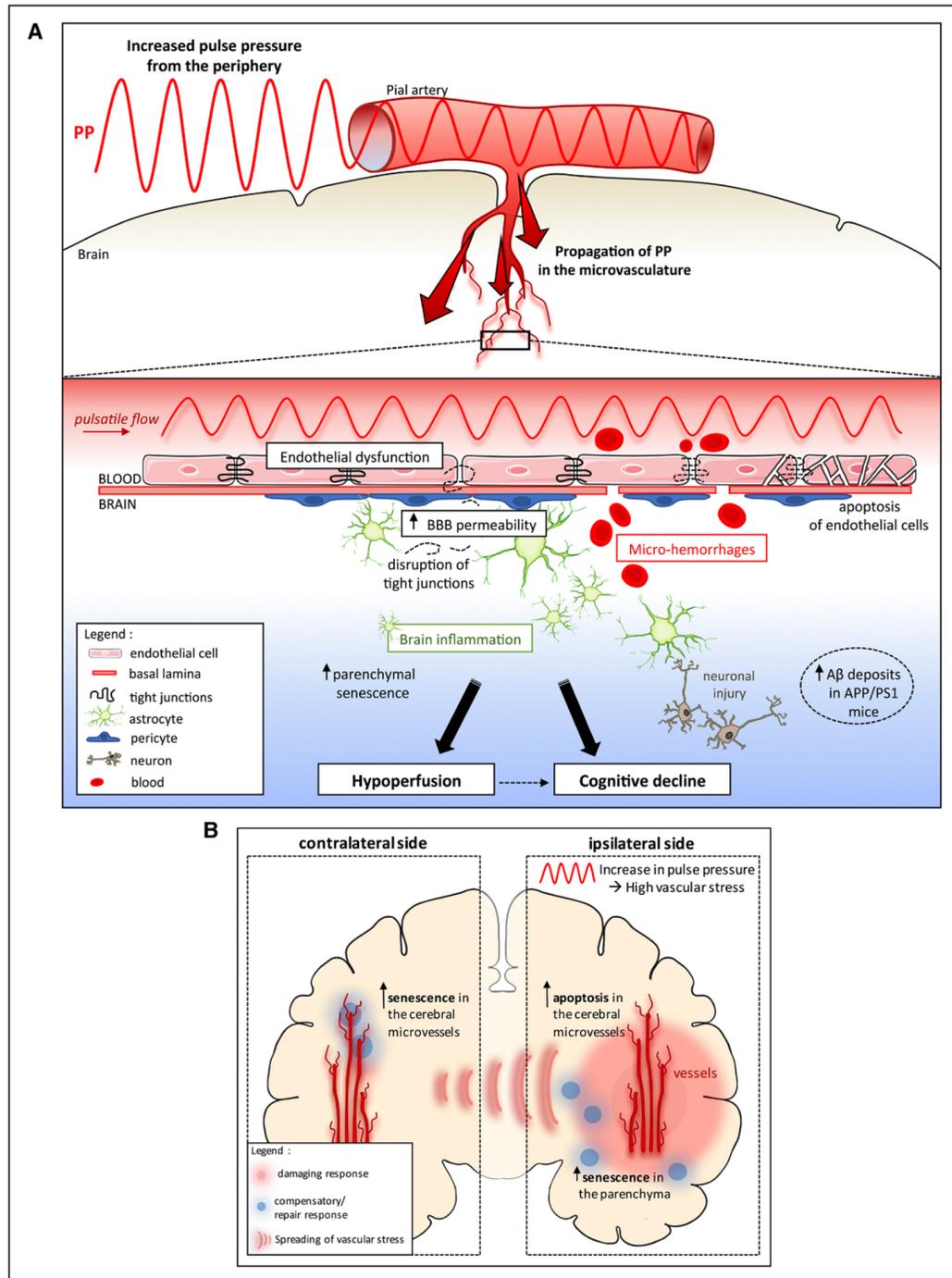


Figure 5. Transverse aortic constriction (TAC) induces neuroinflammation, senescence, and increases A β deposits in the brain parenchyma. **A**, Immunostaining of GFAP (glial fibrillary acidic protein)-positive cells (% of positive staining per region of interest, ROI) in the cortex and in the hippocampus of wild-type (WT; n=5–6) and APP/PS1 (amyloid precursor protein/presenilin 1; n=6) mice. Typical images are shown. **B**, Western blot analysis of caspase-3 and its cleaved product in the parenchymal fraction of WT (n=6) and APP/PS1 (n=6) mice. **C**, Western blot analysis of p21 in the parenchymal fraction of WT (n=6) and APP/PS1 (n=6) mice. **D**, Amyloid deposits in the ipsilateral (ipsi) brain of TAC-APP/PS1 (n=6–8) mice were assessed by analysis of positive deposits for thioflavin-S staining. **E**, Quantification of the levels of soluble amyloid peptide A β 40 and A β 42 levels in APP/PS1 (n=6) mice. Data are mean \pm SEM. * P <0.05 vs sham; § P <0.05 vs contralateral (contra) side of the brain.

surrounded by pericytes and astrocytes end-feet; along with adjacent neurons, these cells compose the neurovascular unit, a unique structure of the cerebral vasculature that forms the BBB.²⁴ A leaky BBB has been associated with cognitive decline in both animals and humans.²⁵ Our data show that the permeability of the BBB, characterized by Evans blue extravasation into the brain parenchyma, is increased in both TAC-WT and TAC-APP/PS1 mice. This is in accordance with the abnormal BBB permeability observed in C57Bl/6 mice 7 days post-TAC.²⁶ As tight junctions play a major role in the functional maintenance of the BBB,²⁷ leakage of the BBB may partly be the consequence of the lower expression of occludin, ZO-1, and Claudin-5 transmembrane proteins observed in our study in TAC-WT and to a lesser extent in TAC-APP/PS1 mice. In cultured human brain microvascular endothelial cells exposed to a high pulsatile flow pattern, it was reported that the tight junctions

Claudin-5 and ZO-1 were downregulated.²⁸ The appearance of microhemorrhages is another marker suggesting leakage of the microvessels because of TAC-induced excessive PP and mechanical stress. Microhemorrhages are pathological hallmarks associated with AD,²⁹ and we report that TAC-WT develop microbleeds and that TAC magnified the number of microbleed events in APP/PS1 mice. The presence of microhemorrhages, the loss of microvessel density associated with barrier dysfunction and reduced upstream endothelial dilatory reactivity likely explain the reduced brain perfusion measured by magnetic resonance imaging in TAC-mice. Reduction of capillary density in the brain is indeed strongly associated with reduced cerebral perfusion.³⁰ In addition, studies suggest that hypoperfusion precedes cognitive deficits in humans³¹ and hypoperfusion is associated in hypertensive patients with increased risk of vascular cognitive impairment and vascular dementia.³²



Downloaded from <http://ahajournals.org> by on November 27, 2018

Figure 6. Schematization of the putative cellular and molecular events linking pulse pressure (PP), cerebral microcirculation and the development of cognitive decline. **A**, High PP penetrates into the fragile low resistance cerebral microcirculation, promoting arteriolar and capillary endothelial dilatatory dysfunction, and, depending on the intensity of the mechanical stress, vascular senescence (p21 expression), endothelial cell death by apoptosis (TUNEL [terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick-end labeling], Caspase-3 cleavage), tight junctions disruption and blood-brain barrier (BBB) leakage, likely favoring the appearance of microhemorrhages. These vascular damages lead to a decrease in microvascular density partly contributing to cerebral hypoperfusion. Ultimately, this deleterious ischemic environment favors neurovascular uncoupling and parenchymal injury (astroglial activation, GFAP [glial fibrillary acidic protein] expression; increase in p21 and A β deposits), leading to cognitive decline and dementia. **B**, We propose that pulsatile mechanical stress activates cellular senescence as a repair/defense pathway. Whereas the sudden high PP promotes endothelial cell apoptosis in the ipsilateral microvasculature, the mechanical stress inherent to PP partly diffuses to the contralateral side of the brain and activates the cellular senescence pathway, likely as a temporary compensatory/protective mechanism. Senescence is also activated in the ipsilateral side of the parenchyma as a potential neuroprotective/neuronal repair mechanism consecutive to the severe microvascular damages induced by PP.

Brain perfusion, however, was decreased in the contralateral hemisphere of WT-TAC mice without significantly reduced microvascular density. Thus, microvascular density alone cannot explain hypoperfusion in this side of the brain. In these young WT mice, the contralateral pial circulation and the circle of Willis may compensate for the increase in systolic pressure by an over-reactive myogenic tone exacerbating the autoregulatory response to the rise in pressure *in vivo*; the increase in myogenic tone was, however, not measured *ex vivo* in the contralateral middle cerebral artery but only in ipsilateral cerebral arteries likely because of wall remodeling and endothelial dysfunction. Another possibility to explain cerebral hypoperfusion and microbleeds in TAC-mice is the potential contribution of increased circulating catecholamines:³³ by constricting small cerebral vessels, catecholamines may reduce cerebral blood flow and promote microbleeds. This, however, remains speculative and will need to be specifically addressed.

Transaortic constriction in mice led to diminished cognitive abilities, as assessed by behavioral tests in the present study. Using this TAC model, Poulet et al²⁶ reported microglial activation in association with BBB dysfunction. These alterations were proposed to be central to brain dysfunctions and associated with A β appearance and accumulation.¹⁹ We did not detect A β aggregates in TAC-WT mice, but TAC slightly augmented A β deposition in the ipsilateral hemisphere of APP/PS1 mice, suggesting that vascular damage may influence the course of AD; indeed, BBB dysfunction and reduction of cerebral blood flow with age contribute to faulty A β clearance in late-onset AD.³⁴ Cerebral hypoperfusion combined with lower A β clearance may, therefore, explain the slightly augmented accumulation of A β deposits observed in TAC-APP/PS1 mice, independently of an increase in soluble A β in the brain.

We also observed astroglial activation in the ipsilateral brain of WT-TAC and further activation in APP/PS1-TAC mice, suggesting neuronal damage, as the astrocyte activation state contributes to brain protection.³⁵ Astroglial activation has been found in many brain disorders (reviewed in³⁶) and is a hallmark of amyloid-induced neuroinflammation in the APP/PS1 mouse model.³⁷ Recently, in a mouse model of *in vivo* increased cerebral blood flow velocity, the authors reported parenchymal inflammation,³⁸ but the impact of these changes on brain perfusion, endothelial dilatory and barrier functions, and cognition was not studied. Activated astrocytes might contribute to synaptic dysfunction and the hampered cognitive functions as they contribute to brain homeostasis and neuronal function, such as synaptic formation, transmission, and plasticity.³⁹ In our study, astrocyte activation was not accompanied with a significant change in synaptic proteins expression. We observed, however, a tendency for an increased expression in the ipsilateral side of the parenchymal presynaptic synaptophysin protein, which may suggest establishment of new synaptic connections after TAC-induced neuronal damage. Accordingly, Stroemer et al⁴⁰ reported an increase in synaptophysin immune-reactivity after cerebral ischemic infarction. We also observed a tendency for a decrease in the parenchymal BDNF protein

expression in TAC-APP/PS1 mice (Figure S3), suggesting a reduced synaptic plasticity.⁴¹

The pulsatile mechanical stress activates 2 different damage-response pathways depending on its intensity: apoptosis or senescence. In the ipsilateral microvasculature of TAC-WT mice where the pulsatile mechanical stress is likely the highest, activation of the apoptotic pathway is clearly a direct damage-response pathway. In contrast, in the contralateral hemisphere of TAC-WT mice where the mechanical stress is likely mitigated (suggested by a maintained endothelial function, the absence of microbleeds and an intact BBB), the senescence pathway is activated in the microvessels. Senescent cells are able to orchestrate tissue repair by activating their own clearance by the immune system and their replacement by new, functional cells.⁴² Thus, we propose that activation of the senescence pathway in the contralateral side of the vasculature and in the ipsilateral side of the parenchyma of TAC-WT mice could permit to temporarily preserve endothelial function and to confer some neuroprotection, respectively. In APP/PS1 mice that may already display irreversible vascular dysfunction, the additional TAC-induced vascular stress activates apoptosis, but not senescence, suggesting damage with no palliative reparative reserve. Although the concept of specific damage-response pathways has been theorized before,⁴³ this is the first observation that *in vivo*, activation of a cellular pathway (apoptosis versus senescence) is dependent on the level of an inherent cellular stress.

In conclusion, we demonstrate that brain microvessels are vulnerable to TAC-induced high PP or mechanical stress and that cumulative damages to the cerebral microcirculation ultimately lead to cognitive decline. Importantly, we report in APP/PS1 mice that an augmented vascular mechanical stress accelerates A β deposition and cognitive decline, suggesting that aging, through the stiffening of the large conductance arteries and thus, the likely propagation of a higher PP deeper into the cerebral microvasculature, may contribute to reveal AD in patients with high susceptibility to develop AD and certainly contribute to accelerate the progression of AD. Altogether, our study supports the association between vascular disorders and dementia and suggests that cerebral microvascular dysfunction may contribute to the progression of VCID and AD.

Perspectives

Our findings using the TAC model in mice have clinical relevance. Similar to what we observed in the ipsilateral side of the brain of TAC-WT mice, induction of a reactive high blood pressure associated with a stroke could lead to a high mechanical stress, promote an immediate apoptosis of microvascular cells followed by senescence of parenchymal cells. In addition, the likely gradual increase in PP experienced by TAC-WT mice in the contralateral hemisphere could be representative of the chronic but slow age-dependent increase in large vessel stiffening leading eventually to cognitive decline.¹⁴ Finally, our data clearly support the concept that the increase in PP and mechanical stress accelerates A β deposition in older individuals at risk.

Sources of Funding

This research was supported by the Canadian Institutes for Health Research (MOP 89733), the Heart and Stroke Foundation of Canada, and the Foundation of the Montreal Heart Institute.

Disclosures

None.

References

- Fotuhi M, Hachinski V, Whitehouse PJ. Changing perspectives regarding late-life dementia. *Nat Rev Neurol*. 2009;5:649–658. doi: 10.1038/nrneurol.2009.175
- Gorelick PB, Scuteri A, Black SE, et al; American Heart Association Stroke Council, Council on Epidemiology and Prevention, Council on Cardiovascular Nursing, Council on Cardiovascular Radiology and Intervention, and Council on Cardiovascular Surgery and Anesthesia. Vascular contributions to cognitive impairment and dementia: a statement for healthcare professionals from the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke*. 2011;42:2672–2713. doi: 10.1161/STR.0b013e3182299496
- Gorevic PD, Goñi F, Pons-Estel B, Alvarez F, Peress NS, Frangione B. Isolation and partial characterization of neurofibrillary tangles and amyloid plaque core in Alzheimer's disease: immunohistological studies. *J Neuropathol Exp Neurol*. 1986;45:647–664.
- Querfurth HW, LaFerla FM. Alzheimer's disease. *N Engl J Med*. 2010;362:329–344. doi: 10.1056/NEJMra0909142
- Iadecola C. The overlap between neurodegenerative and vascular factors in the pathogenesis of dementia. *Acta Neuropathol*. 2010;120:287–296. doi: 10.1007/s00401-010-0718-6
- de la Torre JC. Is Alzheimer's disease a neurodegenerative or a vascular disorder? Data, dogma, and dialectics. *Lancet Neurol*. 2004;3:184–190. doi: 10.1016/S1474-4422(04)00683-0
- de la Torre JC. Cardiovascular risk factors promote brain hypoperfusion leading to cognitive decline and dementia. *Cardiovasc Psychiatry Neurol*. 2012;2012:367516. doi: 10.1155/2012/367516
- Iadecola C. The pathobiology of vascular dementia. *Neuron*. 2013;80:844–866. doi: 10.1016/j.neuron.2013.10.008
- Thorin-Trescases N, Thorin E. Lifelong cyclic mechanical strain promotes large elastic artery stiffening: increased pulse pressure and old age-related organ failure. *Can J Cardiol*. 2016;32:624–633. doi: 10.1016/j.cjca.2015.12.022
- Thorin-Trescases N, de Montgolfier O, Pinçon A, Raignault A, Caland L, Labbé P, Thorin E. Impact of pulse pressure on cerebrovascular events leading to age-related cognitive decline. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2018;314:H1214–H1224. doi: 10.1152/ajpheart.00637.2017
- O'Rourke MF, Safar ME. Relationship between aortic stiffening and microvascular disease in brain and kidney: cause and logic of therapy. *Hypertension*. 2005;46:200–204. doi: 10.1161/01.HYP.0000168052.00426.65
- Avolio A, Kim MO, Adji A, Gangoda S, Avadhanam B, Tan I, Butlin M. Cerebral haemodynamics: effects of systemic arterial pulsatile function and hypertension. *Curr Hypertens Rep*. 2018;20:20. doi: 10.1007/s11906-018-0822-x
- Maillard P, Mitchell GF, Himali JJ, Beiser A, Fletcher E, Tsao CW, Pase MP, Satizabal CL, Vasan RS, Seshadri S, DeCarli C. Aortic stiffness, increased white matter free water, and altered microstructural integrity: a continuum of injury. *Stroke*. 2017;48:1567–1573. doi: 10.1161/STROKEAHA.116.016321
- Hajjar J, Goldstein FC, Martin GS, Quyyumi AA. Roles of arterial stiffness and blood pressure in hypertension-associated cognitive decline in healthy adults. *Hypertension*. 2016;67:171–175. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.115.06277
- Cooper LL, Woodard T, Sigurdsson S, van Buchem MA, Torjesen AA, Inker LA, Aspelund T, Eiriksdottir G, Harris TB, Gudnason V, Launer LJ, Mitchell GF. Cerebrovascular damage mediates relations between aortic stiffness and memory. *Hypertension*. 2016;67:176–182. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.115.06398
- Childs BG, Baker DJ, Kirkland JL, Campisi J, van Deursen JM. Senescence and apoptosis: dueling or complementary cell fates? *EMBO Rep*. 2014;15:1139–1153. doi: 10.15252/embr.201439245
- Stone J, Johnstone DM, Mitrofanis J, O'Rourke M. The mechanical cause of age-related dementia (Alzheimer's disease): the brain is destroyed by the pulse. *J Alzheimers Dis*. 2015;44:355–373. doi: 10.3233/JAD-141884
- Waldstein SR, Rice SC, Thayer JF, Najjar SS, Scuteri A, Zonderman AB. Pulse pressure and pulse wave velocity are related to cognitive decline in the Baltimore Longitudinal Study of Aging. *Hypertension*. 2008;51:99–104. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.107.093674
- Carnevale D, Mascio G, D'Andrea I, Fardella V, Bell RD, Branchi I, Pallante F, Zlokovic B, Yan SS, Lembo G. Hypertension induces brain β -amyloid accumulation, cognitive impairment, and memory deterioration through activation of receptor for advanced glycation end products in brain vasculature. *Hypertension*. 2012;60:188–197. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.112.195511
- Rockman HA, Ross RS, Harris AN, Knowlton KU, Steinhilber ME, Field LJ, Ross J Jr, Chien KR. Segregation of atrial-specific and inducible expression of an atrial natriuretic factor transgene in an in vivo murine model of cardiac hypertrophy. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1991;88:8277–8281.
- Lassen NA. Autoregulation of cerebral blood flow. *Circ Res*. 1964;15(suppl):201–204.
- Lee RM. Morphology of cerebral arteries. *Pharmacol Ther*. 1995;66:149–173.
- Raignault A, Bolduc V, Lesage F, Thorin E. Pulse pressure-dependent cerebrovascular eNOS regulation in mice. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2017;37:413–424. doi: 10.1177/0271678X16629155
- Abbott NJ, Patabendige AA, Dolman DE, Yusof SR, Begley DJ. Structure and function of the blood-brain barrier. *Neurobiol Dis*. 2010;37:13–25. doi: 10.1016/j.nbd.2009.07.030
- Iadecola C. Dangerous leaks: blood-brain barrier woes in the aging hippocampus. *Neuron*. 2015;85:231–233. doi: 10.1016/j.neuron.2014.12.056
- Poulet R, Gentile MT, Vecchione C, Distaso M, Aretini A, Fratta L, Russo G, Echart C, Maffei A, De Simoni MG, Lembo G. Acute hypertension induces oxidative stress in brain tissues. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2006;26:253–262. doi: 10.1038/sj.jcbfm.9600188
- Jiao H, Wang Z, Liu Y, Wang P, Xue Y. Specific role of tight junction proteins claudin-5, occludin, and ZO-1 of the blood-brain barrier in a focal cerebral ischemic insult. *J Mol Neurosci*. 2011;44:130–139. doi: 10.1007/s12031-011-9496-4
- Garcia-Polite F, Martorell J, Del Rey-Puech P, Melgar-Lesmes P, O'Brien CC, Roquer J, Ois A, Principe A, Edelman ER, Balcells M. Pulsatility and high shear stress deteriorate barrier phenotype in brain microvascular endothelium. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2017;37:2614–2625. doi: 10.1177/0271678X16672482
- Itoh Y, Yamada M, Hayakawa M, Otomo E, Miyatake T. Cerebral amyloid angiopathy: a significant cause of cerebellar as well as lobar cerebral hemorrhage in the elderly. *J Neurol Sci*. 1993;116:135–141.
- Pires PW, Dams Ramos CM, Matin N, Dorrance AM. The effects of hypertension on the cerebral circulation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2013;304:H1598–H1614. doi: 10.1152/ajpheart.00490.2012
- Iadecola C, Davisson RL. Hypertension and cerebrovascular dysfunction. *Cell Metab*. 2008;7:476–484. doi: 10.1016/j.cmet.2008.03.010
- de la Torre JC. Cerebral hemodynamics and vascular risk factors: setting the stage for Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis*. 2012;32:553–567. doi: 10.3233/JAD-2012-120793
- Schneider J, Lothar A, Hein L, Gilsbach R. Chronic cardiac pressure overload induces adrenal medulla hypertrophy and increased catecholamine synthesis. *Basic Res Cardiol*. 2011;106:591–602. doi: 10.1007/s00395-011-0166-z
- Bell RD, Zlokovic BV. Neurovascular mechanisms and blood-brain barrier disorder in Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol*. 2009;118:103–113. doi: 10.1007/s00401-009-0522-3
- Pekny M, Nilsson M. Astrocyte activation and reactive gliosis. *Glia*. 2005;50:427–434. doi: 10.1002/glia.20207
- Reemst K, Noctor SC, Lucassen PJ, Hol EM. The indispensable roles of microglia and astrocytes during brain development. *Front Hum Neurosci*. 2016;10:566. doi: 10.3389/fnhum.2016.00566
- Radde R, Bolmont T, Kaeser SA, et al. Abeta42-driven cerebral amyloidosis in transgenic mice reveals early and robust pathology. *EMBO Rep*. 2006;7:940–946. doi: 10.1038/sj.embor.7400784
- Sadekova N, Iulita MF, Vallerand D, Muhire G, Bourmoum M, Claug A, Girouard H. Arterial stiffness induced by carotid calcification leads to cerebral gliosis mediated by oxidative stress. *J Hypertens*. 2018;36:286–298. doi: 10.1097/HJH.0000000000001557
- Allen NJ, Barres BA. Neuroscience: glia - more than just brain glue. *Nature*. 2009;457:675–677. doi: 10.1038/457675a

40. Stroemer RP, Kent TA, Hulsebosch CE. Increase in synaptophysin immunoreactivity following cortical infarction. *Neurosci Lett*. 1992;147:21–24.
41. McAllister AK, Katz LC, Lo DC. Neurotrophins and synaptic plasticity. *Annu Rev Neurosci*. 1999;22:295–318. doi: 10.1146/annurev.neuro.22.1.295
42. Muñoz-Espín D, Serrano M. Cellular senescence: from physiology to pathology. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2014;15:482–496. doi: 10.1038/nrm3823
43. d’Adda di Fagagna F. Living on a break: cellular senescence as a DNA-damage response. *Nat Rev Cancer*. 2008;8:512–522. doi: 10.1038/nrc2440

Novelty and Significance

What Is New?

- Our study provides a mechanistic demonstration of a continuum between PP and cognitive decline, strengthening the biomechanical hypothesis of pulse-induced neuronal damage.

What Is Relevant?

- Our data strongly suggest that the chronic propagation of an elevated pulse pressure through the cerebral microvasculature caused by the stiffening of the large conductance arteries, may contribute to vascu-

lar dementia and the progression of Alzheimer’s disease in patients at risk. Thus, the vascular component of neurological disorders should be considered.

Summary

Cerebrovascular dysfunction induced by abnormally elevated blood pressure pulsatility likely contributes to the development and progression of vascular cognitive impairment and dementia by disrupting the neurovascular unit.



Hypertension

Online supplement

High systolic blood pressure induces cerebral microvascular endothelial dysfunction, neurovascular unit damage and cognitive decline in mice.

Olivia de MONTGOLFIER, M.Sc., Anthony PINÇON, Ph.D., Philippe POULIOT, Ph.D., Marc- Antoine GILLIS, M.Sc., Jonathan BISHOP, Ph.D., John G. SLED, Ph.D., Louis VILLENEUVE, M.Sc., Guylaine FERLAND, Ph.D., Bernard I. LÉVY, M.D., Frédéric LESAGE, Ph.D., Nathalie THORIN-TRESCASES, Ph.D., Éric THORIN, Ph.D.

Corresponding author: Éric Thorin, 5000 rue Bélanger Est, Montreal Heart Institute, Research center, Montreal, Quebec, H1T 1C8, Canada. Fax: 1-514-376-1355. Phone: 1-514-376-3330. E- mail: eric.thorin@umontreal.ca

Methods

The data that support the findings of this study are available from the corresponding author upon reasonable request.

Animals All animal experiments were performed in accordance with the *Guide for the Care and Use of Experimental Animals of the Canadian Council on Animal Care* and the *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals* of the US National Institutes of Health (NIH Publication No. 85-23, revised 1996) and was approved by the Montreal Heart Institute Ethics Committee (ET No. 2015- 62-01). APP/PS1 mouse model (generous gift from Dr Bernard Levy, France) and wild-type (WT) mice were genotyped by standard PCR analysis of genomic DNA isolated from ear clips to select both hemizygous APP/PS1 males and their non-transgenic control (WT) male littermates, as previously described.¹ Mice were kept under standard conditions (24°C; 12-h:12-h light/dark cycle) and were fed *ad libitum* with regular chow (2019S; Harlan Laboratories, Madison, WI, US). Surgical TAC procedure was performed at the age of 4.5 months and all experiments and analyses were performed 6 weeks later, at 6 months of age.

Surgical procedure Transverse aortic constriction (TAC) was performed in mice using the method described.² In brief, in 4.5 month-old mice anesthetized with 2% isoflurane *via* inhalation, TAC- induced hypertension was performed between truncus anonymus and the left carotid, with a 7.0 nylon suture ligature placed around the aorta. A 27-gauge (0.4 mm diameter) needle was placed against and tied to the aorta with the suture. Then the needle was removed promptly to yield a constriction with a diameter approximately equal to that of the needle, producing a ~60% constriction. Another group of mice underwent the same surgical procedure without realizing aortic stenosis and were used as control (sham). After 6 weeks of constriction, blood pressure (systolic and diastolic pressures) in the right carotid artery was monitored under anesthesia using a Millar catheter (Millar Instruments) to confirm an increased in pulse pressure (PP) on the right side. In an additional group of mice, blood pressure was measured in the left carotid. Finally, to confirm the efficacy of surgery-induced aortic constriction, heart weight and total body weight were recorded (data not shown).

Cerebral Perfusion Measurement Cerebral blood perfusion was assessed by Magnetic Resonance Imaging (7T-MRI). All mice were initially anesthetized with 5% isoflurane in oxygen and then transferred to an animal holder within the magnet where they were maintained under 1.5-2.5% isoflurane in 30% oxygen in air and their body temperature was maintained at 37.0°C using a warm air fan (SA Instruments, Stony Brook, NY). Respiration (target=100, allowed range before adjusting isoflurane=80-120 BPM) and heart rate were monitored, the latter with a pulse oximeter. MRI was performed on a 30 cm 7T horizontal MR scanner (Agilent, Palo Alto, CA) with mice in prone position, with a 12 cm inner diameter gradient coil insert, gradient strength 600 mT/m, rise- time 130 ms. A 2-channel receive-only surface coil positioned over the mouse brain was used in combination with a quadrature transmit/receive birdcage coil with an internal diameter of 69 mm (RAPID Biomedical, Germany). A magnetization transfer scan was acquired, not analyzed here. Then a 3D amplitude-modulated continuous arterial spin labeling scan (amCASL) was run, with TR = 3.0 s, 1.0 s labeling duration, 60 x 54 x 48 matrix, 300 x 333 x 333 μ m resolution, 23 mins scan time.³ The tagging plane was kept in a fixed position nominally perpendicular to the carotids.

MRI data analysis: perfusion was calculated voxel-by-voxel using formula 1 in reference ³ with some parameters assumed constant: brain/blood partition coefficient=0.9 mL/g, mouse arterial blood transit time=0.08 s, tagging efficacy=0.67, $T_{1b} = 2.3$ s, $T_1 = 1.53$ s, $T_{1sat} = 0.57$ s, $M^z(w) = 0.48$ s. Then, the control scans, and hence, the perfusion scans, were manually co-registered to the template using affine ITK-SNAP transformations. Co-registration results were inspected in detail, and registration parameters were stored as potential confounding variables.

Neurobehavioral tests

Morris Water Maze for learning and spatial memory assessments The water-maze apparatus consisted of a white circular pool of 150 cm in diameter and 60 cm in height, filled with water made opaque with non-toxic white paint kept at a temperature of 22°C. A plastic transparent platform (10 cm in diameter) was placed 1.5 cm below the water surface and 40 cm from the edge of the pool, except on day one (habituation phase) where the platform was placed 0.5 cm above the water surface. The entire procedure took eleven days. Mice were individually transferred from the home-cage to the pool. Release points were balanced across 4 symmetrical positions on the pool perimeter. Each day of the test, mice underwent 4 trials during which they were allowed to freely swim for 60 seconds or until they found and climbed onto the platform; each trial was spaced from the other by a 60 minutes inter-trial interval. Platform finding was defined as staying for at least 3 seconds on the platform. On day one, during the habituation phase, mice that did not find the platform were trained in locating it by placing them on the platform for 30 seconds at the end of the trial. Then, 48 hours later, the acquisition phase started on day three (and during 5 days in a row), mice that did not find the platform were trained in locating it by placing them on the platform for 30 seconds at the end of the trial. On the fifth day of the acquisition phase and 48 hours after the last acquisition trial, the platform was removed from the pool and each mouse was tested for memory retention in a 60-s probe trial. During the probe trial platform was removed from the pool and the time spent in the target quadrant (TQ) of the maze (where the platform was located) was scored as a reliable measure of memory retention 72 hours after the last acquisition trial. The swim path of the mice and the time spent in the target quadrant were recorded by means of a computer-based video-tracking system Smart (version 3.0, Panlab/Harvard Apparatus). For the probe phases, the variables recorded were time spent in each quadrant.

Y-maze test for spatial working memory assessment The Y-maze test is based on spontaneous alternation behavior and is used to measure spatial working memory. The maze consists of three arms (41 cm long, 16 cm high, and 9 cm wide, labeled A, B, or C) diverging at a 120° angle from the central point. The experiments were performed in a dimly illuminated room, and the floor of the maze was cleaned with super hypochlorous water-soaked paper after each mouse to avoid olfactory cues. Each mouse was placed at the end of the starting arm and allowed to move freely through the maze during a 5-min session. The sequence of arm entries was manually recorded; a mouse was considered to have entered an arm when all four paws were positioned in the arm runway. An actual alternation was defined as entries into all of the three arms on consecutive occasions. The maximum alternation was subsequently calculated by measuring the total number of arm entries minus 2 and the percentage of alternation was calculated as (actual alternation/maximum alternation)*100. Total number of arms entered during the sessions (reflecting locomotor activity) was also recorded. Mice that entered arms less than eight times during the test were eliminated because the data obtained from those mice were not considered to be representative.

Endothelial function of cerebral arteries by pressurized arteriography Mice were euthanized by terminal anesthesia (44 mg/kg ketamine (Bimeda-MTC) and 2.2 mg/kg xylazine (Bayer), intra-peritoneal). Then, mice were decapitated and the brains were rapidly removed and placed in ice-cold physiological salt solution (PSS; mmol/L: 130 NaCl; 4.7 KCl; 1.18 KH₂PO₄; 1.17 MgSO₄; 14.9 NaHCO₃; 1.6 CaCl₂; 0.023 EDTA; 10 glucose; pH 7.4) aerated with 12% O₂; 5% CO₂; and 83% N₂ at 37°C. The middle cerebral artery (MCA) was isolated, transferred to the arteriograph chamber (Living System Instrumentation), cannulated and pressurized at 60 mm Hg for endothelial function assessment as previously described.⁴ The artery segment was equilibrated for 45 min, allowing for myogenic tone to develop. Because myogenic tone is very low in cerebral arteries from C57/Bl6 mice,⁵ after equilibration the arteries were pre-constricted with phenylephrine; then dilatory responses were tested with a single cumulative concentration response curve to acetylcholine (Ach, Sigma; 10⁻¹³ mol/L to 10⁻⁴ mol/L), on vessels pre-constricted to 30% of the initial diameter with phenylephrine (Sigma; 1 μmol/l). Responses to Ach were expressed as percentage of change in vessel diameter from pre-constriction tone.

Compliance of carotid and cerebral arteries Reactivity and compliance studies were performed on different arterial segments.⁶ Passive pressure-diameter curves were conducted in a Ca²⁺-free PSS containing 1 mM of EGTA to abolish myogenic tone and to assess the mechanical properties of the arteries. Internal and external diameter changes were measured after each increment of intraluminal pressure (from 10–120 mm Hg with a first 10-mm Hg step followed by 20-mmHg steps for cerebral arteries and from 60 to 180 mm Hg with 20-mm Hg steps for carotid arteries), to calculate mechanical parameters. The circumferential wall strain (Strain, %) was calculated according to $[(D - D_{\text{initial}} \text{ mm Hg}) / D_{\text{initial}} \text{ mm Hg}]$, where D is the internal diameter at a given pressure and D_{initial} mm Hg is the initial diameter at the initial pressure (10 mm Hg for cerebral arteries and 60 mm Hg for carotid arteries) as previously described.⁶

Arterial remodeling Wall thickness (μm) of isolated pressurized carotid and MCA used for the reactivity studies reflected arterial remodeling. To assess remodeling of parenchymal microvessels, the thickness of the basal lamina was measured on brain sections used to quantify microvessel density, using collagen IV fluorescence as a marker of basal lamina thickness; thickness was measured transversely on arterial segment of a length $>100 \mu\text{m}$.

Perfusion with Evans blue dye for brain barrier permeability Evans blue perfusion was performed as previously described.⁷ Briefly, mice were anesthetized with isoflurane (Baxter), the thoracic cavity was opened and the cardiac perfusion was performed first using PBS, followed by Evans blue cocktail (1% of Evans Blue in 4% paraformaldehyde (Evans Blue, Sigma; PFA, Sigma). Then, mice were decapitated and the brains were rapidly removed, post-fixed 4 h in 4% PFA, cryoprotected in 30% sucrose overnight at 4°C , snap frozen in liquid nitrogen and stored at -80°C .

Blood brain barrier permeability Cryotome $20\text{-}\mu\text{m}$ -thick coronal brain sections were fixed in 4% PFA for 1 h at RT (room temperature). After rinsing twice with PBS, slides were incubated for 20 min at RT in DAPI solution for nuclei staining. After washing, slides were covered by mounting medium and coverslips for imaging. Blood brain barrier permeability was visualized as Evans Blue fluorescence (excitation at 543 nm and emission at 680 nm) extravasion from microvessels.

Histology and immunostaining Coronal $30 \mu\text{m}$ -thick cryosections were mounted on glass slides (superfrost Plus, Fisherbrand, USA) and dried overnight. Four sections per animal, located at $+1.32$, -0.82 (cortex), -1.64 and -2.92 (hippocampus and cortex) from Bregma were analyzed. Fluorescence was visualized using confocal microscopy (Zeiss LSM 510; Carl Zeiss). All images were analyzed with the ImageJ software (version 2.0).

Microvessels density Brain sections were fixed in 4% PFA for 1 h at RT. After rinsing twice with PBS for 5 min, slides were incubated for 1 h at RT in PBS containing 0.5% Tween-20 and 4% BSA. Then, slides were washed with PBS and incubated at 4°C for 24h in PBS containing the polyclonal rabbit anti-collagen IV antibody, (1:100, Abcam ab19808) supplemented with 1% BSA; Collagen IV an established marker of the vessel basal lamina.⁸ After washing, slides were incubated at RT for 2 h in PBS containing Alexa Fluor 647 donkey anti-rabbit IgG (1:500, Abcam) and DAPI solution (1:600, ThermoFisher), supplemented with 1% BSA. Finally, slides were washed with PBS and covered by mounting medium and coverslips for imaging. Microvessels density was quantified as a percentage of collagen IV positive area per region of interest (ROI).

Astrogliosis Brain sections were fixed in 4% PFA for 1 h at RT. After rinsing twice with PBS, slides were incubated for 1 h at RT in PBS containing 0.5% Tween-20 and 4% BSA. After washing with PBS, slides were incubated at 4°C for 24 h in PBS containing the polyclonal rabbit anti-GFAP antibody, (1:1200, Abcam ab7260) supplemented with 1% BSA. After rinsing with PBS, slides were incubated at RT for 2 h in PBS containing Alexa Fluor 488 donkey anti-rabbit IgG (1:1600, Abcam) and DAPI solution (1:600, ThermoFisher), supplemented with 1% BSA. After rinsing twice with PBS for 5 min, slides were covered by mounting medium and coverslips for imaging. Astrocytes reactivity was quantified as a percentage of GFAP positive area per region of interest (ROI).

TUNEL staining Tissues undergoing apoptosis were labelled by TUNEL staining using the *in situ* cell death detection kit (Roche). Briefly, brain sections were fixed in 4% PFA. After rinsing twice with PBS for 5 min, slides were permeabilized in PBS containing 0.5% Triton X-100 for 20 min at RT and then rinsed twice again in PBS. Then, slides were incubated with the TUNEL reaction mixture (consists of terminal deoxynucleotidyl transferase (TdT) and fluorescein-dUTP) at 37°C for 2 h in a dark humidified chamber. For immunohistochemical detection of apoptotic endothelial cells, slides were subsequently incubated with a rabbit polyclonal anti-CD31 antibody (1:100 dilution; Abcam ab28364) overnight at 4°C and then incubated at RT for 2 h in PBS containing Alexa Fluor 488 donkey antirabbit IgG (1:500, Abcam) supplemented with 1% BSA. After rinsing twice with PBS for 5 min, slides were covered by mounting medium and coverslips for imaging. One negative control (incubated with label solution without terminal transferase) and one positive control (pre-treatment with Dnase I recombinant) were done. Apoptosis was quantified as a percentage of apoptotic events positive area per ROI.

Thioflavin-S staining Brain sections were fixed in 4% PFA. After rinsing twice with PBS, slides were incubated for 15 min at RT with 0.2% thioflavin S (Sigma-Aldrich) solution in 80% ethanol followed by

washing in 80% ethanol (1 min), 70% ethanol (1 min) and twice in distilled water. Slides were covered by mounting medium and coverslips for imaging. Amyloid burden was quantified as a thioflavin S-positive area per mm².

Prussian blue staining for micro-hemorrhage Prussian Blue staining was performed as previously described.⁹ Brain sections were fixed in 4% PFA. After rinsing twice with PBS for 5 min, slides were incubated for 30 min at RT in the fume hood, with freshly mixed 4% potassium ferrocyanide with 4% hydrochloric acid. Slides were rinsed under running tap water for 3×10 minutes. Next, slides were counter-stained using nuclear fast red at RT for 5 minutes, rinsed under running tap water for 1 min, dehydrated quickly in 95% and 100% ethanol, cleared in xylene, covered by mounting medium and coverslips for imaging (Olympus BX45). The number of events per section was counted.

Biochemical analysis Mice were euthanized by terminal anesthesia (44 mg/kg ketamine and 2.2 mg/kg xylazine, intraperitoneally). Then, mice were decapitated and the brains were rapidly removed and cut sagittally into left and right hemispheres. The hemispheres were snap frozen in liquid nitrogen and stored at -80°C. For protein extraction, brain hemispheres were homogenized in PBS buffer (pH 7.4 supplemented with phosphatase and protease inhibitor cocktail) (Sigma-Aldrich). Then, cerebral microvessels were separated from parenchymal brain tissue as described previously.¹⁰ Half of the parenchymal brain fraction was centrifuged at 25,000 g for 60 min at 4°C and the supernatant was used for determining the soluble amyloid levels (Amyloid beta 42 Human ELISA Kit and Amyloid beta 40 Human ELISA Kit, ThermoFisher). Another half of the parenchymal brain fraction was centrifuged at 3,000 g for 10 min at 4°C. The resulting pellet was incubated for 30 min in lysis buffer at 4°C and centrifuged at 12,000 g for 15 min at 4°C and used for Western blot analysis. Protein concentration in the supernatants was determined using the BCA Protein Assay Reagent (Bio-rad). Then, 15 µg of proteins extracted from the microvessels brain fraction and 30 µg of proteins extracted from the parenchymal brain fraction were loaded and separated on 10-12% acrylamide SDS-PAGE gels, transferred onto nitrocellulose membranes, and probed with antibodies against claudin-5 (1:1000, ThermoFisher, 4C3C2), ZO-1 (1:1000, ThermoFisher, 61-7300), occludin (1:1000, ThermoFisher, OC-3F10), eNOS (1:500, BD Biosciences, 610296), synaptophysin (1:1000, Sigma, SAB4502906), PSD-95 (1:1000, Abcam, ab2723) and BDNF (1:500, Alomone labs, ANT-010), p21 (1:1000, Abcam, ab109199), caspase 3 (1:500, Abcam, ab13847) antibodies. Membranes were then probed with respective anti-rabbit or anti-mouse secondary antibodies at a dilution factor of 1:10,000. Chemiluminescence was used to detect protein expression (Western Lightning Plus ECL, Perkin Elmer). Band intensity (integrated optical density) was quantified with Quantity One software (version 4.6.9), after background subtraction.

Statistical analysis

Statistical analyses were performed with the software Prism (Prism 6.0, GraphPad). Statistical analysis of behavioral tests was performed with the program Smart (Smart 3.0, Panlab). Data are expressed as means ± standard error of the mean (SEM). All group comparisons were analyzed using two-way ANOVA with repeated measure; Sidak's multiple comparisons tests were performed when the interaction between "Surgery" (Sham *versus* TAC) and "Side of the brain" (contralateral *versus* ipsilateral) was significant (p<0.05).

References

- 1. Radde R, Bolmont T, Kaeser SA, Coomaraswamy J, Lindau D, Stoltze L, Calhoun ME, Jaggi F, Wolburg H, Gengler S, Haass C, Ghetti B, Czech C, Holscher C, Mathews PM, Jucker M.** Abeta42-driven cerebral amyloidosis in transgenic mice reveals early and robust pathology. *EMBO reports*. 2006;7:940-946
- 2. Rockman HA, Ross RS, Harris AN, Knowlton KU, Steinhilber ME, Field LJ, Ross J, Jr., Chien KR.** Segregation of atrial-specific and inducible expression of an atrial natriuretic factor transgene in an in vivo murine model of cardiac hypertrophy. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1991;88:8277-8281
- 3. Chugh BP, Bishop J, Zhou YQ, Wu J, Henkelman RM, Sled JG.** Robust method for 3d arterial spin labeling in mice. *Magn Reson Med*. 2012;68:98-106
- 4. Drouin A, Thorin E.** Flow-induced dilation is mediated by akt-dependent activation of endothelial nitric oxide synthase-derived hydrogen peroxide in mouse cerebral arteries. *Stroke*. 2009;40:1827-1833
- 5. Raignault A, Bolduc V, Lesage F, Thorin E.** Pulse pressure-dependent cerebrovascular enos regulation in mice. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2017;37:413-424
- 6. Bolduc V, Drouin A, Gillis MA, Duquette N, Thorin-Trescases N, Frayne-Robillard I, Des Rosiers C, Tardif JC, Thorin E.** Heart rate-associated mechanical stress impairs carotid but not cerebral artery compliance in dyslipidemic atherosclerotic mice. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2011;301:H2081-2092
- 7. Braniste V, Al-Asmakh M, Kowal C, Anuar F, Abbaspour A, Toth M, Korecka A, Bakocevic N, Ng LG, Kundu P, Gulyas B, Halldin C, Hultenby K, Nilsson H, Hebert H, Volpe BT, Diamond B, Pettersson S.** The gut microbiota influences blood-brain barrier permeability in mice. *Sci Transl Med*. 2014;6:263ra158
- 8. Schmidt D, von Hochstetter AR.** The use of cd31 and collagen iv as vascular markers. A study of 56 vascular lesions. *Pathology, research and practice*. 1995;191:410-414
- 9. Li H, Guo Q, Inoue T, Polito VA, Tabuchi K, Hammer RE, Pautler RG, Taffet GE, Zheng H.** Vascular and parenchymal amyloid pathology in an alzheimer disease knock-in mouse model: Interplay with cerebral blood flow. *Mol Neurodegener*. 2014;9:28
- 10. Li X, Geary GG, Gonzales RJ, Krause DN, Duckles SP.** Effect of estrogen on cerebrovascular prostaglandins is amplified in mice with dysfunctional nos. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2004;287:H588-594

Table S1: Blood pressure and heart rate analysis in contralateral and ipsilateral carotids of WT and APP/PS1 mice.

Groups	SAP (mm Hg)	DAP (mm Hg)	PP (mm Hg)	MAP (mm Hg)	Heart rate (bpm)
WT-sham, contralateral	109.1±4.1	81.7±3.4	27.4±2.2	90.8±7.0	517.4±51.4
WT-sham, ipsilateral	99.9±1.4	67.5±1.9	31.6±1.4	78.06±3.7	557.0±14.7
WT-TAC, contralateral	109.2±19.4	72.3±10.0	37.0±13.8	84.6±24.5	592.3±21.2
WT-TAC, ipsilateral	160.3±5.2 *, \$	76.7±2.0	83.6±3.6 *, \$	104.5±7.3*, \$	612.8±8.9
APP/PS1-sham, contralateral	102.0±2.0	75.0±1.0	28.4±2.4	83.9±0.7	537.7±12.8
APP/PS1-sham, ipsilateral	99.5±1.5	66.1±0.9	33.4±1.2	79.5±5.7	550.0±14.3
APP/PS1-TAC, contralateral	112.0±13.4	75.5±7.4	36.6±8.1	87.7±20.2	564.2±10.4
APP/PS1-TAC, ipsilateral	170.4±4.4 *, \$	74.3±3.2	96.1±3.3 *, \$	106.3±8.1*, \$	572.8±23.8

SAP: systolic arterial pressure; DAP: diastolic arterial pressure; MAP: mean arterial pressure; PP: pulse pressure. Data are mean±SEM of n=4-6 WT mice and n=4-5 APP/PS1 mice. All analyses were performed by 2-way ANOVA (Surgery x Side of the brain) with repeated measures and Sidak's multiple comparisons test. *: p<0.05 vs. sham; \$: p<0.05 vs. contralateral side of the brain. Note: After 6 weeks, the surgical procedure is associated with an increase of the heart weight (mg) / body weight (g) ratio in TAC-mice: from 6.0±0.2 mg/g in sham to 8.1±0.4 in TAC WT mice (p<0.05, n=12); from 5.7±0.4 in sham to 8.0±0.4 in TAC APP/PS1 mice (p<0.05, n=12).

Table S2: Myogenic tone and levels of pre-constriction induced by phenylephrine in contralateral and ipsilateral MCA of WT and APP/PS1 mice.

Parameters	WT contra	sham WT sham ipsi	WT contra	TAC	WT TAC ipsi
<i>Myogenic tone (%)</i>	1.9±3.5	1.2±1.5	3.6±3.0		6.2±3.8*
<i>Level of pre-constriction with phenylephrine (%)</i>	29.8±3.1	27.6±1.8	29.8±6.7		30.2±8.1
	APP/PS1 sham contra	APP/PS1 sham ipsi	APP/PS1 TAC contra		APP/PS1 TAC ipsi
<i>Myogenic tone (%)</i>	1.3±2.2	1.1±1.2	3.6±5.3		9.8±5.1*, \$
<i>Level of pre-constriction with phenylephrine (%)</i>	23.8±5.2	26.2±5.4	25.3±4.0		33.2±3.8

Data are mean±SEM of n=4 WT mice and n=4 APP/PS1 mice. All analyses were performed by 2- way ANOVA (Surgery x Side of the brain) with repeated measures and Sidak's multiple comparisons test. *: p<0.05 vs. sham; \$: p<0.05 vs. contralateral side of the brain.

Figure S1:

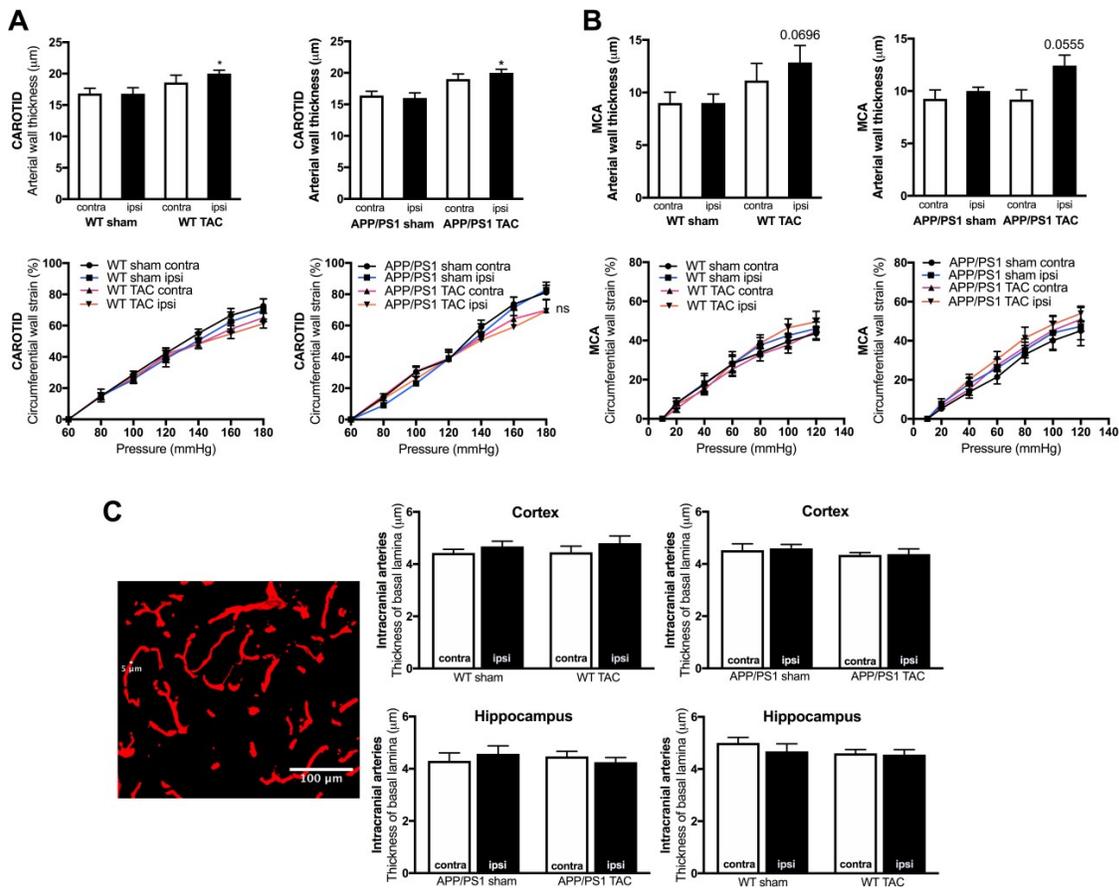
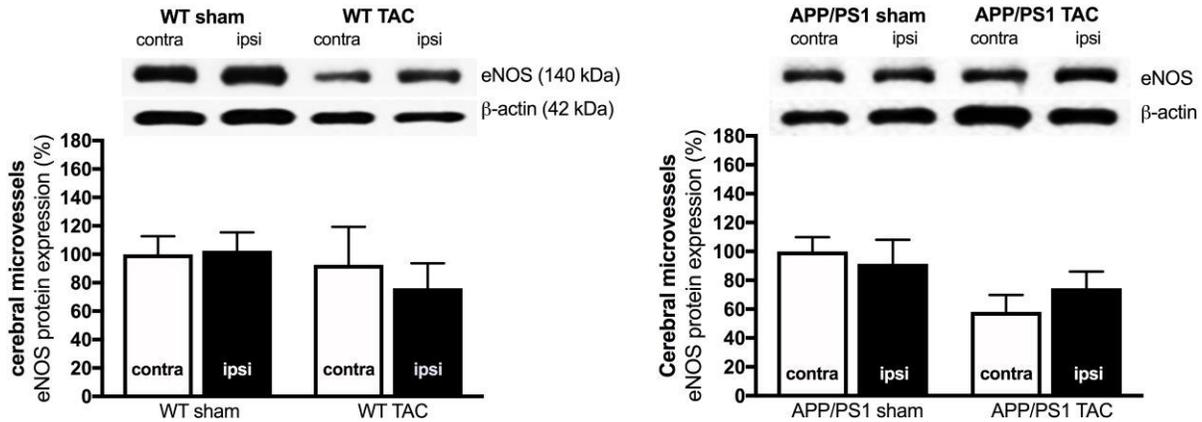
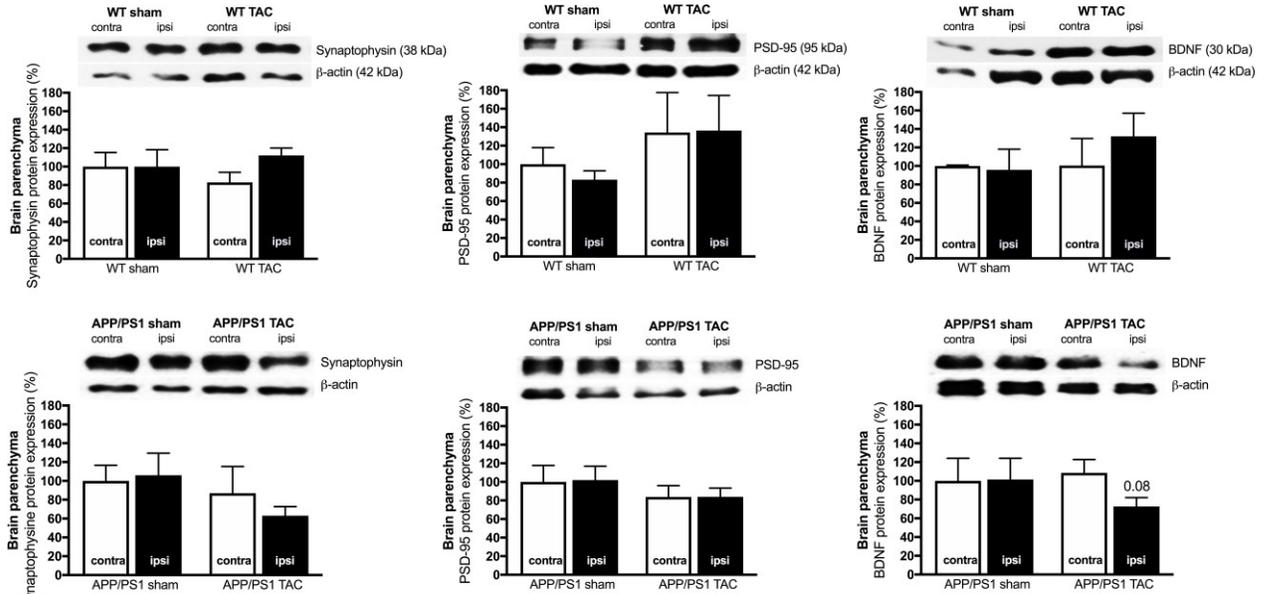


Figure S2:



Western blot analysis of eNOS expression in the microvascular fraction of brains extracted from WT and APP/PS1 mice, in sham and TAC mice. Data are mean±SEM of n=6 WT mice and n=6 APP/PS1 mice. All analyses were performed by 2-way ANOVA (Surgery x Side of the brain) with repeated measures and Sidak's multiple comparisons test.

Figure S3:



Western blot analysis of synaptophysin, PSD-95 and BDNF expression in the parenchymal fraction of brains extracted from WT and APP/PS1 mice, in sham and TAC mice. Data are mean±SEM of n=6 WT mice and of n=6 APP/PS1 mice. All analyses were performed by 2-way ANOVA (Surgery x Side of the brain) with repeated measures and Sidaak's multiple comparisons test.

2.6.2 ARTICLE #2

Titre : Systolic hypertension-induced NVU disruption and cognitive decline is magnified in middle-age atherosclerotic LDLr^{-/-}:hApoB^{+/+} mice

Statut : Soumis sur invitation du Dr Zoltan Ungvari, éditeur du journal *Geroscience* (formerly AGE: Journal of the American Aging Association), pour publication dans un numéro spécial intitulé: « Where neuroscience meets geroscience: mechanisms at the interface between aging and neurodegeneration », accepté pour publication le 13 avril 2019 et publié en ligne le 15 mai 2019.

PMID: 31093829

Apport original et contribution des co-auteurs :

Olivia de Montgolfier : a conçu le projet, a effectué l'assistance aux chirurgies des souris et aux scans d'IRM, a effectué le suivi post-opératoire des souris, a conçu et réalisé toutes les expériences, a analysé les données, interprété les résultats, réalisé les statistiques, préparé les figures, rédigé le manuscrit et a approuvé la version finale du manuscrit.

Philippe Pouliot : a réalisé les scans et les analyses d'IRM et a approuvé la version finale du manuscrit.

Marc-Antoine Gillis : a réalisé la chirurgie TAC, l'injection transcardiaque du bleu d'Evans, a effectué les mesures de pression Millar et a approuvé la version finale du manuscrit.

Guylaine Ferland : a fourni l'expertise pour les expériences de comportement, a édité le manuscrit et a approuvé la version finale du manuscrit.

Frédéric Lesage : a fourni de l'expertise pour les expériences d'IRM, a édité le manuscrit et a approuvé la version finale du manuscrit.

Nathalie Thorin-Trescases: a interprété les résultats, édité le manuscrit et a approuvé la version finale du manuscrit.

Éric Thorin : a conçu et financé le projet, interprété les résultats, édité le manuscrit et a approuvé la version finale du manuscrit.



Systolic hypertension-induced neurovascular unit disruption magnifies vascular cognitive impairment in middle-age atherosclerotic LDLr^{-/-}:hApoB^{+/+} mice

Olivia de Montgolfier · Philippe Pouliot · Marc-Antoine Gillis · Guylaine Ferland · Frédéric Lesage · Nathalie Thorin-Trescases · Éric Thorin 

Received: 25 March 2019 / Accepted: 16 April 2019
© American Aging Association 2019

Abstract Cognitive functions are dependent upon intercommunications between the cellular components of the neurovascular unit (NVU). Vascular risk factors are associated with a more rapid rate of cognitive decline with aging and cerebrovascular diseases magnify both the incidence and the rate of cognitive decline. The causal relationship between vascular risk factors and injury to the NVU is, however, lacking. We hypothesized that vascular risk factors, such as hypertension and dyslipidemia, promote disruption of the NVU leading to early cognitive impairment. We compared brain structure and cerebrovascular functions of 1-year old (middle-aged) male wild-type (WT) and atherosclerotic hypertensive (LDLr^{-/-}:hApoB^{+/+}, ATX) mice. In addition, mice were subjected, or not, to a transverse aortic

constriction (TAC) for 6 weeks to assess the acute impact of an increase in systolic blood pressure on the NVU and cognitive functions. Compared with WT mice, ATX mice prematurely developed cognitive decline associated with cerebral micro-hemorrhages, loss of microvessel density and brain atrophy, cerebral endothelial cell senescence and dysfunction, brain inflammation, and oxidative stress associated with blood-brain barrier leakage and brain hypoperfusion. These data suggest functional disturbances in both vascular and parenchymal components of the NVU. Exposure to TAC-induced systolic hypertension promoted cerebrovascular damage and cognitive decline in WT mice, similar to those observed in sham-operated ATX mice; TAC exacerbated the existing cerebrovascular dysfunctions and cognitive failure in ATX mice. Thus, a hemodynamic stress such as systolic hypertension could initiate the cascade involving cerebrovascular injury and NVU deregulation and lead to cognitive decline, a process accelerated in atherosclerotic mice.

O. de Montgolfier · É. Thorin
Faculty of Medicine, Department of pharmacology and physiology, Université de Montréal, Montreal, QC, Canada

O. de Montgolfier · P. Pouliot · M.-A. Gillis · G. Ferland · F. Lesage · N. Thorin-Trescases · É. Thorin (✉)
Research Center, Montreal Heart Institute, 5000 rue Bélanger Est, Montreal, QC H1T 1C8, Canada
e-mail: eric.thorin@umontreal.ca

P. Pouliot · F. Lesage
Ecole Polytechnique de Montréal, Montreal, QC, Canada

G. Ferland
Faculty of Medicine, Department of nutrition, Université de Montréal, Montreal, QC, Canada

É. Thorin
Faculty of Medicine, Department of surgery, Université de Montréal, Montreal, QC, Canada

Keywords Hypertension · 7T-MRI · Senescence · Apoptosis · Transverse aortic constriction · Endothelial function · Blood-brain barrier · Carotid stiffness · VCID

Introduction

Cardiovascular diseases (CVD), such as hypertension, atherosclerosis and stroke, and neurological disorders such as sporadic Alzheimer disease (AD) or consecutive to cerebrovascular diseases such as vascular cognitive

impairment and dementia (VCID), commonly occur concomitantly in the elderly (Donnan et al. 2008; Taylor et al. 2017). When combined, CVD and neurological disorders may be the highest determinant of whether individuals develop dementia (DeCarli 2012). Midlife CVD increase the risk of late-life dementia (Fotuhi et al. 2012) and individuals who present a history of vascular risk factors also show a more rapid rate of cognitive decline (O'Donnell et al. 2012). Epidemiological studies in individuals with AD or in the elderly identified vascular complications associated with peripheral or brain diseases as risk factors for AD (Breteler 2000; de la Torre 2002). Altogether, this suggests that cognitive decline may be unveiled by brain vascular abnormalities and in particular brain microvascular abnormalities (de la Torre 2002; de Montgolfier et al. 2019; Zlokovic 2002).

Vascular cells (endothelial, smooth muscle cells (VSMC), pericytes) share intimate interactions with brain tissues (astrocytes, neurons, their axons, and other supporting cells), forming the neurovascular unit (NVU), which is crucial for brain homeostasis (Iadecola 2004). Alterations in vascular integrity evidenced in patients by augmented blood-brain barrier (BBB) permeability (Nation et al. 2019) have downstream effects within the NVU, including changes in blood flow dynamics, cerebrovascular autoregulation, and neuroinflammation (Toth et al. 2013), as well as neuronal and synaptic dysfunctions (Zlokovic 2008). Consequently, a disruption of the NVU, which occurs in aging and in neurodegenerative diseases, is associated with cognitive decline (Kisler et al. 2017). Changes in vascular homeostasis may precede neurodegenerative disorders observed with aging (Nation et al. 2019; Zlokovic 2011), but relatively little is known about the causal relationship between vascular risk factors and disruption of the NVU. It is essential to better understand how vascular risk factors influence brain function to propose preventive interventions and treatments that could protect cognitive skills and abilities in the elderly.

Using our severely dyslipidemic and spontaneously atherosclerotic $LDLr^{-/-};hApoB^{+/+}$ (ATX) mice that display mild hypertension and both peripheral and cerebral vascular dysfunction including carotid stiffening (Bolduc et al. 2011; Drouin et al. 2011a), we hypothesized that they were more susceptible to vascular stress, which would lead to premature loss of BBB integrity, NVU uncoupling, and cognitive impairment. We then explored whether an acute exogenous vascular stress

induced by a systolic pressure overload, using TAC surgery as a model of isolated systolic hypertension, would result in a cognitive decline in WT mice similar to that observed in naïve ATX mice and lead to aggravated brain damage in ATX mice. Our results suggest that in ATX and in TAC mice, the NVU uncoupling associated with vascular dysfunctions is determinant to the premature decline of brain and cognitive functions. We propose that a hemodynamic vascular stress such as systolic hypertension could initiate the cascade involving cerebrovascular injury and NVU deregulation and lead to cognitive decline, a process accelerated in dyslipidemic and hypertensive ATX mice.

Methods

Animals

We used male dyslipidemic $LDLr^{-/-};ApoB_{100}^{+/+}$ (ATX) mice (C57Bl/6J/SJL/129S mixed background) ($n = 44$) and male C57Bl/6J wild-type (WT) mice ($n = 45$) (Bolduc et al. 2011). ATX mice develop atherosclerotic lesions in the aorta by the age of 6 months (Bolduc et al. 2011) with elevation in circulating levels of lipids between 3 and 12 months of age (Drouin et al. 2011b); cerebral arteries of 12-month-old ATX mice do not present macroscopic signs of atherosclerosis (Drouin et al. 2011b). ATX mice maximal life expectancy is reduced compared to WT mice (25.2 vs. 32.8 months, $p < 0.05$; Fig. 1a). All experiments were performed in 1-year-old mice in accordance with the *Guide for the Care and Use of Experimental Animals of the Canadian Council on Animal Care* and the *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals* of the US National Institutes of Health (NIH Publication No. 85-23, revised 1996) and the study was approved by the Montreal Heart Institute Ethics Committee (ET No. 2015-62-01). Mice were kept under standard conditions (24 °C; 12-h:12-h light/dark cycle) and were fed ad libitum with regular chow (2019S; Harlan Laboratories, Madison, WI, US).

Surgical procedure and blood pressure measures

Transverse aortic constriction (TAC) was performed in mice as previously reported (de Montgolfier et al. 2019) using the method initially described by Rockman and collaborators (Rockman et al. 1991). In brief, in 10.5-month-old mice anesthetized with 2% isoflurane via

inhalation, TAC-induced hypertension in the right brain hemisphere (ipsilateral side) was performed between truncus anonymous and the left carotid, with a 7.0 nylon suture ligature placed around the aorta. A 27-gauge (0.4 mm diameter) needle was placed against and tied to the aorta with the suture. Then, the needle was removed promptly to yield a constriction with a diameter approximately equal to that of the needle, producing a ~60% aortic constriction. Another group of mice underwent the same surgical procedure without realizing aortic stenosis and were used as control (sham). After 6 weeks of constriction (at the age of 1 year), blood pressure (systolic and diastolic pressures) in the right carotid artery was monitored under anesthesia (44 mg/kg ketamine [Bimeda-MTC, Cambridge, ON, Canada] and 2.2 mg/kg xylazine [Bayer, Mississauga, ON, Canada], intra-peritoneal) using a Millar catheter (Millar Instruments, Houston, TX, USA) to confirm an increased in pulse pressure (PP) on the right ipsilateral side (de Montgolfier et al. 2019). Mice were then euthanized and heart weight and total body weight were recorded (Fig. 1b). Perioperative mortality was also noted (Fig. 1c).

MRI acquisitions and data analysis

Magnetic resonance imaging (7T-MRI) was performed in anesthetized 1-year-old mice to measure cerebral blood perfusion using a CASL technique as previously described (de Montgolfier et al. 2019). Anatomical scans were also performed using a 3D true free induction with steady-state precession (TFISP) sequence (Pouliot et al. 2017) at 100- μ m isotropic resolution. All mice were initially anesthetized with 5% isoflurane in oxygen and then transferred to an animal holder within the magnet where they were maintained under 1.5–2.5% isoflurane in 30% oxygen in air and their body temperature was maintained at 37.0 °C using a warm air fan (SA Instruments, Stony Brook, NY). Respiration (target = 100, allowed range before adjusting isoflurane = 80–120 BPM) and heart rate were monitored, the latter with a pulse oximeter. The computations were performed using Advanced Normalization Tools (ANTs) (Avants et al. 2008; Avants et al. 2011; Tustison et al. 2010) (version 2.1.0), called from Matlab, and run on a server (Briarée, Calcul Québec, Canada). The physical dimensions in the headers of all images were initially multiplied by a factor of 10, thus making a mouse brain of comparable size to a human brain. This helped with running the ANTs scripts

on mice, suggesting that some dimension parameters in ANTs are hard-coded.

Co-registration Brains of all mice were manually masked using ITK-SNAP (version 3.6) (Yushkevich et al. 2006). An initial template was then constructed using the `antsMultivariate-TemplateConstruction2.sh` ANTs script. To help with achieving higher spatial sensitivity, the brains were digitally up-sampled by a factor of 2 in each dimension. To improve on the initial manual masks and on the template construction, a template mask larger than the brain by several voxels in all directions was projected onto all the brains, and the ANTs script was re-run allowing for more iterations at each stage. This resulted in extracted brains, linear and non-linear transformation parameters, and a template with 50- μ m isotropic resolution. A 32- μ m isotropic resolution *ex vivo* atlas with 62 structures was co-registered to that template (Dorr et al. 2008) and its labels were projected onto each brain in native space. A thorough visualization of all co-registrations superposed with the atlas labels was made by generating mosaics of cuts in the three standard orthogonal planes.

Segmentation The `antsAtroposN4.sh` ANTs script was used to generate a four-tissue segmentation of the template (GM = gray matter, WM = white matter, DGM = deep gray matter). Options used consisted in the `HistogramParzenWindow` (Avants et al. 2011; Yushkevich et al. 2006) option in ANTs, and setting the `mrf` parameter to 0.005, while keeping the default 0.25 weight for priors. The output was a segmentation image of the template and tissue probability posteriors. These were then used as priors, after projection to the native space of each brain, for the application of the `antsAtroposN4.sh` script to each mouse brain. The segmentations were also visualized thoroughly with mosaics as for the co-registrations above.

Volumes of segmented brain regions of interest were normalized to total brain volume within the corresponding genotype. Partial volumes were computed from the intersections of the atlas with the four-tissue segmentation, which was reduced to three tissues by combining deep gray matter with gray matter. To reduce the number of voxels in an atlas region which belonged to a tissue segmentation type different from its main type (e.g., gray matter voxels in the corpus callosum or white matter voxels in the cortex), cerebrospinal fluid voxels from the

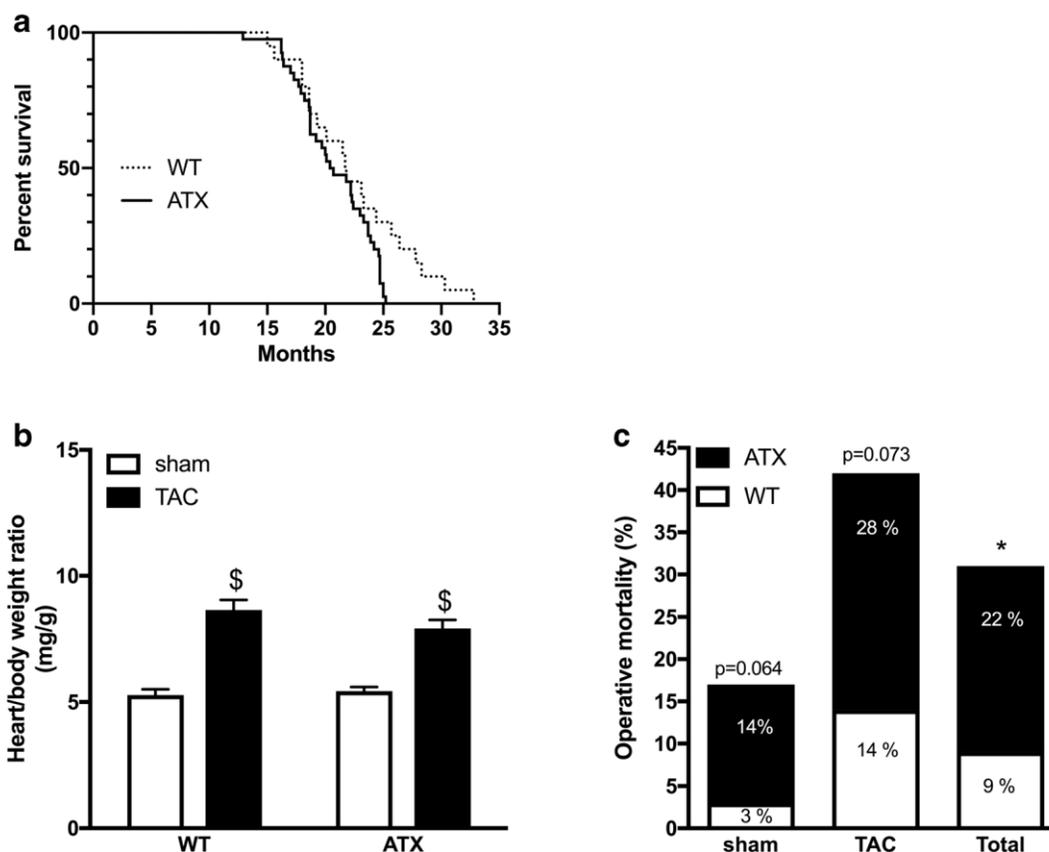


Fig. 1 Survival curve of ATX ($n=40$) and WT ($n=20$) mice. Median survival is similar in ATX (20.5 month) and in WT mice (21.7 months). ATX mice life expectancy, however, is reduced (25.2 vs. 32.8 months; log-rank (Mantel Cox) test chi-square = 4.092, $p=0.0431$). Effect of TAC surgery on **b** heart/body weight ratio in WT ($n=45$) and ATX ($n=44$) mice; **c** operative mortality

in WT ($n=45$) and ATX ($n=44$) mice after sham and TAC surgical procedures. Percentages include the proportion of deaths that occurred during or soon after (24–48 h) the surgical procedure. Data are mean ± SEM. $^{\$}p < 0.05$ vs. sham mice; $^*p < 0.05$ vs. WT mice

segmentation were all assigned to ventricles in the atlas, and then two iterations of the following assignment algorithm were applied: each atlas region was grown outward by one voxel and the new atlas region was defined as the intersection of the grown region with the voxels of the segmentation that are of the correct type for that region.

Neurobehavioral tests Neurobehavioral tests were performed in 1-year-old mice as previously described (de Montgolfier et al. 2019). Animals were assigned to groups randomly. The *Morris Water Maze test* was performed to assess learning and spatial memory. The water maze apparatus consisted of a white circular pool of 150 cm in diameter and 60 cm in height, filled with water made opaque with

non-toxic white paint kept at a temperature of 22 °C. A plastic transparent platform (10 cm in diameter) was placed 1.5 cm below the water surface and 40 cm from the edge of the pool, except on day 1 (habituation phase) where the platform was placed 0.5 cm above the water surface. The entire procedure took 11 days. Mice were individually transferred from the home-cage to the pool. Release points were balanced across four symmetrical positions on the pool perimeter. Each day of the test, mice underwent four trials during which they were allowed to freely swim for 60 s or until they found and climbed onto the platform; each trial was spaced from the other by a 60-min inter-trial interval. Platform finding was defined as staying for at least 3 s on the platform. On day 1, during the habituation

phase, mice that did not find the platform were trained in locating it by placing them on the platform for 30 s at the end of the trial. Then, 48 h later, the acquisition phase started on day 3 (and during 5 days in a row); mice that did not find the platform were trained in locating it by placing them on the platform for 30 s at the end of the trial. On the fifth day of the acquisition phase and 48 h after the last acquisition trial, the platform was removed from the pool and each mouse was tested for memory retention in a 60-s probe trial. During the probe trial, the time spent in the target quadrant (TQ) of the maze (where the platform was located) was scored as a reliable measure of memory retention 72 h after the last acquisition trial. The swim path of the mice and the time spent in the target quadrant were recorded by means of a computer-based video-tracking system Smart (version 3.0, Panlab/Harvard Apparatus). For the probe phases, the variables recorded were time spent in each quadrant. All recordings were automatically quantified without human intervention.

The Y-maze test was performed to assess spatial working memory. The Y-maze test is based on spontaneous alternation behavior and is used to measure spatial working memory. The maze consists of three arms (41 cm long, 16 cm high, and 9 cm wide, labeled A, B, or C) diverging at a 120° angle from the central point. The experiments were performed in a dimly illuminated room, and the floor of the maze was cleaned with super hypochlorous water-soaked paper after each mouse to avoid olfactory cues. Each mouse was placed at the end of the starting arm and allowed to move freely through the maze during a 5-min session. The sequence of arm entries was manually recorded with strict criteria (standard operating procedures) to assure independence from the experimenter: (1) a mouse was considered to have entered an arm when all four paws were positioned in the arm runway; (2) an actual alternation was defined as entries into all of the three arms on consecutive occasions. The maximum alternation was subsequently calculated by measuring the total number of arm entries minus 2 and the percentage of alternation was calculated as (actual alternations/maximum alternations)×100. Total number of arms entered during the sessions (reflecting locomotor activity) was also recorded. Mice that entered arms less than eight times during the test were eliminated because the data obtained

from those mice were not considered to be representative.

Cerebral vessels and parenchymal isolation

After blood pressure acquisition and euthanasia, brains were rapidly removed and cut sagittally into contralateral and ipsilateral hemispheres as previously described (de Montgolfier et al. 2019). The hemispheres were snap frozen in liquid nitrogen and stored at −80 °C. Ipsilateral brain hemispheres were homogenized in ice-cold PBS buffer (pH 7.4 supplemented with phosphatase and protease inhibitor cocktail) (Sigma-Aldrich, Oakville, ON, Canada) with a loosely fitting Dounce homogenizer, and centrifuged at 2000g for 5 min at 4 °C. The non-vascular supernatant was removed and stored on ice. The vascular pellet was re-suspended in PBS and centrifuged at 2000g for another 5 min at 4 °C. The supernatant was combined with the first non-vascular supernatant and centrifuged for 10 min at 3000g at 4 °C. The resulting pellet containing the parenchymal fraction was stored at −80 °C in QUIAZOL buffer (Qiagen, Montreal, QC, Canada) until RNA extraction. The vascular pellets were re-suspended in PBS and centrifuged at 2000g at 4 °C. The supernatant was discarded and the pellet re-suspended in cold PBS (twice). Then, the re-suspended pellet was passed through a 50-µm nylon mesh (CellMicroSieves, Biorad, Carmel, NY, USA) and microvessels retained on the mesh were washed with cold PBS. Microcerebral vessels were collected in cold PBS and centrifuged for 10 min at 3000g at 4 °C. The resulting pellet containing the cerebral vessels was stored at −80 °C in RLT buffer (Qiagen) supplemented with β-mercaptoethanol until RNA extraction. Thus, from the same mouse, gene expression was measured in both the microvascular and the parenchymal fractions of the brain. Purity of the two preparations was controlled by Western blot of eNOS and synaptophysin proteins (Fig. 2).

Endothelial function of cerebral arteries by pressurized arteriography

Freshly isolated brains were placed in ice-cold physiological salt solution (PSS; mmol/L: 130 NaCl; 4.7 KCl; 1.18 KH₂PO₄; 1.17 MgSO₄; 14.9 NaHCO₃; 1.6 CaCl₂; 0.023 EDTA; 10 glucose; pH 7.4) aerated with 12% O₂, 5% CO₂, and 83% N₂ at 37 °C. The middle cerebral artery (MCA) of the ipsilateral hemisphere was isolated,

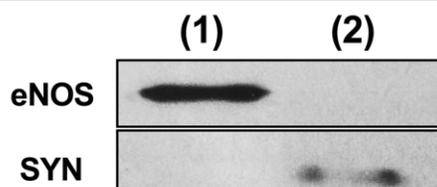


Fig. 2 Microvascular versus parenchymal brain fractions. Protein expression of eNOS in the microvascular fraction only, and of synaptophysin (SYN) in the parenchymal fraction only. (1): cerebral microvessels; (2): parenchymal fraction

transferred to the arteriograph chamber (Living System Instrumentation, St-Alban, VT, USA), cannulated, and pressurized at 60 mmHg for endothelial function assessment as previously described (de Montgolfier et al. 2019; Drouin and Thorin 2009). The artery segment was equilibrated for 45 min, allowing for myogenic tone to develop. Because myogenic tone is very low in cerebral arteries from C57Bl/6 mice (Raignault et al. 2017), arteries were pre-constricted to ~25% of the initial diameter with phenylephrine (Sigma-Aldrich; 1 $\mu\text{mol/L}$) after equilibration and myogenic tone development, as previously reported (Raignault et al. 2017); then, dilatory responses were tested with a single cumulative concentration response curve to acetylcholine (Ach, Sigma-Aldrich; 10^{-13} mol/L to 10^{-4} mol/L). Responses to Ach were expressed as percentage of change in vessel diameter from pre-constriction tone.

Compliance of carotid and cerebral arteries

Reactivity and compliance studies were performed on different arterial segments from the ipsilateral hemisphere. Passive pressure-diameter curves were conducted in a Ca^{2+} -free PSS containing 1 mM of EGTA to abolish myogenic tone and to assess the mechanical properties of the arteries (Bolduc et al. 2011; de Montgolfier et al. 2019). Internal and external diameter changes were measured after each increment of intraluminal pressure (from 10 to 120 mmHg with a first 10-mmHg step followed by 20-mmHg steps for cerebral arteries and from 60 to 180 mmHg with 20-mmHg steps for carotid arteries), to calculate mechanical parameters. The circumferential wall strain (strain, %) was calculated according to $[(D - D_{\text{initial mmHg}}) / D_{\text{initial mmHg}}]$, where D is the internal diameter at a given pressure and $D_{\text{initial mmHg}}$ is the initial diameter at the initial pressure (10 mmHg for cerebral arteries and 60 mmHg for carotid

arteries) as previously described (Bolduc et al. 2011; de Montgolfier et al. 2019).

Arterial remodeling

Arterial remodeling was measured in isolated pressurized carotid and MCA segments used for the reactivity studies, and it was assessed by measuring the change in wall thickness (μm), as previously described (de Montgolfier et al. 2019).

Perfusion with Evans blue dye for brain barrier permeability

Evans blue perfusion was performed as previously described (de Montgolfier et al. 2019). Briefly, mice were anesthetized with isoflurane, the thoracic cavity was opened, and the cardiac perfusion was performed first using PBS, followed by Evans blue cocktail (1% of Evans Blue in 4% PFA). Then, mice were decapitated and the brains were rapidly removed, post-fixed 4 h in 4% PFA, cryoprotected in 30% sucrose overnight at 4 °C, snap frozen in liquid nitrogen, and stored at -80 °C. Cryotome 20- μm -thick coronal brain sections were fixed in 4% PFA for 1 h at RT (room temperature). After rinsing twice with PBS, slides were incubated for 20 min at RT in DAPI solution for nuclei staining (1:600, Thermo Fisher Scientific, Saint-Laurent, QC, Canada). After washing, slides were covered by mounting medium and coverslips for imaging. Blood-brain barrier permeability of the ipsilateral hemisphere was visualized and analyzed as Evans Blue fluorescence (excitation at 543 nm and emission at 680 nm) extravasation from microvessels in the parenchyma (de Montgolfier et al. 2019).

Histology and immunostaining

Coronal 30- μm -thick cryosections were mounted on glass slides (superfrost Plus, Fisherbrand, USA) and dried overnight. Four sections per mouse, located at +1.32, -0.82 (cortex), -1.64 and -2.92 (hippocampus and cortex) from Bregma were analyzed. Fluorescence was visualized using confocal microscopy (Zeiss LSM 510; Carl Zeiss, Dorval, QC, Canada). All images were analyzed with the ImageJ software (version 2.0, NIH).

Microvessel density

Fixed brain sections were washed with PBS and incubated at 4 °C for 24 h in PBS containing the polyclonal rabbit anti-collagen IV antibody, (1:100, Abcam ab19808, Abcam Inc., Toronto, ON, Canada) supplemented with 1% BSA). Collagen IV is an established marker of the vessel basal lamina (Schmidt and von Hochstetter 1995). After washing, slides were incubated at RT for 2 h in PBS containing Alexa Fluor 647 donkey anti-rabbit IgG (1:500, Abcam) and DAPI solution (1:600, Thermo Fisher Scientific), supplemented with 1% BSA. Finally, slides were washed with PBS and covered by mounting medium and coverslips for imaging using confocal microscopy. Microvessel density was quantified as a percentage of collagen IV positive area per region of interest (ROI).

Astrogliosis

Slides were incubated at 4 °C for 24 h in PBS containing the polyclonal rabbit anti-GFAP antibody, (1:1200, Abcam ab7260) supplemented with 1% BSA. After rinsing with PBS, slides were incubated at RT for 2 h in PBS containing Alexa Fluor 488 donkey anti-rabbit IgG (1:1600, Abcam) and DAPI solution (1:600, Thermo Fisher Scientific), supplemented with 1% BSA. After rinsing twice with PBS for 5 min, slides were covered by mounting medium and coverslips for imaging using confocal microscopy. Astrocyte reactivity was quantified as a percentage of GFAP-positive area per ROI.

Dihydroethidium staining

After fixation in 4% PFA, brain slides were incubated with 5 μM dihydroethidium (DHE) solution (Sigma-Aldrich) and DAPI solution (1:600, Thermo Fisher Scientific) in a light-protected humidified chamber at 37 °C for 30 min, covered with mounting medium and coverslips for imaging using confocal microscopy. Reactive oxygen species production and damage was quantified as a percentage of DHE relative fluorescence.

Prussian blue staining for micro-hemorrhage

Prussian blue staining was performed as previously described (de Montgolfier et al. 2019). Brain sections

were fixed in 4% PFA. After rinsing twice with PBS for 5 min, slides were incubated for 30 min at RT in the fume hood with freshly mixed 4% potassium ferrocyanide with 4% hydrochloric acid. Slides were rinsed under running tap water for 30 s. Next, slides were counter-stained using nuclear fast red at RT for 5 min, rinsed under running tap water for 1 min, dehydrated quickly in 95% and 100% ethanol, cleared in xylene, and covered by mounting medium and coverslips for imaging (Olympus BX45, Montreal, QC, Canada). The number of events *per* section was counted.

Total RNA extraction and real-time quantitative polymerase chain reaction

Total RNA was extracted from ipsilateral hemispheres of both the microvessels and the parenchymal fraction using the RNeasy mini-kit (Qiagen) and RNeasy Lipid Tissue Mini Kit (Qiagen), respectively, according to the manufacturer's protocol. Total RNA was quantified using a NanoDrop ND-100 spectrophotometer (Thermo Fisher Scientific). Total RNA was reverse transcribed into first-strand complementary DNA with M-MLV reverse transcriptase (Thermo Fisher Scientific, Invitrogen) using random hexamer primers. The qPCR reactions were carried out on diluted reverse transcribed products by using the DNA-binding dye SYBR Green PCR Master Mix (Thermo Fisher Scientific) to detect PCR products with StepOnePlus Real-Time PCR System (Thermo Fisher Scientific). The primers of target genes (*Tnfα*, *Il1β*, *Il6*, *Icam-1*, *Gfap*, *p21*, *p16*, *Sod2*, *Nox2*, *Nox4*, *Bax*, *Bcl2*, *Zo-1*, *Ocln*, *Cldn5*, *Pdgfrβ*, *Syp*, *Psd-95*, *Bdnf*, *NeuN*, *CycloA*) were designed using Clone Manager software (Table 1). All samples were run in duplicate and the fold changes in gene expression were calculated by the $\Delta\Delta C_T$ method using *cyclophilin A* as the housekeeping gene.

Statistical analysis

Statistical analyses were performed with the software Prism (Prism 7.0, GraphPad, San Diego, CA, USA). Statistical analysis of behavioral tests was performed with the program Smart (Smart 3.0, Panlab). Data are expressed as means \pm standard error of the mean (SEM). All group comparisons were analyzed using two-way ANOVA; Sidak's

Table 1 List of primers used for real-time quantitative PCR

Target gene	Primers	Sequences
<i>Tnfr</i>	Forward	AAGCTGTAGCCCACGTCGTA
	Reverse	GGCACCAGTAGTTGGTTGTCTTTG
<i>Ili3</i>	Forward	TGCCACCTTTTGACAGTGATG
	Reverse	TGATGTGCTGCTGCGAGATT
<i>Ili6</i>	Forward	GGATACCACTCCCAACAGACC
	Reverse	TTCTGCAAGTGCATCATCGT
<i>Icam-1</i>	Forward	CAATTCACACTGAATGCCAGCTC
	Reverse	CAAGCAGTCCGTCTCGTCCA
<i>Gfap</i>	Forward	CGAGATCGCCACCTACAGGA
	Reverse	CGGATCTGGAGGTTGGAGAA
<i>p21</i>	Forward	TGTCGCTGTCTTGCACTCT
	Reverse	AGACCAATCTGCGCTTGGAA
<i>p16</i>	Forward	GTTCTTGGTCACTGTGAGGA TTCAG
	Reverse	CCATCATCATCACCTGGTCCAG
<i>Sod2</i>	Forward	ACCGAGGAGAAGTACCACGA
	Reverse	TGGGTTCTCCACCACCT TA
<i>Nox2</i>	Forward	AGTGCCAGTACCAAAGT TC
	Reverse	GTCCACCTCCATCTTGAATC
<i>Nox4</i>	Forward	ATCCTTTTACCTATGTGCCGG
	Reverse	CTTCTGGGATCCTCATTCTGG
<i>Bax</i>	Forward	AGCAAAGTGGTCTCAAGGC
	Reverse	CCACAAAGATGGTCACTGTC
<i>Bcl2</i>	Forward	GTGGTGGAGGAAGTCTTCCAG
	Reverse	GTTCCACAAAGGCATCCCAG
<i>Zo-1</i>	Forward	TGTCCTGTGAGTCCTTCCAG
	Reverse	ACTCAACACACCACCATTGC
<i>Ocln</i>	Forward	GCGGAAAGAGTTGACAGTCC
	Reverse	CTTCAGGCACCAGAGGTGTT
<i>Cldn5</i>	Forward	TCGGGTGAGCATTCACTCTT
	Reverse	GTCACGATGTTGTGGTCCAG
<i>Pdgfrβ</i>	Forward	GGGAGATCTTACACTGGGT
	Reverse	CATAGATCTCGTCGGAGGCA
<i>Syp</i>	Forward	AGGGTGGTTATCAACCCGAT
	Reverse	TGGGCTTCACTGACCAGATT
<i>Psd-95</i>	Forward	CCTGTGTCCCTCATACGACA
	Reverse	TACTGGCCAGCCTCAATGAA
<i>Bdnf</i>	Forward	AAGCCGCAAAGAAGTTCCAC
	Reverse	CTTGTCCTGGACGTTTACT
<i>NeuN</i>	Forward	CACAGCCATTGCTGGGA
	Reverse	TGAACCGGAAGGGGATGTTG
<i>CycloA</i>	Forward	CCGATGACGAGCCCTTGG
	Reverse	GCCGCCAGTGCCATTATG

multiple comparisons tests were performed when the interaction between “genotype” (WT versus ATX) and “surgery” (sham versus TAC) was significant ($p < 0.05$). Experimenters were not blinded to groups during data analysis except for confocal image analyses. N numbers reflects the number of mice included in each experiment. Group sizes were determined according to previous studies (Bolduc et al. 2011; de Montgolfier et al. 2019; Drouin et al. 2011a; Drouin et al. 2011b).

Results

Mild hypertension, increased pulse pressure, and carotid stiffness in ATX mice are associated with cognitive impairment

When compared to sham-WT mice, 1-year-old sham-ATX mice, exhibiting 5-fold higher cholesterol levels and $\approx 70\%$ aortic atherosclerotic plaque (Drouin et al. 2011b), are characterized by mild systolic and diastolic hypertension, a high pulse pressure (Fig. 3a), and carotid stiffening illustrated by a thickening of the carotid wall and a decrease in compliance (Fig. 3b). As expected, TAC surgery increased heart/body weight ratio after 6 weeks of aortic constriction in both WT and ATX mice (Fig. 1b). Of note, ATX mice exhibited a higher ($p < 0.05$) mortality rate after surgery than WT mice (22% operative mortality rate in sham- and TAC-ATX mice vs. 9% in sham- and TAC-WT mice, $p < 0.05$; the surviving mice were all healthy) (Fig. 1c). In addition, TAC increased ipsilateral (right side, i.e., the ipsi side to TAC-induced pressure overload) carotid systolic (but not diastolic) and pulse pressures in both WT and ATX mice (Fig. 3a). TAC increased wall thickness and reduced compliance of carotids in WT mice but did not further alter these parameters in ATX mice (Fig. 3b). In ipsilateral cerebral arteries, TAC surgery tended ($p = 0.078$) to increase MCA wall thickness in WT mice and to a lesser extent in ATX mice (Fig. 4a), suggesting that TAC-induced pressure overload propagated to the brain vasculature. Arterial compliance measured in MCA was not different between WT and ATX mice and was not affected by TAC (Fig. 4b). In addition, wall thickness in MCA of sham-ATX mice was similar to that of sham-WT mice

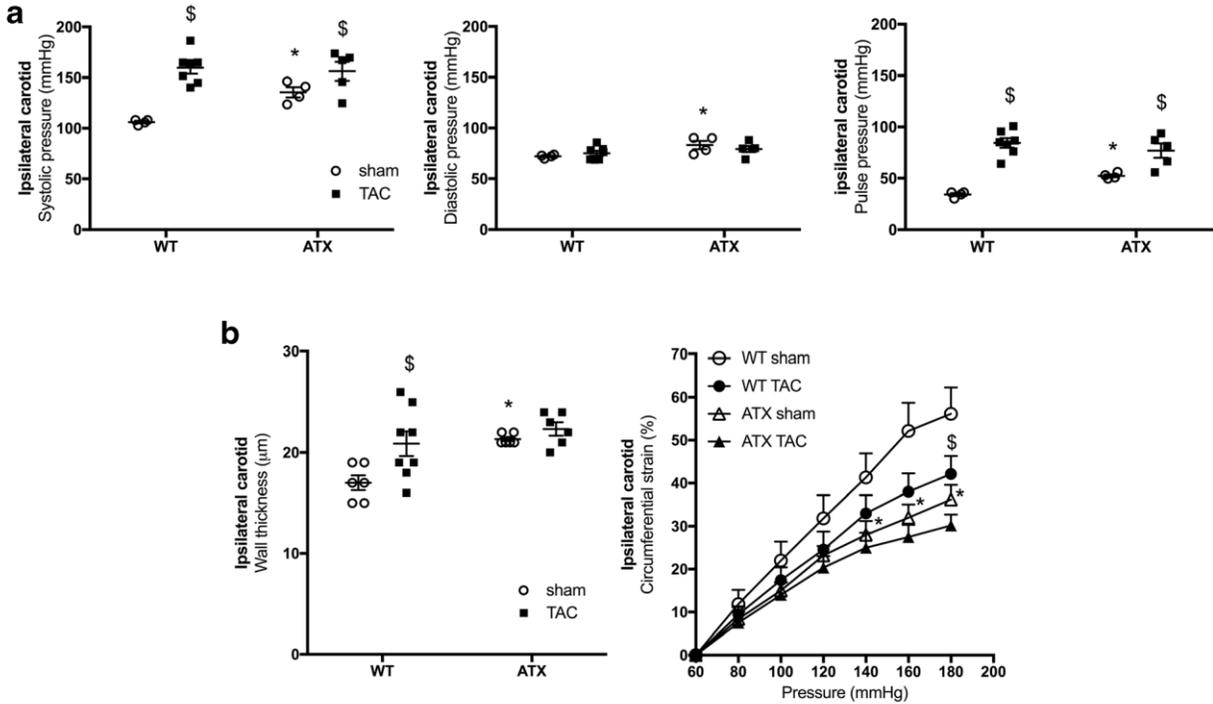


Fig. 3 ATX mice display mild hypertension, carotid wall thickening, and stiffening. **a** Systolic (left), diastolic (middle), and pulse (right) pressures measured by Millar catheter in the ipsilateral carotid of sham- ($n=4$) and TAC-WT ($n=7$) and sham- ($n=4$) and TAC-ATX ($n=5$) mice. **b** Wall thickness (left) and

compliance (right) of ipsilateral carotid arteries isolated from WT ($n=6-8$) and ATX ($n=6$) mice. Data are mean \pm SEM * $p < 0.05$ vs. WT mice; [§] $p < 0.05$ vs. sham mice (within the corresponding genotype)

(Fig. 4a), confirming the lack of intimal thickening and atherosclerosis in these intracranial arteries. Indeed, an apparent “protection” of intracranial arteries from atherosclerosis has been reported based on the fact that atherosclerotic lesions are rarely observed in cerebral arteries from animal models

(Didion et al. 2001; Drouin et al. 2011b; Stewart-Lee and Burnstock 1991).

Regarding cognitive abilities, the percentage of alternation behavior in the Y maze was significantly decreased in 1-year-old sham-ATX mice (Fig. 5a) compared to age-matched sham-WT mice, suggestive of a

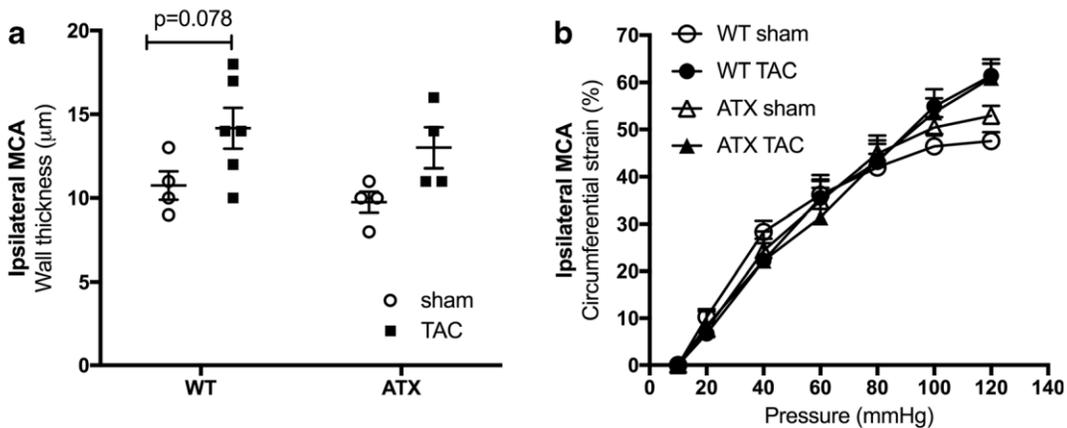


Fig. 4 **a** Wall thickness and **b** compliance of ipsilateral middle cerebral arteries isolated from WT ($n=4-6$) and ATX mice ($n=4$). Data are mean \pm SEM

premature dysfunctional working memory. TAC-induced pressure overload promoted a reduction in the percentage of alternation behavior in WT mice and worsened dysfunctional working memory in ATX mice that failed the Y maze test (Fig. 5a) (the percent of alternation behavior of TAC-ATX mice was not statistically different from 50%). In addition, compared to sham-WT mice, sham-ATX mice showed longer latency to reach the hidden platform during the learning phase of the MWM test (Fig. 5b) and spent significantly less time in the target quadrant during the probe test (Fig. 5c), revealing learning and memory deficiencies. TAC reduced learning and memory capacities in WT mice as evidenced by a significantly increased latency (Fig. 5b) and a decrease in the time spent in the target quadrant (Fig. 5c). In ATX mice, TAC did not further exacerbate the already low cognitive capacities (Fig. 5b, c).

Of note, in the sham-WT control group, the alternation behavior percentage was statistically different from 50% in the Y maze behavioral test (Fig. 5a) and the latency to reach the platform decreased significantly between day 1 and day 5 in the MWM test (Fig. 5b),

validating both tests. No change in the number of arm entries in the Y maze (right panel in Fig. 5a) nor in swim speed in the MWM test (right panel in Fig. 5c) were noticed between groups of mice, suggesting that neither the surgery nor the genotype had an impact on motor functions and anxiety.

Altogether, these data show that cardiovascular risk factors are associated with memory and learning impairment in mice, and that pressure overload induces (in WT mice) or exacerbates (in ATX mice) these cognitive dysfunctions.

Brains from ATX mice display a decrease in volume of specific areas involved in learning and memory

Anatomical MRI scans revealed that sham-ATX mice exhibited differences in brain volumes compared to sham-WT mice: although no change in total brain volume was recorded between groups, ATX mice displayed smaller volumes in the hippocampus, cortex (entorhinal, occipital, parietotemporal), and septum, while the volume of the corpus callosum increased significantly in

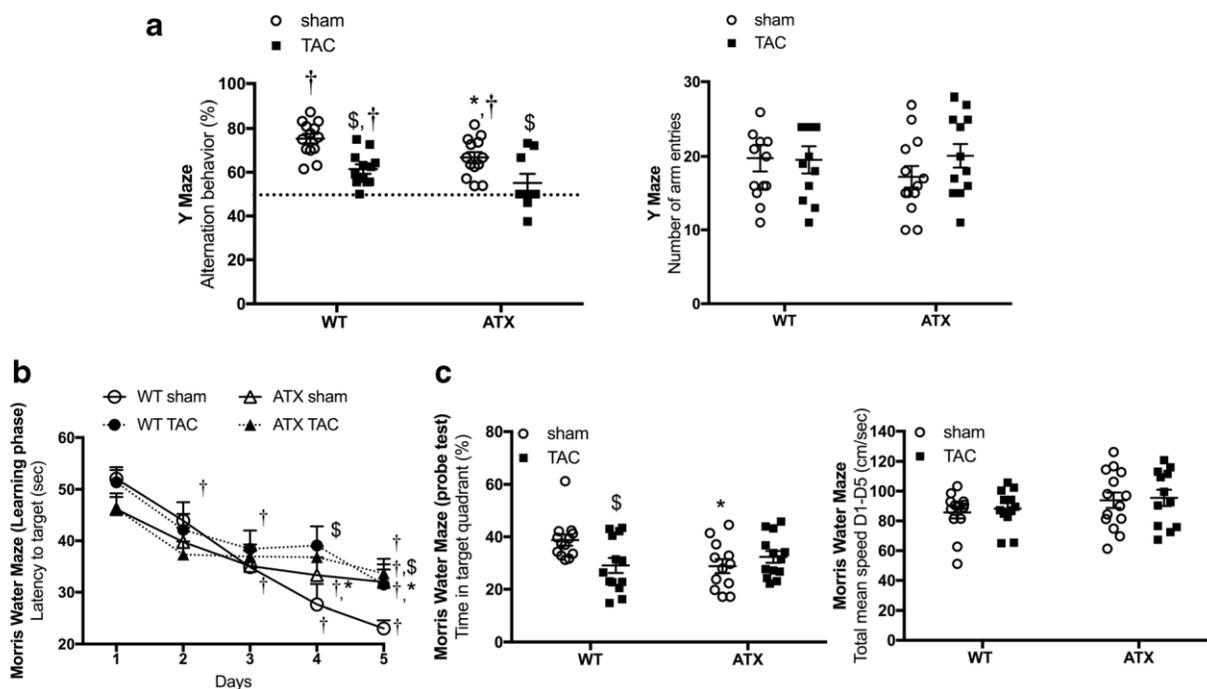


Fig. 5 Mild hypertension and vascular stiffening in ATX mice are associated with cognitive impairment in learning and memory abilities. **a** Evaluation of the working memory ability by the spontaneous exploratory behavior using the Y-maze test in WT ($n = 12-13$) and ATX ($n = 9-12$) mice. **b** Evaluation of the learning and spatial memory capacities of WT ($n = 12-13$) and ATX

($n = 12-14$) mice using the Morris Water Maze test and **c** the probe test. Data are mean \pm SEM; * $p < 0.05$ vs. WT mice; § $p < 0.05$ vs. sham mice (within the corresponding genotype); † $p < 0.05$ vs. 50% alternation in the Y maze; ‡ $p < 0.05$ vs. day 1 in the MWM test

ATX mice (Table 2). No change in gray or white matter volumes was recorded in WT and ATX mice 6 weeks post-TAC (data not shown).

ATX mice display cerebral hypoperfusion, cerebral endothelial dysfunction, loss of microvessel density, and brain micro-hemorrhages

Sham-ATX mice exhibited a significant decrease in cerebral perfusion in the whole brain and in cortical and hippocampal areas, compared to sham-WT mice (Fig. 6). The TAC surgery significantly reduced cerebral perfusion in the ipsilateral side of the brain in WT mice, but had no additive effect in ATX mice (Fig. 6).

Endothelium-dependent dilations to acetylcholine measured in isolated MCA were decreased in sham-ATX mice compared to sham-WT mice (Fig. 7a). TAC impaired endothelium-dependent dilation in WT mice and further reduced dilation in MCA isolated from the ipsilateral hemisphere of ATX mice (Fig. 7a). On the other hand, smooth muscle contractility to phenylephrine was similar among groups but tended to increase after TAC (Fig. 7b).

The density of cortical and hippocampal microvessels, assessed by collagen IV immunostaining, was reduced in sham-ATX compared to sham-WT mice (Fig. 7c). TAC reduced microvessels density in the ipsilateral cortex and

hippocampus of WT mice and accentuated the loss of microvessels in ATX mice (Fig. 7c). No Prussian blue-positive staining, a marker of micro-hemorrhages, was observed in sham-WT mice (Fig. 7d); in contrast, the presence of some micro-bleeds was detected in the cortex, but not the hippocampus, of sham-ATX mice (Fig. 7d). TAC surgery induced micro-bleeds in the ipsilateral cortex of WT mice and accentuated their number in ATX mice (Fig. 7d).

The cerebral vasculature of ATX mice is characterized by senescent markers and an increase in blood-brain barrier permeability

Gene expression of the inflammatory markers *Tnf α* and *Il1 β* and of the oxidative stress marker *Nox4* tended to increase in microvessels from the right ipsilateral hemisphere of sham-ATX mice compared to sham-WT mice (Table 3). Expression of the senescent marker *p16* was significantly increased in sham-ATX compared to sham-WT mice (Table 3). There was no change in mRNA expression of the anti-apoptotic *Bcl2* or pro-apoptotic *Bax* between WT and ATX mice (Table 3).

In the ipsilateral microcirculation of WT mice, TAC surgery induced an inflammatory (higher *Icam1* expression) and oxidative stress (higher

Table 2 Comparison of anatomical brain volumes in sham WT and ATX mice measured by 7-T MRI

Normalized brain area volumes	WT ($n = 11$)	ATX ($n = 12$)	% of change	p value
Total brain	1.000 \pm 0.000	1.000 \pm 0.000	0.00	0.600
Amygdala	0.110 \pm 0.003	0.112 \pm 0.003	1.82	0.026
Cerebellum	0.410 \pm 0.016	0.414 \pm 0.009	0.98	0.559
Corpus callosum	0.097 \pm 0.007	0.113 \pm 0.004	16.49	< 0.0001
Cortex	0.982 \pm 0.005	0.968 \pm 0.004	- 1.43	< 0.0001
Deep gray matter	1.333 \pm 0.054	1.332 \pm 0.021	- 0.08	0.934
Entorhinal cortex	0.077 \pm 0.002	0.072 \pm 0.002	- 6.49	< 0.0001
Frontal cortex	0.301 \pm 0.004	0.300 \pm 0.005	- 0.33	0.621
Hippocampus	0.195 \pm 0.004	0.190 \pm 0.007	- 2.56	0.018
Occipital cortex	0.049 \pm 0.002	0.046 \pm 0.002	- 6.12	0.002
Olfactory bulb	0.245 \pm 0.010	0.244 \pm 0.004	- 0.41	0.621
Parietotemporal cortex	0.555 \pm 0.007	0.549 \pm 0.005	- 1.08	0.020
Septum	0.030 \pm 0.001	0.029 \pm 0.001	- 3.33	0.033
White matter	0.239 \pm 0.011	0.246 \pm 0.016	2.93	0.231

ATX mice were smaller than WT mice but brain weight-to-body weight ratio was identical in WT (0.012 \pm 0.000 g/g) and ATX (0.012 \pm 0.000 g/g) mice. Each volume from the brain region of interest was normalized to the total brain volume within the corresponding genotype to avoid bias in change in cerebral volume due to smaller body size. Data are mean \pm SEM. $p < 0.05$ vs. WT mice

Nox2 expression) response, while the markers of senescence were reduced (lower *p16* and *p21* expression) and paralleled by an increase in *Bax/Bcl2* ratio suggestive of apoptosis (Table 3). In ATX mice, TAC further increased inflammation (higher *Tnf α* and *Il6* expression), oxidative stress (higher *Nox4* expression), while reducing senescence and activating apoptosis (Table 3).

To further characterize the impact of vascular risk factors on the NVU, we next looked at the integrity of the blood-brain barrier (BBB). Transcript levels of brain endothelial tight junction proteins *Zo-1* and *Occludin* were similar between sham-ATX and sham-WT mice, whereas the expression of *Claudin-5* was significantly greater in ATX mice; mRNA expression of the pericyte marker *Pdgfr β* was similar in the two groups (Table 3). In addition, fluorescence microscopy brain images from sham-WT mice showed the presence of Evans blue dye only in blood vessels (Fig. 8), whereas Evans blue staining in sham-ATX mice was also detected in the brain parenchyma (in both the cortex and hippocampus) (Fig. 8), demonstrating leakage of the dye across the BBB suggestive of an increased BBB permeability. TAC surgery induced disruption of the BBB in WT

► **Fig. 7** ATX mice display cerebral endothelial dysfunction, loss of microvascular density, and micro-hemorrhages. **a** Endothelium-dependent dilatory responses (%) to acetylcholine (ACh) were measured in ipsilateral middle cerebral arteries isolated from both WT ($n=5-8$) and ATX ($n=5$) sham and TAC mice. **b** Levels of pre-contraction induced by phenylephrine in ipsilateral middle cerebral arteries isolated from WT ($n=4-6$) and ATX mice ($n=4$). **c** Cerebral microvessel density (% of positive staining per region of interest, ROI) was assessed by immunohistochemistry staining of collagen IV in brain coronal cryosections in the ipsilateral side of the cortex and hippocampal areas from WT ($n=6$) and ATX ($n=6$) sham and TAC mice. Typical confocal microscope fluorescent images are shown; scale bar = 100 μ m, for all images. **d** The presence of micro-bleeds (capillary hemorrhages) was visualized by Prussian blue staining of coronal slices in the ipsilateral side of the brain from both WT ($n=3$) and ATX ($n=3$) sham and TAC mice. Typical images are shown; scale bar = 0.5 mm, for all images. Data are mean \pm SEM. * $p < 0.05$ vs. WT mice; [§] $p < 0.05$ vs. sham mice (within the corresponding genotype)

mice as shown by Evans blue extravasation in the cortex (but not in the hippocampus) (Fig. 8), and by the decrease in transcript levels of the tight junction proteins *Zo-1*, *Occludin*, and *Claudin-5*, and of *Pdgfr β* mRNA expression (Table 3). Similarly, TAC in ATX mice reduced gene expression of the tight junction proteins (Table 3) and accentuated Evans blue diffusion into the parenchyma (Fig. 8), demonstrating that TAC-

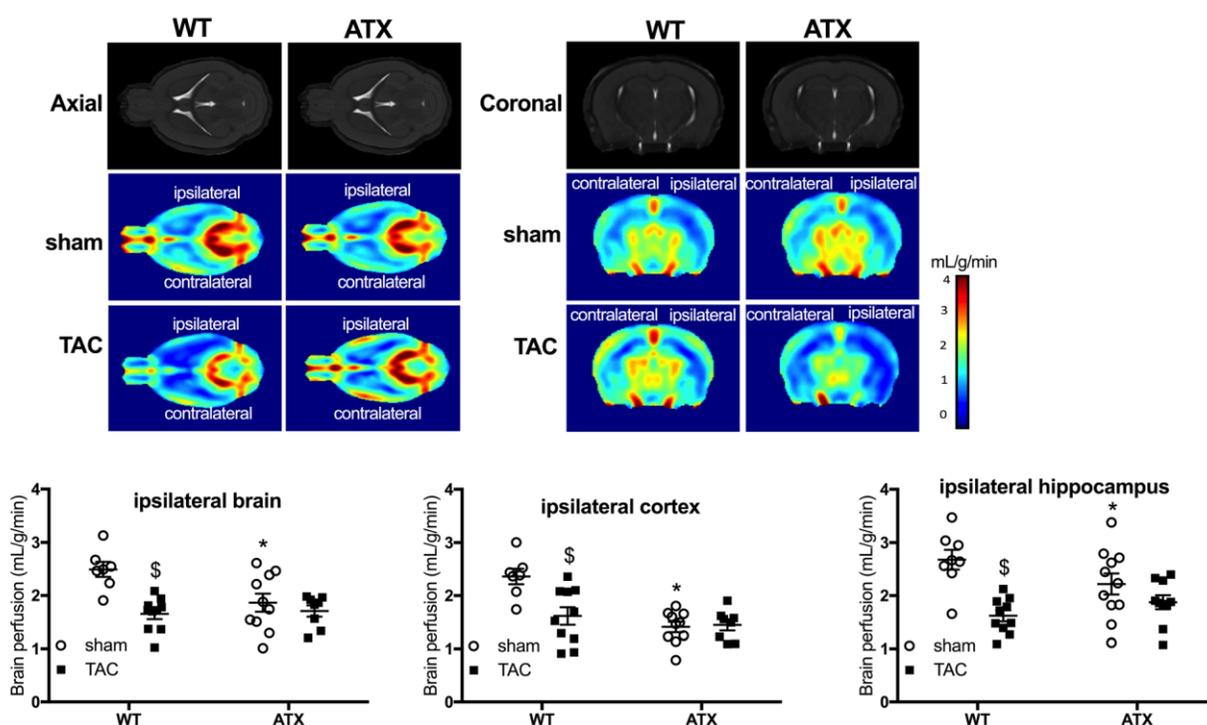


Fig. 6 ATX mice display brain hypoperfusion. Quantification of ipsilateral cerebral perfusion (mL/g/min), assessed in vivo by 7-T MRI in sham- ($n=8$) or TAC-WT ($n=10$) and sham- ($n=10$) and TAC-ATX ($n=8$) mice. Typical 7-T MRI images are shown

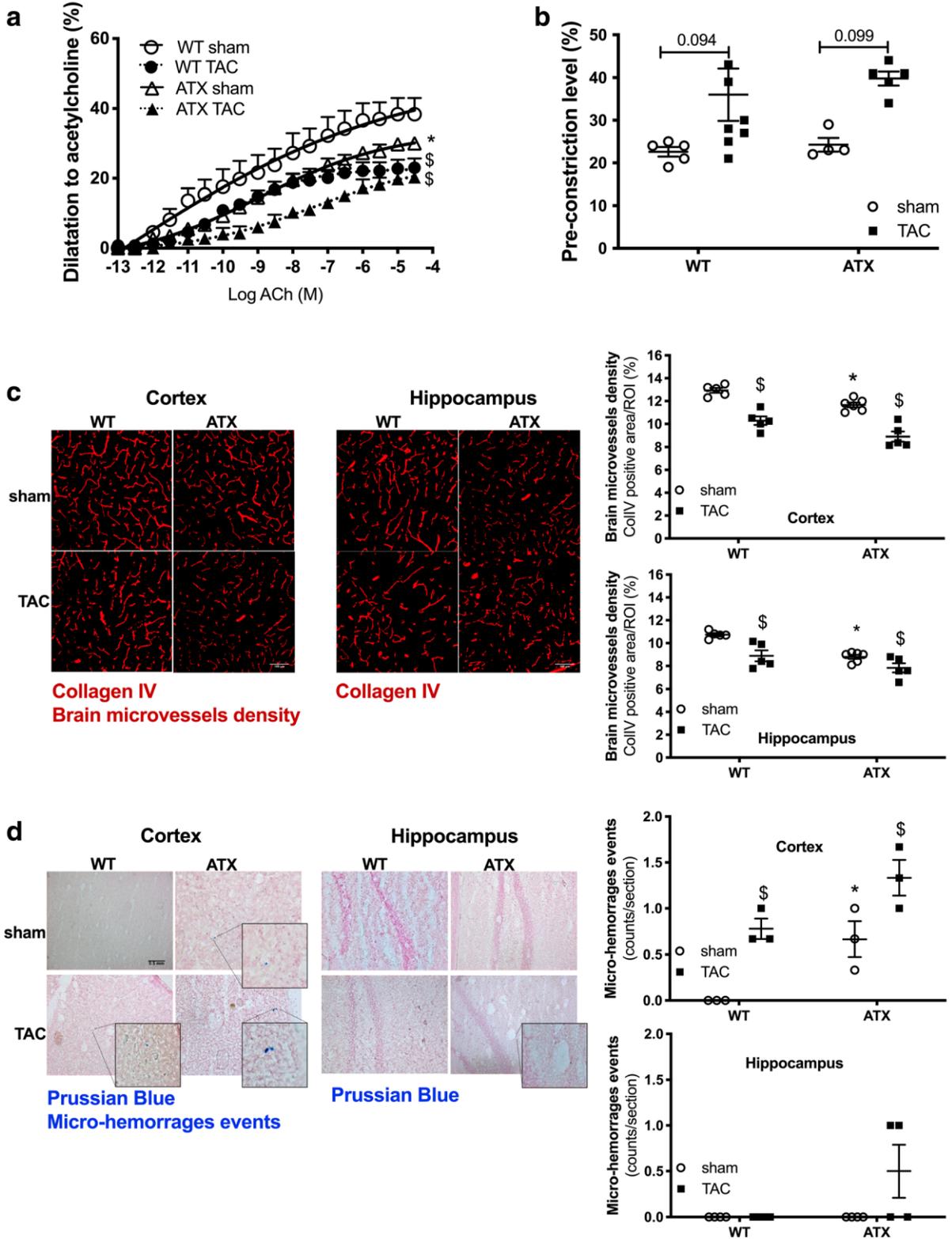


Table 3 Expression of inflammatory, oxidative, senescent, apoptotic, and synaptic gene markers in the ipsilateral hemisphere microvasculature of WT and ATX mice

	WT mice (n = 12)		ATX mice (n = 12)	
	Sham (n = 6)	TAC (n = 6)	Sham (n = 6)	TAC (n = 6)
<i>Tnfα</i>	1.00 ± 0.04	1.20 ± 0.21	1.72 ± 0.15	2.37 ± 0.45 ^{*,§}
<i>Il1β</i>	1.00 ± 0.07	1.90 ± 0.43	1.74 ± 0.30	1.58 ± 0.15
<i>Il6</i>	1.00 ± 0.03	1.31 ± 0.11	1.37 ± 0.14	2.00 ± 0.42 [§]
<i>Icam-1</i>	1.00 ± 0.04	1.35 ± 0.14 [§]	1.15 ± 0.06	1.45 ± 0.13
<i>Sod2</i>	1.00 ± 0.05	0.71 ± 0.09	0.93 ± 0.02	0.73 ± 0.10
<i>Nox2</i>	1.00 ± 0.15	1.65 ± 0.19 [§]	1.44 ± 0.18	1.92 ± 0.12
<i>Nox4</i>	1.00 ± 0.22	1.70 ± 0.40	1.70 ± 0.22	3.59 ± 0.62 ^{*,§}
<i>p21</i>	1.00 ± 0.07	0.35 ± 0.04 [§]	0.71 ± 0.08	0.77 ± 0.14
<i>p16</i>	1.00 ± 0.03	0.42 ± 0.10 [§]	1.39 ± 0.07 [*]	0.48 ± 0.09 [§]
<i>Bcl2</i>	1.00 ± 0.08	0.66 ± 0.09	1.03 ± 0.08	0.63 ± 0.05 [§]
<i>Bax</i>	1.00 ± 0.01	1.47 ± 0.20 [§]	1.06 ± 0.05	1.38 ± 0.07
<i>Bax/Bcl2</i>	1.00 ± 0.06	2.44 ± 0.43 [§]	1.00 ± 0.06	2.19 ± 0.28 [§]
<i>Zo-1</i>	1.00 ± 0.08	0.52 ± 0.04 [§]	1.05 ± 0.10	0.83 ± 0.05
<i>Occludin</i>	1.00 ± 0.11	0.37 ± 0.09 [§]	0.77 ± 0.08	0.42 ± 0.07 [§]
<i>Claudin-5</i>	1.00 ± 0.04	0.55 ± 0.07	1.66 ± 0.24 [*]	0.63 ± 0.08 [§]
<i>Pdgfrβ</i>	1.00 ± 0.03	0.55 ± 0.13 [§]	0.86 ± 0.07	0.58 ± 0.07 [§]

Data are mean ± SEM. ^{*}*p* < 0.05 vs. WT; [§]*p* < 0.05 vs. sham (within the corresponding genotype)

induced pressure overload worsened BBB dysfunction and leakage in ATX mice.

Brain tissues of ATX mice are characterized by an increase in inflammatory and oxidative markers and by the loss of synaptic and cognitive markers

Immunostaining of the astrocytic protein GFAP in the cortex and the hippocampus was similar in sham-ATX compared to sham-WT mice (Fig. 9a), but *Gfap* and *Il6* transcript levels were increased in the parenchyma of sham-ATX compared to sham-WT mice (Table 4). Staining of the DHE superoxide marker revealed an increase in brain superoxide anion levels in the cortex and hippocampus of sham-ATX compared to sham-WT mice (Fig. 9b). In addition, *Nox2* mRNA expression was greater in the brain parenchyma of sham-ATX mice compared to sham-WT mice (Table 4). There was no change in the expression of the senescence or apoptotic markers in sham-ATX compared to sham-WT mice (Table 4). Expressions of synaptophysin (*Syp*) and brain-derived neurotrophic factor (*Bdnf*) transcripts were decreased in sham-ATX compared to sham-WT mice (Table 4).

In WT mice, TAC induced ipsilateral brain inflammation (increased GFAP staining (Fig. 9a), higher *Tnfα* and *Il1β* expression (Table 4)), senescence (higher *p21* and *p16* expression (Table 4)), and oxidative stress (increased DHE staining (Fig. 9b) and higher *Nox2* and *Nox4* expression (Table 4)) and reduced *Syp* expression (Table 4) compared to sham-WT. In ATX mice, TAC increased ipsilateral brain inflammation (increased GFAP staining (Fig. 9a)), further increased oxidative stress and damage (higher *Nox2* expression, lower *Sod2* expression (Table 4) and increased DHE staining (Fig. 9b)) and lowered senescence (lower *p16* expression (Table 4)) compared to sham-ATX. TAC also induced a decreased in the expression of the *Psd-95* synaptic marker (Table 4).

Discussion

This study aimed to demonstrate the causal contribution of vascular risk factors on the incidence and the progression of cognitive decline in middle-aged mice. We found that 1-year-old ATX mice that cumulate dyslipidemia, aortic plaque, mild hypertension, central vascular

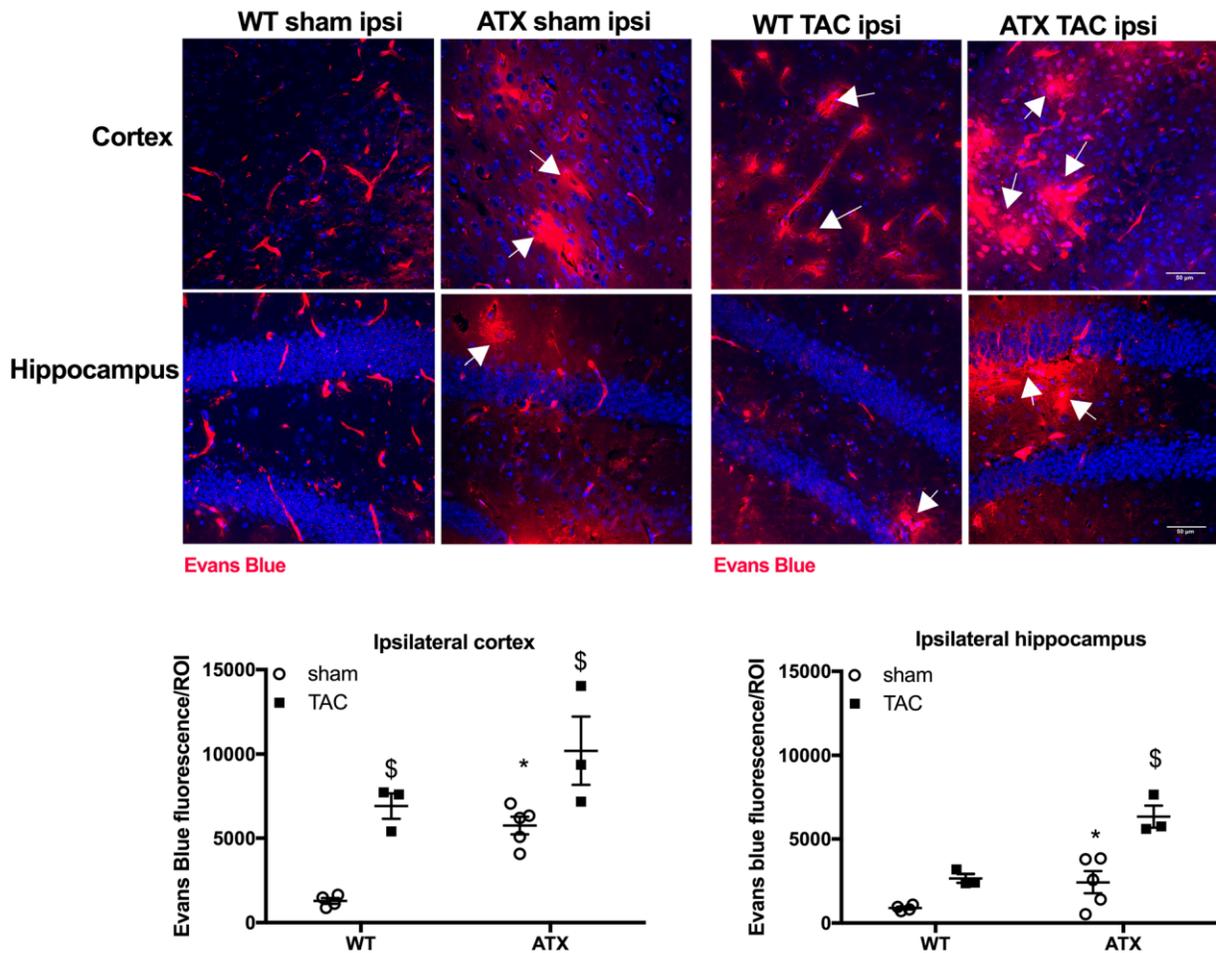


Fig. 8 ATX mice exhibit an increase in BBB permeability. Representative images of Evans blue extravasation (% of Evans blue fluorescence/ROI) in the ipsilateral brain parenchyma of sham and TAC-WT and -ATX mice are shown; scale bar = 50 μ m, for all

images. Data of sham-WT ($n = 5$) and sham-ATX ($n = 5$) mice and TAC-WT ($n = 3$) and TAC-ATX ($n = 3$) are summarized as mean \pm SEM. * $p < 0.05$ vs. WT mice; § $p < 0.05$ vs. sham mice (within the corresponding genotype)

stiffness and elevated pulse pressure exhibit early cognitive impairment. We also found that ATX mice are characterized by multiple cerebrovascular dysfunctions: compared to WT mice, whole brain hypoperfusion, in particular in the regions of the cortex and the hippocampus, micro-hemorrhages and loss of microvessels were observed in association with cerebrovascular endothelial dysfunction and increased BBB permeability. Such cerebrovascular dysfunctions combined with vascular and parenchymal inflammation and oxidative stress could, altogether, reflect a disruption in the NVU and promote brain atrophy. In parallel, induction of isolated systolic hypertension by a TAC surgery in 1-year-old WT mice promoted cerebrovascular and brain damages reminiscent of the neurovascular phenotype of naïve ATX mice and induced cognitive dysfunction; these

damages were magnified in TAC-ATX mice. Altogether, our data suggest that the critical step in NVU deregulation that lead to cognitive decline is the cerebrovascular injury generated by hemodynamic abnormalities induced by the isolated systolic hypertension (TAC model) and magnified in the presence of vascular risk factors (ATX mice).

Vascular aging in humans is characterized by endothelial dysfunction and by stiffening of large arteries, systolic hypertension, and increased pulse pressure (Fleg and Strait 2012). Stiffness of conductance arteries such as the carotid artery is strongly associated with cognitive decline in humans (Iadecola et al. 2016; O'Rourke and Safar 2005). Accordingly, stiffening of carotid arteries associated with intimal thickening was observed in our model of atherosclerosis in ATX mice;

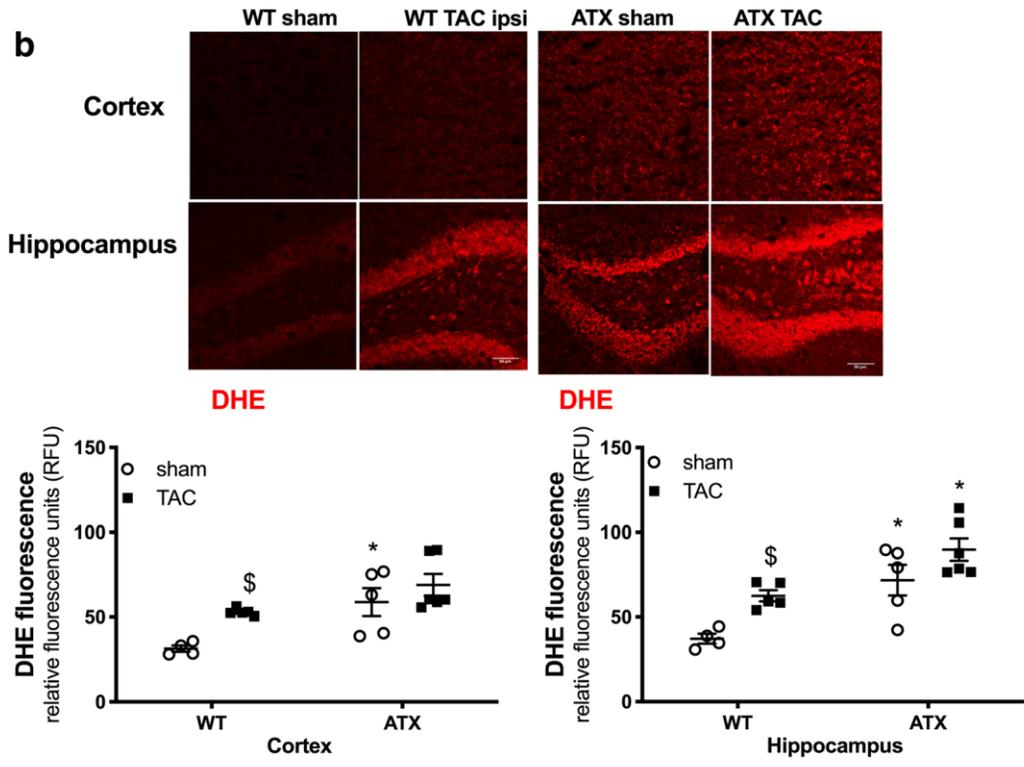
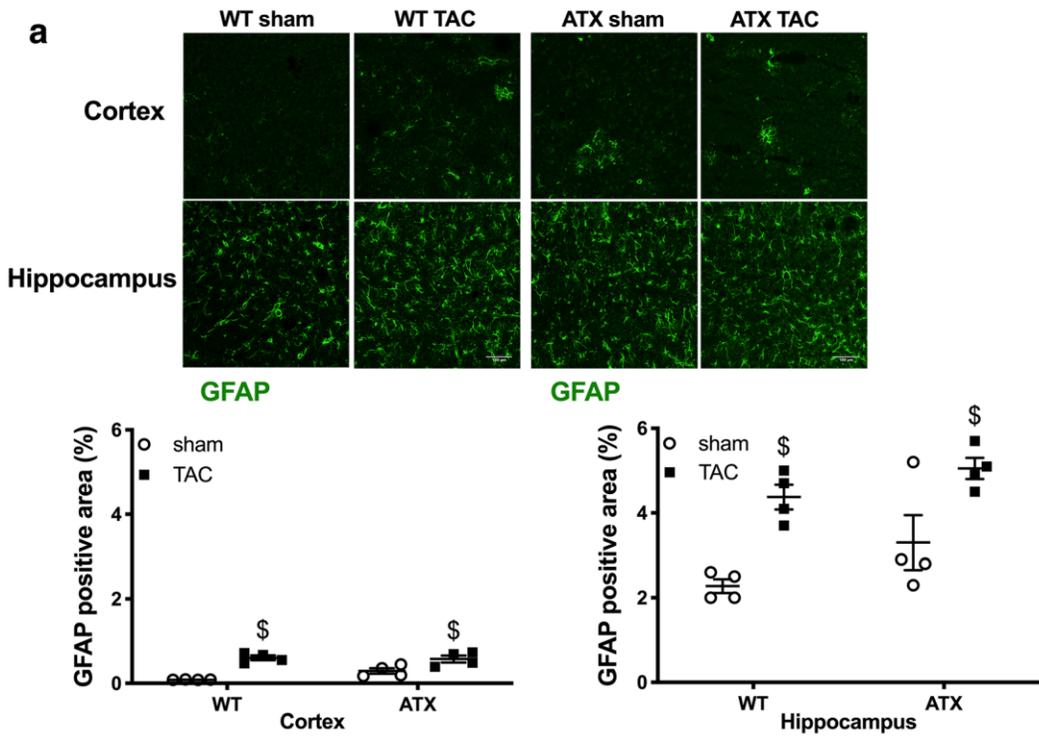


Fig. 9 ATX mice exhibit an increase in inflammation and oxidative stress in the brain. **a** Immunostaining of GFAP-positive cells (% of positive staining *per* region of interest, ROI) in the ipsilateral cortex and hippocampus of sham- and TAC-WT ($n = 4$) and sham- and TAC-ATX ($n = 4$) mice. Typical images are shown; scale bar = 100 μm , for all images. **b** Immunostaining of DHE fluorescence (relative fluorescence units) in the ipsilateral cortex and hippocampus of WT ($n = 4-5$) and ATX ($n = 5-6$) sham and TAC mice. Typical images are shown; scale bar = 50 μm , for all images. Data are mean \pm SEM. * $p < 0.05$ vs. WT mice; $^{\S}p < 0.05$ vs. sham mice (within the corresponding genotype)

interestingly, this remodeling did not affect the pial cerebral arteries of ATX mice at this age as suggested by the normal MCA wall thickness compared to WT mice. Endothelial dysfunction in the MCA, however, was present in ATX mice and was accentuated by TAC surgery, suggesting that an impaired endothelium is present before intimal thickening. Endothelial dysfunction is prematurely found in subjects with risk factors for CVD (Cai and Harrison 2000) and in patients with neurodegenerative diseases such as AD (Katusic and Austin 2014). Accordingly, ATX mice develop prematurely the two hallmarks of vascular aging, endothelial dysfunction and carotid stiffening that may predispose them to early cognitive decline.

Microvessel rarefaction occurs in aging (Farkas and Luiten 2001) and is premature with CVD (Moore et al. 2015). A recent study demonstrates that BBB impairment is prodromal of cognitive dysfunction in humans (Nation et al. 2019). The disturbance in BBB function combined with microvessel rarefaction may contribute to cerebral hypoperfusion and cognitive decline observed in the brain of ATX mice and of WT-TAC mice. In ATX mice, TAC surgery worsened cerebral endothelial dysfunction and BBB disruption and augmented the incidence of micro-hemorrhages and loss of microvessels, accelerating memory and learning deficiencies. These damaging effects of TAC on NVU demonstrate that a vascular hemodynamic component directly contributes to cognitive decline, as we recently proposed (de Montgolfier et al. 2019); similar deleterious effects on NVU are observed in hypertensive atherosclerotic ATX mice, suggesting that the process could be promoted by hypertension, a strong vascular risk factor for brain injury (Csiszar et al. 2017; Tucsek et al. 2017).

The deterioration of the cerebral endothelial function leads not only to lower dilatory and barrier functions but also to a reduced anti-inflammatory

Table 4 Expression of inflammatory, oxidative, senescence, apoptotic, and synaptic gene markers in the ipsilateral hemisphere parenchyma of WT and ATX mice

	WT ($n = 12$)		ATX ($n = 12$)	
	Sham ($n = 6$)	TAC ($n = 6$)	Sham ($n = 6$)	TAC ($n = 6$)
<i>Tnfa</i>	1.00 \pm 0.02	1.54 \pm 0.20 §	1.14 \pm 0.02	1.62 \pm 0.19
<i>Il1b</i>	1.00 \pm 0.09	1.72 \pm 0.22 §	1.23 \pm 0.11	1.50 \pm 0.11
<i>Il6</i>	1.00 \pm 0.03	1.19 \pm 0.14	1.43 \pm 0.14 *	0.78 \pm 0.13 *,§
<i>Gfap</i>	1.00 \pm 0.11	1.31 \pm 0.10	1.54 \pm 0.07 *	1.65 \pm 0.06
<i>Sod2</i>	1.00 \pm 0.12	0.89 \pm 0.08	0.81 \pm 0.12	0.58 \pm 0.07 *
<i>Nox2</i>	1.00 \pm 0.07	1.59 \pm 0.11 §	1.30 \pm 0.06 *	1.68 \pm 0.09 §
<i>Nox4</i>	1.00 \pm 0.08	1.81 \pm 0.32 §	1.52 \pm 0.21	1.43 \pm 0.06
<i>p21</i>	1.00 \pm 0.01	1.35 \pm 0.12 §	1.19 \pm 0.06	1.37 \pm 0.10
<i>p16</i>	1.00 \pm 0.07	1.47 \pm 0.17 §	1.01 \pm 0.15	0.55 \pm 0.13 *,§
<i>Bcl2</i>	1.00 \pm 0.20	0.80 \pm 0.18	0.71 \pm 0.14	0.93 \pm 0.21
<i>Bax</i>	1.00 \pm 0.10	1.04 \pm 0.14	0.93 \pm 0.17	0.94 \pm 0.10
<i>Bax/Bcl2</i>	1.00 \pm 0.21	1.23 \pm 0.19	1.09 \pm 0.17	0.92 \pm 0.19
<i>Syp</i>	1.00 \pm 0.05	0.69 \pm 0.07 §	0.64 \pm 0.11 *	0.50 \pm 0.03
<i>Psd-95</i>	1.00 \pm 0.12	1.15 \pm 0.21	1.22 \pm 0.03	0.63 \pm 0.14 *,§
<i>NeuN</i>	1.00 \pm 0.04	0.79 \pm 0.06	0.78 \pm 0.11	0.81 \pm 0.12
<i>Bdnf</i>	1.00 \pm 0.07	0.83 \pm 0.07	0.67 \pm 0.04 *	0.62 \pm 0.10

Data are mean \pm SEM. * $p < 0.05$ vs. WT; $^{\S}p < 0.05$ vs. sham (within the corresponding genotype)

function and antioxidant capacities (Toth et al. 2017; Toth et al. 2013). These changes were evident in the brain of ATX mice: expression of inflammatory markers increased while oxidative stress-related damages accumulated in the brain. The latter were associated with a tendency of increased expression of free radical-generating enzymes in the microcirculation, and a clear increased expression in the parenchymal fraction of the brain in ATX mice. Hence, brains of middle-age ATX mice are suffering from a pro-atherogenic environment, a pro-inflammatory and pro-oxidant phenotype that can be mimicked in TAC-WT mice and accentuated in TAC-ATX mice. The aging brain exhibit a pro-inflammatory state mostly through microglial and astrocytic activation revealed by the production of pro-inflammatory cytokines (Godbout and Johnson 2009). For example, marker of activated astrocytes GFAP is higher in the brain of old humans and rodents (Godbout and Johnson 2009). In many neurological diseases, a common feature of NVU injury is glial activation (Iadecola and Nedergaard 2007). Inflammation is associated with ROS production and neurons are particularly sensitive to excessive oxidative stress, which lead to neuronal damage (Uttara et al. 2009). We previously reported that an early intervention with an antioxidant treatment prevented endothelial dysfunction and the rise in inflammation and oxidative stress in ATX mice (Drouin et al. 2011b; Gendron et al. 2010), which was associated with a normalization of NVU and cognitive functions (Drouin et al. 2011a).

The defects in neurovascular functions detected in sham-ATX mice were associated with a decrease in the volume of specific regions of the brain, mostly in areas implicated in learning and memory processes. It is known, indeed, that the size of the brain decreases with age (Harada et al. 2013) and affects both white and gray matter regions (Salat et al. 1999). A drop in volume is most prominent in the prefrontal cortex and moderate in the hippocampus (Fotuhi et al. 2012). The loss in white matter strongly correlates with hypertension and stroke (Kennedy and Raz 2009), and CVD have been linked to hippocampus atrophy, which is prodromal to mild cognitive impairment, AD, and dementia (Fotuhi et al. 2012). Nonetheless, this structural change cannot fully explain the decline in cognitive functions since 6 weeks of TAC surgery induced a significant loss of cognitive functions without affecting brain volume neither in ATX

nor in WT mice; hence, volume restriction is likely the consequence of chronic stress on the brain vessels and parenchyma. Brain atrophy is linked to structural changes and loss of synapses in the nervous system is a key structural marker of aging (Maslah et al. 1993), of hypertension (Tucsek et al. 2017), and of neurodegenerative diseases (Bishop et al. 2010). We observed a decrease in *synaptophysin* mRNA expression in the parenchymal brain fraction of ATX mice, suggestive of a reduced synaptic density. Moreover, *Bdnf* expression, a neurotrophic and survival factor required in learning mechanisms (Kaplan and Miller 2000) that is reduced with aging and in AD (Nagahara et al. 2009), was also decreased in ATX mice. In addition, TAC worsened inflammation and oxidative stress of the parenchyma of ATX mice. Collectively, these changes would disrupt cell-to-cell signaling in the NVU and induce hypoperfusion, leading to chronic neuronal stress; the chronic damage likely translates into a loss of glial cells and neurons that lead with time to cognitive decline and to smaller volume of highly “used” areas of the brain.

The mechanism underlying chronic NVU dysfunction in aging ATX mice could be the progressive accumulation of vascular senescent cells. Senescent cells accumulate with aging and contribute to the general decline of the physiological functions (Baker et al. 2016) and to the development of neurological (Bussian et al. 2018) and vascular (Childs et al. 2016) diseases. In microvessels of ATX mice, *p16* gene expression was higher, suggestive of the presence of senescent cells (Kuilman et al. 2010). In contrast, after TAC surgery in both ATX and WT mice, *p16* gene expression in cerebral microvessels decreased, a process associated with a concomitant apoptotic response (increased *Bax/Bcl2* ratio). An increase in oxidative stress has been reported to promote senescence in the cerebral vasculature (Fulop et al. 2018); oxidative stress-dependent damage could therefore stimulate the senescence damage response (increase in *p16* expression) observed in microvessels of ATX mice, while TAC-induced severe damage would lead to apoptosis of microvascular cells (increased *Bax/Bcl2* ratio). Nonetheless, TAC was associated with a reduced expression of the antioxidant defense enzyme *Sod2* and a further increase in that of the pro-oxidative enzyme *Nox2* in the parenchyma. Altogether, these data suggest that vascular senescence and apoptosis are part of a graded damage response, senescence in response to chronic low-grade injury (aging, dyslipidemia, mild hypertension), and apoptosis in response to a

severe acute injury (TAC-induced hypertensive microhemorrhage) (de Montgolfier et al. 2019). Most importantly, these series of events could contribute to the progressive decline in the volume of memory-associated brain areas with age, a phenomenon accelerated by vascular risk factors.

There are limitations to our study. One is the absence of female mice. Sexual dimorphism in vascular cognitive impairment and dementia is not well understood (Mielke et al. 2014) and this should be addressed in specific follow-up studies. In addition, our ATX mice are not only atherosclerotic but also hypertensive: are the cerebrovascular damage observed in 12-month-old ATX mice more related to severe dyslipidemia or to hypertension? We pose that the NVU disruption observed in ATX mice, largely mimicked in WT-TAC mice and aggravated in ATX-TAC mice, is dependent on the interaction between chronic hemodynamic stress and severe dyslipidemia (Bolduc et al. 2011).

In conclusion, we presented evidence that aging ATX mice recapitulate the phenotype of VCID; we demonstrated that vascular risk factors cause cumulative damages to the NVU in mice, leading to cognitive failure. In addition, we demonstrate that a cerebrovascular hemodynamic stress alone affects brain functions: indeed, in WT mice, TAC surgery generates the functional and molecular phenotype measured in sham-ATX mice, including cognitive decline (Fig. 10). Similarly to what we observed in WT mice following TAC, which damage solely depends on high systolic blood pressure, middle-age ATX mice spontaneously develop micro-bleeds, capillary rarefaction and senescence, hypoperfusion, and cognitive decline. In ATX mice, TAC aggravated both NVU injury and cognition without affecting brain area volumes, suggesting that it is the chronicity of the damage that determines brain remodeling. The present study shows that it is the age-dependent accumulation of small changes in cerebral functions at the cellular and molecular levels that interact and synergize to affect the

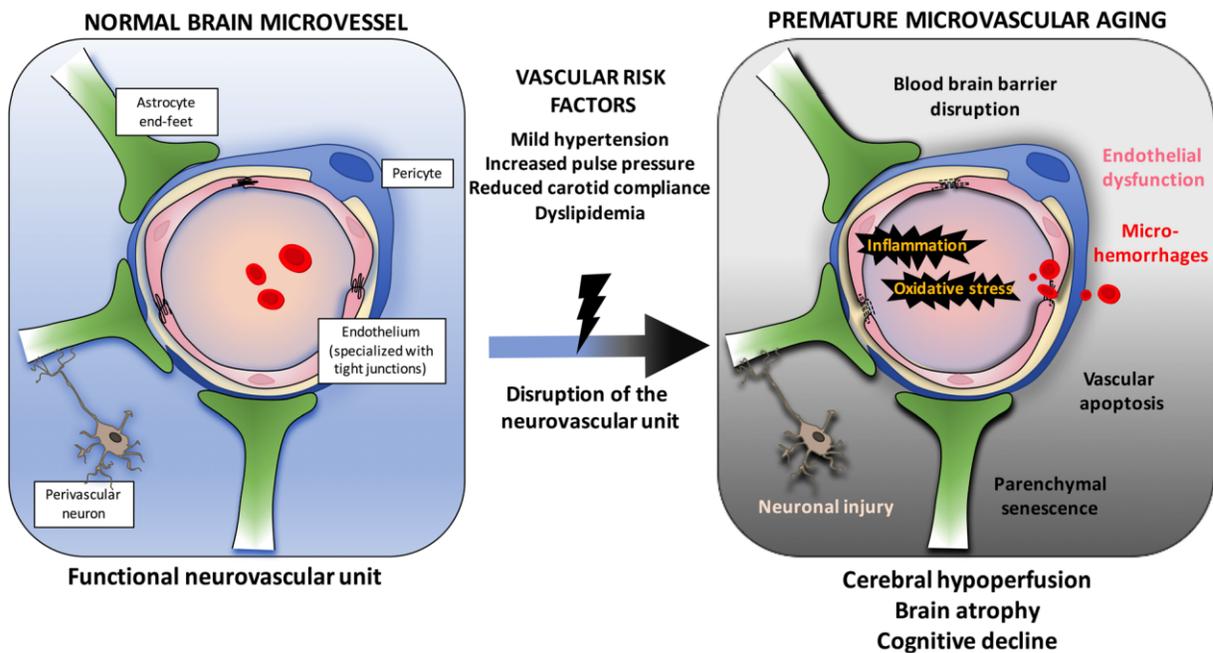


Fig. 10 Schematization of the putative cellular and molecular events linking risk factors for cardiovascular diseases, cerebral microcirculation, and the development of cognitive decline in middle-age mice. Cerebrovascular cells, astrocytes, and perivascular neurons constitute the interconnected neurovascular unit (NVU) that maintains proper brain functions. Vascular risk factors accelerate the rate of cognitive decline, but their impact on the NVU is not clear. We show that hypertensive, atherosclerotic

($LDLr^{-/-};hApoB100^{+/+}$) mice prematurely develop cognitive decline associated with cerebral micro-bleeds, reduced microvessel density, and endothelial dysfunction. These alterations were associated with blood-brain barrier leakage, brain hypoperfusion, senescence and inflammation, and brain atrophy. Induction of severe systolic hypertension in wild-type mice altered both vascular and neuronal functions. Thus, vascular risk factors disrupt the NVU and contribute to premature cognitive failure

outcome of cognitive dysfunction. Finally, our findings using ATX mice have clinical relevance: middle-age ATX mice could be used to test novel therapeutics and preventive approaches to alleviate the burden of VCID.

Grants This research was supported by the Canadian Institutes of Health Research (MOP 133649, E.T.) and by the Foundation of the Montreal Heart Institute (E.T.).

Compliance with Ethical Standards The study was approved by the Montreal Heart Institute ethics committee (ET No 2015-62-01).

Conflict of Interest The authors declare that they have no conflict of interest.

References

- Avants BB, Epstein CL, Grossman M, Gee JC (2008) Symmetric diffeomorphic image registration with cross-correlation: evaluating automated labeling of elderly and neurodegenerative brain. *Med Image Anal* 12:26–41. <https://doi.org/10.1016/j.media.2007.06.004>
- Avants BB, Tustison NJ, Song G, Cook PA, Klein A, Gee JC (2011) A reproducible evaluation of ANTs similarity metric performance in brain image registration. *Neuroimage* 54:2033–2044. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2010.09.025>
- Baker DJ, Childs BG, Durik M, Wijers ME, Sieben CJ, Zhong J, A. Saltness R, Jegannathan KB, Verzosa GC, Pezeshki A, Khazaie K, Miller JD, van Deursen JM (2016) Naturally occurring p16(Ink4a)-positive cells shorten healthy lifespan. *Nature* 530:184–189. <https://doi.org/10.1038/nature16932>
- Bishop NA, Lu T, Yankner BA (2010) Neural mechanisms of ageing and cognitive decline. *Nature* 464:529–535. <https://doi.org/10.1038/nature08983>
- Bolduc V, Drouin A, Gillis MA, Duquette N, Thorin-Trescases N, Frayne-Robillard I, Des Rosiers C, Tardif JC, Thorin E (2011) Heart rate-associated mechanical stress impairs carotid but not cerebral artery compliance in dyslipidemic atherosclerotic mice. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 301:H2081–H2092. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00706.2011>
- Breteler MM (2000) Vascular risk factors for Alzheimer's disease: an epidemiologic perspective. *Neurobiol Aging* 21:153–160
- Bussian TJ, Aziz A, Meyer CF, Swenson BL, van Deursen JM, Baker DJ (2018) Clearance of senescent glial cells prevents tau-dependent pathology and cognitive decline. *Nature* 562:578–582. <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0543-y>
- Cai H, Harrison DG (2000) Endothelial dysfunction in cardiovascular diseases: the role of oxidant stress. *Circ Res* 87:840–844
- Childs BG, Baker DJ, Wijshake T, Conover CA, Campisi J, van Deursen JM (2016) Senescent intimal foam cells are deleterious at all stages of atherosclerosis. *Science* 354:472–477. <https://doi.org/10.1126/science.aaf6659>
- Csiszar A, Tarantini S, Fülöp GA, Kiss T, Valcarcel-Ares MN, Galvan V, Ungvari Z, Yabluchanskiy A (2017) Hypertension impairs neurovascular coupling and promotes microvascular injury: role in exacerbation of Alzheimer's disease. *GeroScience* 39:359–372. <https://doi.org/10.1007/s11357-017-9991-9>
- de la Torre JC (2002) Alzheimer disease as a vascular disorder: nosological evidence. *Stroke* 33:1152–1162
- de Montgolfier O, Pinçon A, Pouliot P, Gillis MA, Bishop J, Sled JG, Villeneuve L, Ferland G, Lévy BI, Lesage F, Thorin-Trescases N, Thorin É (2019) High systolic blood pressure induces cerebral microvascular endothelial dysfunction, neurovascular unit damage, and cognitive decline in mice. *Hypertension* 73:217–228. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.118.12048>
- DeCarli C (2012) Cerebrovascular disease: assessing the brain as an end-organ of vascular disease. *Nat Rev Cardiol* 9:435–436. <https://doi.org/10.1038/nrcardio.2012.92>
- Didion SP, Heistad DD, Faraci FM (2001) Mechanisms that produce nitric oxide-mediated relaxation of cerebral arteries during atherosclerosis. *Stroke* 32:761–766
- Donnan GA, Fisher M, Macleod M, Davis SM (2008) *Stroke*. *Lancet* 371:1612–1623. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(08\)60694-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(08)60694-7)
- Dorr AE, Lerch JP, Spring S, Kabani N, Henkelman RM (2008) High resolution three-dimensional brain atlas using an average magnetic resonance image of 40 adult C57Bl/6J mice. *Neuroimage* 42:60–69. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2008.03.037>
- Drouin A, Bolduc V, Thorin-Trescases N, Bélanger É, Fernandes P, Baraghis E, Lesage F, Gillis MA, Villeneuve L, Hamel E, Ferland G, Thorin E (2011a) Catechin treatment improves cerebrovascular flow-mediated dilation and learning abilities in atherosclerotic mice. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 300:H1032–H1043. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00410.2010>
- Drouin A, Farhat N, Bolduc V, Thorin-Trescases N, Gillis MA, Villeneuve L, Nguyen A, Thorin E (2011b) Up-regulation of thromboxane A(2) impairs cerebrovascular eNOS function in aging atherosclerotic mice. *Pflugers Arch* 462:371–383. <https://doi.org/10.1007/s00424-011-0973-y>
- Drouin A, Thorin E (2009) Flow-induced dilation is mediated by Akt-dependent activation of endothelial nitric oxide synthase-derived hydrogen peroxide in mouse cerebral arteries. *Stroke* 40:1827–1833
- Farkas E, Luiten PG (2001) Cerebral microvascular pathology in aging and Alzheimer's disease. *Prog Neurobiol* 64:575–611
- Fleg JL, Strait J (2012) Age-associated changes in cardiovascular structure and function: a fertile milieu for future disease. *Heart Fail Rev* 17:545–554. <https://doi.org/10.1007/s10741-011-9270-2>
- Fotuhi M, Do D, Jack C (2012) Modifiable factors that alter the size of the hippocampus with ageing. *Nat Rev Neurol* 8:189–202. <https://doi.org/10.1038/nrneurol.2012.27>
- Fulop GA, Kiss T, Tarantini S, Balasubramanian P, Yabluchanskiy A, Farkas E, Bari F, Ungvari Z, Csiszar A (2018) Nrf2 deficiency in aged mice exacerbates cellular senescence promoting cerebrovascular inflammation. *GeroScience* 40:513–521. <https://doi.org/10.1007/s11357-018-0047-6>
- Gendron ME, Théorêt JF, Mamarbachi AM, Drouin A, Nguyen A, Bolduc V, Thorin-Trescases N, Merhi Y, Thorin E (2010) Late chronic catechin antioxidant treatment is deleterious to

- the endothelial function in aging mice with established atherosclerosis. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 298:H2062–H2070. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00532.2009>
- Godbout JP, Johnson RW (2009) Age and neuroinflammation: a lifetime of psychoneuroimmune consequences. *Immunol Allergy Clin N Am* 29:321–337. <https://doi.org/10.1016/j.iac.2009.02.007>
- Harada CN, Natelson Love MC, Triebel KL (2013) Normal cognitive aging. *Clin Geriatr Med* 29:737–752. <https://doi.org/10.1016/j.cger.2013.07.002>
- Iadecola C (2004) Neurovascular regulation in the normal brain and in Alzheimer's disease. *Nat Rev Neurosci* 5:347–360. <https://doi.org/10.1038/nrn1387>
- Iadecola C, Nedergaard M (2007) Glial regulation of the cerebral microvasculature. *Nat Neurosci* 10:1369–1376 doi. <https://doi.org/10.1038/nn2003>
- Iadecola C, Yaffe K, Biller J, Bratzke LC, Faraci FM, Gorelick PB, Gulati M, Kamel H, Knopman DS, Launer LJ, Saczynski JS, Seshadri S, Zeki al Hazzouri A (2016) Impact of hypertension on cognitive function: a scientific statement from the American Heart Association. *Hypertension* 68:e67–e94. <https://doi.org/10.1161/HYP.0000000000000053>
- Kaplan DR, Miller FD (2000) Neurotrophin signal transduction in the nervous system. *Curr Opin Neurobiol* 10:381–391
- Katusic ZS, Austin SA (2014) Endothelial nitric oxide: protector of a healthy mind. *Eur Heart J* 35:888–894. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehs544>
- Kennedy KM, Raz N (2009) Pattern of normal age-related regional differences in white matter microstructure is modified by vascular risk. *Brain Res* 1297:41–56. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2009.08.058>
- Kisler K, Nelson AR, Rege SV, Ramanathan A, Wang Y, Ahuja A, Lasic D, Tsai PS, Zhao Z, Zhou Y, Boas DA, Sakadžić S, Zlokovic BV (2017) Pericyte degeneration leads to neurovascular uncoupling and limits oxygen supply to brain. *Nat Neurosci* 20:406–416. <https://doi.org/10.1038/nn.4489>
- Kuilman T, Michaloglou C, Mooi WJ, Peeper DS (2010) The essence of senescence. *Genes Dev* 24:2463–2479. <https://doi.org/10.1101/gad.1971610>
- Masliah E, Mallory M, Hansen L, DeTeresa R, Terry RD (1993) Quantitative synaptic alterations in the human neocortex during normal aging. *Neurology* 43:192–197
- Mielke MM, Vemuri P, Rocca WA (2014) Clinical epidemiology of Alzheimer's disease: assessing sex and gender differences. *Clin Epidemiol* 6:37–48. <https://doi.org/10.2147/CLEP.S37929>
- Moore SM, Zhang H, Maeda N, Doerschuk CM, Faber JE (2015) Cardiovascular risk factors cause premature rarefaction of the collateral circulation and greater ischemic tissue injury. *Angiogenesis* 18:265–281. <https://doi.org/10.1007/s10456-015-9465-6>
- Nagahara AH, Merrill DA, Coppola G, Tsukada S, Schroeder BE, Shaked GM, Wang L, Blesch A, Kim A, Conner JM, Rockenstein E, Chao MV, Koo EH, Geschwind D, Masliah E, Chiba AA, Tuszynski MH (2009) Neuroprotective effects of brain-derived neurotrophic factor in rodent and primate models of Alzheimer's disease. *Nat Med* 15:331–337. <https://doi.org/10.1038/nm.1912>
- Nation DA, Sweeney MD, Montagne A, Sagare AP, D'Orazio LM, Pachicano M, Sepeshband F, Nelson AR, Buennagel DP, Harrington MG, Benzinger TLS, Fagan AM, Ringman JM, Schneider LS, Morris JC, Chui HC, Law M, Toga AW, Zlokovic BV (2019) Blood-brain barrier breakdown is an early biomarker of human cognitive dysfunction. *Nat Med* 25:270–276. <https://doi.org/10.1038/s41591-018-0297-y>
- O'Donnell M, Teo K, Gao P, Anderson C, Sleight P, Dans A, Marzona I, Bosch J, Probstfield J, Yusuf S (2012) Cognitive impairment and risk of cardiovascular events and mortality. *Eur Heart J* 33:1777–1786. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehs053>
- O'Rourke MF, Safar ME (2005) Relationship between aortic stiffening and microvascular disease in brain and kidney: cause and logic of therapy. *Hypertension* 46:200–204. <https://doi.org/10.1161/01.HYP.0000168052.00426.65>
- Pouliot P, Gagnon L, Lam T, Avti PK, Bowen C, Desjardins M, Kakkar AK, Thorin E, Sakadzic S, Boas DA, Lesage F (2017) Magnetic resonance fingerprinting based on realistic vasculature in mice. *Neuroimage* 149:436–445. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2016.12.060>
- Raignault A, Bolduc V, Lesage F, Thorin E (2017) Pulse pressure-dependent cerebrovascular eNOS regulation in mice. *J Cereb Blood Flow Metab* 37:413–424. <https://doi.org/10.1177/0271678X16629155>
- Rockman HA, Ross RS, Harris AN, Knowlton KU, Steinhilber ME, Field LJ, Ross J, Chien KR (1991) Segregation of atrial-specific and inducible expression of an atrial natriuretic factor transgene in an in vivo murine model of cardiac hypertrophy. *Proc Natl Acad Sci U S A* 88:8277–8281
- Salat DH, Kaye JA, Janowsky JS (1999) Prefrontal gray and white matter volumes in healthy aging and Alzheimer disease. *Arch Neurol* 56:338–344
- Schmidt D, von Hochstetter AR (1995) The use of CD31 and collagen IV as vascular markers. A study of 56 vascular lesions. *Pathol Res Pract* 191:410–414. [https://doi.org/10.1016/S0344-0338\(11\)80727-2](https://doi.org/10.1016/S0344-0338(11)80727-2)
- Stewart-Lee AL, Burnstock G (1991) Changes in vasoconstrictor and vasodilator responses of the basilar artery during maturation in the Watanabe heritable hyperlipidemic rabbit differ from those in the New Zealand White rabbit. *Arterioscler Thromb* 11:1147–1155
- Taylor CA, Greenlund SF, McGuire LC, Lu H, Croft JB (2017) Deaths from Alzheimer's disease - United States, 1999-2014. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 66:521–526. <https://doi.org/10.15585/mmwr.mm6620a1>
- Toth P, Tarantini S, Csiszar A, Ungvari Z (2017) Functional vascular contributions to cognitive impairment and dementia: mechanisms and consequences of cerebral autoregulatory dysfunction, endothelial impairment, and neurovascular uncoupling in aging. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 312:H1–H20. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00581.2016>
- Toth P, Tucek Z, Sosnowska D, Gautam T, Mitschelen M, Tarantini S, Deak F, Koller A, Sonntag WE, Csiszar A, Ungvari Z (2013) Age-related autoregulatory dysfunction and cerebrovascular injury in mice with angiotensin II-induced hypertension. *J Cereb Blood Flow Metab* 33:1732–1742. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.2013.143>
- Tucek Z, Noa Valcarcel-Ares M, Tarantini S, Yabluchanskiy A, Fülöp G, Gautam T, Orock A, Csiszar A, Deak F, Ungvari Z (2017) Hypertension-induced synapse loss and impairment in synaptic plasticity in the mouse hippocampus mimics the aging phenotype: implications for the pathogenesis of

- vascular cognitive impairment. *Geroscience* 39:385–406. <https://doi.org/10.1007/s11357-017-9981-y>
- Tustison NJ, Avants BB, Cook PA, Zheng Y, Egan A, Yushkevich PA, Gee JC (2010) N4ITK: improved N3 bias correction. *IEEE Trans Med Imaging* 29:1310–1320. <https://doi.org/10.1109/TMI.2010.2046908>
- Uttara B, Singh AV, Zamboni P, Mahajan RT (2009) Oxidative stress and neurodegenerative diseases: a review of upstream and downstream antioxidant therapeutic options. *Curr Neuropharmacol* 7:65–74. <https://doi.org/10.2174/157015909787602823>
- Yushkevich PA, Piven J, Hazlett HC, Smith RG, Ho S, Gee JC, Gerig G (2006) User-guided 3D active contour segmentation of anatomical structures: significantly improved efficiency and reliability. *Neuroimage* 31:1116–1128. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2006.01.015>
- Zlokovic BV (2002) Vascular disorder in Alzheimer’s disease: role in pathogenesis of dementia and therapeutic targets. *Adv Drug Deliv Rev* 54:1553–1559
- Zlokovic BV (2008) The blood-brain barrier in health and chronic neurodegenerative disorders. *Neuron* 57:178–201. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2008.01.003>
- Zlokovic BV (2011) Neurovascular pathways to neurodegeneration in Alzheimer’s disease and other disorders. *Nat Rev Neurosci* 12:723–738. <https://doi.org/10.1038/nrn3114>

Publisher’s note Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

3 DISCUSSION

Les études cliniques associent une augmentation de la PP centrale et de la VOP, un marqueur d'une diminution de la compliance artérielle, avec le déclin cognitif (Cooper et al 2016, Waldstein et al 2008). Cependant, la cascade d'événements pathologiques entre l'augmentation de la PP centrale, les dommages vasculaires, les dysfonctions cérébrales et l'incidence du déclin cognitif n'a jamais été clairement démontrée. L'hypothèse biomécanique vasculaire chez l'Homme suggère qu'au cours du vieillissement, l'augmentation et la propagation de la PP dans le cerveau ont un effet destructeur sur celui-ci. Cette hypothèse selon laquelle la PP endommage les fonctions et les structures microvasculaires cérébrales permettrait d'établir le lien de causalité entre la détérioration des structures cérébrovasculaires, les dommages au parenchyme et l'incidence du déclin cognitif (Briet et al 2012, Cooper et al 2016, Hughes & Sink 2016, Mitchell et al 2004, O'Rourke & Safar 2005, Stone et al 2015, Thorin-Trescases et al 2018). Afin d'améliorer la compréhension de l'impact délétère de la PP sur les fonctions cognitives, **l'objectif de cette thèse était donc de caractériser chez la souris, les événements cérébrovasculaires qui pourraient conduire à une forme de démence vasculaire en présence d'une élévation anormale de PP induite par la chirurgie TAC et/ou en présence de facteurs de risque vasculaires.**

3.1 Synthèse des résultats obtenus

Quelques études ont déjà exploré le lien entre l'augmentation de la PP et les dommages vasculaires mais la caractérisation n'intégrait pas l'exploration des déficits cognitifs (Sadkova et al 2018) ou le modèle d'étude était d'ordre cellulaire (Garcia-Polite et al 2017). Or, on sait que les composants vasculaires et parenchymateux interagissent entre eux de façon très forte et dynamique ; l'ensemble est représenté par l'UNV (Iadecola 2004). Nous avons donc souhaité, dans le design de nos études, caractériser au mieux l'impact de l'augmentation de la PP *in vivo* sur les vaisseaux sanguins cérébraux, en étudiant d'une part, la réponse du compartiment parenchymateux et d'autre part, la mise en place de mécanismes cellulaires compensatoires potentiels, qu'ils soient

vasculaires, neuronaux ou gliaux. Nous souhaitons ainsi proposer une représentation d'ensemble la plus proche possible des perturbations de l'homéostasie cérébrale observées *in vivo* en présence d'une augmentation de PP et menant à un déclin cognitif.

Dans l'étude #1, nous avons utilisé le modèle de chirurgie TAC pour augmenter spécifiquement et unilatéralement la PAS (et donc par conséquent la PP). Les expérimentations ont été réalisées sur des souris jeunes afin d'étudier spécifiquement l'effet de l'augmentation de la PP sur le cerveau, pour s'abolir des éventuels effets induits par le vieillissement. Ce modèle de chirurgie TAC a déjà été utilisé par d'autres groupes, lesquels ont démontré des dommages vasculaires (dont l'altération de la BHE) (Gentile et al 2009, Poulet et al 2006), une neuro-inflammation (Carnevale et al 2012a) et l'incidence de déclin cognitif (Carnevale et al 2012b); bien que leur hypothèse de recherche ne ce soit pas concentrée spécifiquement sur le rôle de l'augmentation de la PP mais plutôt sur celle de l'hypertension artérielle en général, le lien pathophysiologique entre l'augmentation du stress hémodynamique et l'altération des fonctions cognitives y était abordé. Dans notre étude #1, nous avons démontré que les microvaisseaux cérébraux sont vulnérables au stress mécanique de la PP induit par la chirurgie TAC et que les dommages cumulatifs à la microcirculation cérébrale sont associés à un déclin cognitif. Nous avons en effet observé à la fois dans les souris de type WT et les souris APP/PS1, que le compartiment vasculaire ipsilatéral était caractérisé par une dysfonction endothéliale sévère dans les artères piales, une diminution des protéines de jonctions accompagné d'une fuite de la BHE, des micro-hémorragies, une diminution de la densité microvasculaire et de l'apoptose microvasculaire. En réponse à ce stress vasculaire, nous avons mesuré une augmentation de l'inflammation astrocytaire cérébrale, suggestive d'un dommage de l'unité neurovasculaire. De plus, le phénotype Alzheimer du modèle Alzheimer APP/PS1 est exacerbé en présence de l'élévation de pression pulsée, par l'augmentation des dépôts A β et du déficit cognitif, ainsi que la dysfonction endothéliale cérébrale déjà présente dans ce modèle.

En accord avec la littérature, l'accumulation de l'A β cérébral semblerait être directement associée à une dysfonction de la BHE, notamment par une réduction des niveaux de

certaines de ses protéines de transport, qui sont spécifiques de l'A β , ce qui résulte en une diminution de sa clairance (Cirrito et al 2005, Deane et al 2004). La particularité du modèle de TAC unilatérale permet l'analyse du dommage unilatéral avec pour comparaison l'hémisphère contralatéral au dommage.

Dans l'étude #2, nous avons renforcé la notion de la contribution des facteurs de risque cardiovasculaires dans l'incidence et la progression du déclin cognitif. En utilisant le modèle de souris ATX LDL dyslipidémiques (niveaux de cholestérol, LDL et triglycérides sévèrement augmentés à l'âge de 12 mois (Gendron et al 2010)) et spontanément athérosclérotiques (plaques d'athérome dans l'aorte mesurables dès 6 mois (Drouin et al 2011a)) et qui exhibent des déficiences cognitives dès 6 mois (Drouin et al 2011a), nous avons décrit les changements cérébrovasculaires associés au phénotype de vieillissement artériel accéléré de ces souris, dont l'augmentation de la PP centrale, comparativement à des souris WT témoins. De plus, l'addition d'un stress vasculaire par chirurgie TAC exacerbe les dysfonctions déjà présentes chez les souris ATX, telles que la dysfonction endothéliale, les micro-hémorragies, la diminution de la densité des capillaires, la neuro-inflammation et l'augmentation du stress oxydant. L'augmentation de la perméabilité de la BHE, la diminution du DSC et les dysfonctions cognitives sont également exacerbées chez les souris ATX, démontrant un déclin de l'homéostasie cérébrale. Globalement, nos données suggèrent que les lésions vasculaires cérébrales sont une étape critique dans la dérégulation des fonctions cognitives. Certaines des altérations observées dans le modèle de souris ATX peuvent être suivies chez l'Homme, telles que les plaques athérosclérotiques, le bilan sanguin lipidique, l'hypertension, l'atrophie cérébrale et la mesure de la rigidité artérielle (notamment par l'augmentation de la VOP). La plupart de ces paramètres ont tous été associés avec une diminution des performances cognitives chez l'Homme (Iadecola et al 2016, O'Rourke & Safar 2005). Les souris ATX résumant ainsi un bon nombre des caractéristiques des patients atteints de démence vasculaire. Notre étude #2 peut donc être, dans une certaine mesure, transposée chez l'Homme et les paramètres comme l'hypertension,

l'atrophie cérébrale, la mesure de la rigidité artérielle pourraient être considérés plus sérieusement comme des marqueurs cliniques prédictifs du déclin cognitif.

En résumé, nous pensons avoir apporté des preuves nouvelles et solides sur le rôle délétère de l'augmentation de la PP dans l'incidence du déclin cognitif, celui-ci pouvant être amplifié et accéléré en présence de facteurs de risque des maladies cardiovasculaires et d'athérosclérose.

3.2 Par quel mécanisme l'augmentation de la pression pulsée initie-t-elle son effet pathologique ?

En tant que monocouche en contact direct avec le sang, l'endothélium vasculaire est le premier constituant de la paroi artérielle exposé aux forces hémodynamiques vasculaires qui sont les contraintes de cisaillement causées par le flux sanguin, la pression hydrostatique et la force cyclique induite par la pulsativité de la PA (Lelkes 1999). De façon physiologique, ces forces mécaniques sont bénéfiques à l'établissement et au maintien des propriétés fonctionnelles de l'endothélium vasculaire (Jufri et al 2015) (Figure 29). Cependant, lorsque les forces excèdent des valeurs physiologiques, la stimulation anormale et chronique du mécanisme de mécano-transduction des cellules endothéliales provoque une réponse anarchique des voies de signalisation, telle que l'augmentation de l'inflammation et de la production de ROS, induisant un dysfonctionnement endothélial caractérisé par une réduction de la production et de la disponibilité du NO (pour revue, voir (Jufri et al 2015)). Les conséquences d'une augmentation des forces hémodynamiques appliquées à l'endothélium ont largement été étudiées dans des systèmes *in vitro* comme dans les cellules endothéliales de la veine ombilicale humaine (HUVEC) (Hatami 2013) (pour revue, voir (Chiu et al 2009)) ou culture de cellules endothéliales aortiques isolées, par exemple, de rats spontanément hypertendus (pour revue voir, (Chistiakov et al 2017)), ou dans des modèles animaux de forces hémodynamiques altérées (par constriction de l'aorte ou de la carotide) (Chistiakov, Orekhov, and Bobryshev 2017). Collectivement, la littérature

décrit qu'une augmentation des forces hémodynamiques génère un environnement mécanique stressant pour les cellules endothéliales qui, afin de s'accommoder à ce changement hémodynamique, initient des réponses cellulaires inappropriées (Figure 29), regroupées sous le terme de « remodelage vasculaire » (Jufri et al 2015). L'application d'une force cyclique avec une amplitude anormalement élevée, résulte en une diminution des propriétés viscoélastiques des cellules endothéliales, par réarrangement du cytosquelette (Hatami 2013). Le remodelage peut également se faire sous forme de migration des CMLV dans l'intima en raison de la dégradation de la lame élastique interne de cette dernière, ou sous forme d'apoptose et réorganisation/dégradation de la MEC (Jufri et al 2015). Ce remodelage entraîne un changement structurel du vaisseau, dont son épaissement (Lee et al 2010). De plus, il est démontré que, fonctionnellement, l'augmentation de la force cyclique augmente la production de ROS, induisant un dysfonctionnement endothélial, caractérisé par une réduction de la production et disponibilité du NO et par un phénotype pro-inflammatoire menant à une dysfonction endothéliale (Jufri et al 2015). Au niveau de l'endothélium microvasculaire cérébral, les perturbations des mécanismes de mécano-transduction et ainsi de la régulation du tonus vasculaire en conditions hémodynamiques pathologiques sont moins connues. Néanmoins, comme pour les artères périphériques, il est suggéré qu'en condition hémodynamique altérée, les artères cérébrales piales et la microcirculation cérébrale subissent également un remodelage (Faraci 2018). Notamment, dans le modèle de rat hypertendu développant spontanément des microhémorragies (rat SHRSP), les parois des artères cérébrales sont hypertrophiées (Baumbach 1996, Nordborg et al 1985). De plus, dans notre laboratoire il a été démontré *ex vivo* que bien que la PP régule et contrôle la fonction physiologique de la eNOS, une augmentation pathologique de l'amplitude de la PP a un effet néfaste sur les artères cérébrales piales et induit une dysfonction endothéliale chez la souris (Raignault et al 2017).

En accord avec la littérature, notre modèle de souris ATX (étude #2) qui est caractérisé par une hypertension (PAS, PAD et PP augmentées à 1 an, figure 1 de l'article #2), est également caractérisé par une augmentation de l'épaisseur de la paroi des artères

carotides, comparativement aux souris témoins du même âge, suggérant un remodelage vasculaire en condition hypertensive. Bien qu'au niveau cérébral, le remodelage vasculaire des MCA isolées des souris ATX ne soit pas détectable (étude #2), nous y avons mesuré une dysfonction endothéliale (également démontrée dans une étude antérieure du laboratoire (Drouin et al 2011c)). De plus, nous avons mesuré dans l'étude #2, une augmentation de l'inflammation et du stress oxydant dans les microvaisseaux isolés du cerveau, suggérant une propagation du stress hémodynamique jusque dans la microvasculature, stress associé à une mécano-transduction endothéliale inappropriée. Dans les études #1 et #2, sous l'effet d'une augmentation des forces hémodynamiques par la chirurgie TAC pendant 6 semaines, nous avons à la fois mesuré une dysfonction endothéliale et une augmentation de la paroi vasculaire des artères piales (MCA) isolées des souris, reflétant un remodelage vasculaire suite à une réponse inadaptée de mécano-transduction dans des conditions pro-inflammatoires et pro-oxydantes (Figure 29).

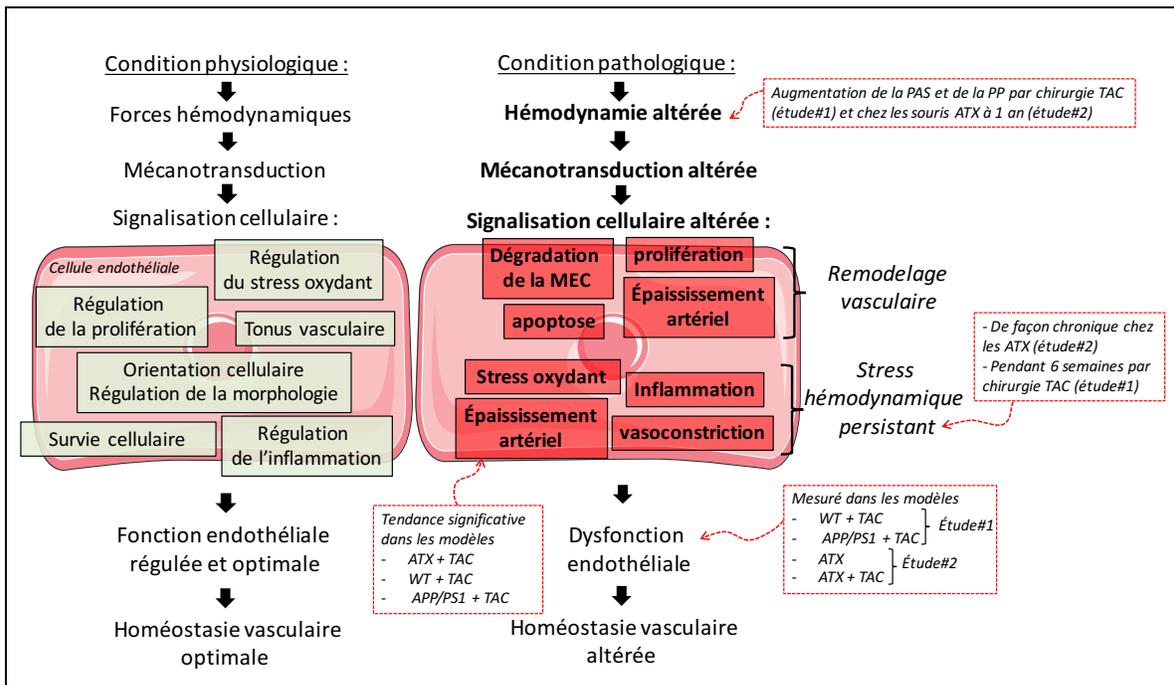


Figure 29 : Représentation schématique des conséquences pathologiques d'une altération des forces hémodynamique sur la signalisation endothéliale.

Adapté de (Jufri et al 2015). Lorsque les propriétés hémodynamiques du flux sanguin dans le système vasculaire sont modifiées, le stress mécanique excessif provoque une adaptation de la signalisation cellulaire par remodelage vasculaire qui peut se mesurer par une augmentation de l'épaisseur de la paroi artérielle, afin de maintenir l'état physiologique vasculaire. Cependant, la

persistance de ce stress hémodynamique en condition pathologique entraîne des réponses pro-inflammatoires et de stress oxydant, une dérégulation du tonus vasculaire par la synthèse de molécules vasoconstrictrices et la persistance de l'altération structurale. Une dysfonction endothéliale en résulte. La dysfonction endothéliale et l'épaississement artériel ont été mesurés dans les artères cérébrales isolées des souris ATX ou des souris soumises à une augmentation des forces dynamiques par chirurgie TAC (ATX+TAC, WT+TAC, APP/PS1+TAC) (PAS : pression artérielle systolique, PP : pression pulsée, TAC : constriction transverse aortique, ATX : athérosclérotique).

3.3 Comment le remodelage vasculaire et la dysfonction endothéliale au niveau cérébral affectent-ils les fonctions cérébrales et cognitives ?

De façon chronique, le dysfonctionnement endothélial et le remodelage artériel peuvent évoluer vers un affaiblissement de la structure vasculaire, par amincissement et une dégénérescence de la paroi vasculaire pouvant entraîner la rupture du vaisseau et se manifestant par l'incidence de micro-infarctus et de microhémorragies (pour revues, voir (Faraci 2018, Jufri et al 2015)). Le modèle de rat SHRSP est d'ailleurs caractérisé par une incidence d'AVC de façon spontanée (Okamoto K. 1974). En accord avec la littérature, nous avons détecté dans nos études la présence de microhémorragies dans l'hémisphère ipsilatéral des souris soumises à la chirurgie TAC, suggérant une condition de stress mécanique suffisamment élevée pour entraîner la rupture des vaisseaux cérébraux (Figure 30). De plus, il a été proposé que la dysfonction endothéliale associée à des états de pression artérielle élevés, est un facteur sous-jacent contribuant à l'inflammation vasculaire et à la perturbation de la BHE au cours de l'hypertension (pour revue, voir (Pires et al 2013)). Il a d'ailleurs été démontré *in vitro* dans des cellules endothéliales microvasculaires primaires du cerveau humain (*human brain microvascular endothelial cells*, HBMEC), qu'une augmentation des contraintes de cisaillement et de la pulsatilité entraîne une perte des propriétés de barrière de l'endothélium cérébral des capillaires (Garcia-Polite et al 2017), notamment via une dérégulation des protéines de jonctions endothéliales, qui sont elles aussi des mécano-senseurs (Chistiakov et al 2017). Le rôle de l'endothélium cérébrovasculaire dans le maintien de l'homéostasie vasculaire est effectivement critique, notamment dans le maintien du DSC (pour revue, voir (Faraci 2018)). En accord avec la littérature, nous avons démontré que l'augmentation du stress pulsatile par la TAC, et donc des forces hémodynamiques *in vivo*, est associé à une perte de la régulation endothéliale cérébrale qui se traduit par une augmentation de la

perméabilité vasculaire cérébrale (Figure 30). Dans le modèle de souris ATX (étude #2), l'augmentation de la perméabilité de la BHE est associée à un profil microvasculaire inflammatoire. Nous avons aussi démontré (étude #2) que l'altération de la perméabilité de la BHE et l'inflammation microvasculaire sont exacerbées en présence du stress hémodynamique imposé par la TAC pendant 6 semaines, suggérant la participation de la dysfonction endothéliale dans l'altération de l'intégrité de la BHE. En conséquence des dommages vasculaires, comme la rupture de la BHE, une hypoperfusion chronique cérébrale apparaît progressivement (pour revue, voir (Faraci 2018)). Ceci a effectivement été démontré dans nos études #1 et #2. Chez l'Homme, l'hypoperfusion chronique est d'ailleurs de plus en plus suggérée comme étant prédictive de la démence (Wolters et al 2017). L'association entre l'hypoperfusion cérébrale et le déclin cognitif est effectivement confirmé dans nos modèles, dans le modèle de souris ATX qui présente une diminution du DSC à 12 mois et un déclin cognitif important, et également chez les souris (WT et APP/PS1) ayant subi 6 semaines de TAC et chez qui le déclin cognitif est accéléré (Figure 30). D'ailleurs, dans des données non publiées, nous avons fait une mesure de la perfusion cérébrale par IRM à 1- et 3-semaines post-TAC, et dès la 1^{ère} semaine, l'augmentation de PP induisait une diminution de la perfusion cérébrale du côté ipsilatéral qui s'exacerbait au cours de la 3^{ème} semaine ; il aurait ainsi été intéressant de faire en parallèle l'évaluation des performances cognitives afin d'identifier si un déclin cognitif était détectable et dans quelle mesure nous étions capables de prédire ce déclin cognitif d'après un seuil critique d'hypoperfusion.

Bien que l'importance relative de chaque changement des vaisseaux cérébraux (modification fonctionnelle et structurelle) soit difficile à quantifier, nous avons démontré dans nos études #1 et #2, que l'accumulation des altérations vasculaires cérébrales, initiées par un stress mécanique pathologique imposé à l'endothélium, a un effet délétère sur l'homéostasie cérébrale et cognitive (Figure 30). Le rôle critique de l'endothélium dans le déclin pathologique de l'homéostasie cérébrale a également été démontré expérimentalement chez la souris par suppression dans l'endothélium du facteur de transcription NF κ B (modulateur essentiel dans le contrôle de l'inflammation) ,

suppression qui provoque une hypoperfusion, une perte d'intégrité vasculaire, des œdèmes et des modifications comportementales (convulsions, perte de sociabilité et anxiété) (Ridder et al 2015)). Ceci démontre bien que les changements d'une seule molécule de signalisation (le NFκB) dans un seul type de cellule vasculaire (les cellules endothéliales) peuvent avoir de lourdes conséquences pour l'homéostasie cérébrovasculaire. De la même façon, chez l'Homme, un gène présent dans l'endothélium et les CMLV, le gène *PDE4D*, qui est un important régulateur des niveaux intracellulaires d'AMP en codant l'enzyme phosphodiesterase 4D (PDE4D) qui dégrade l'adénosine monophosphate cyclique (AMPC), a été identifié comme un puissant facteur de risque d'AVC ischémique (Gretarsdottir et al 2003). Ces études soulignent le rôle crucial de la signalisation vasculaire dans la préservation de l'intégrité structurelle et fonctionnelle du cerveau. Bien que nous n'ayons pas effectué de mesures plus approfondies sur la signalisation vasculaire, nous pouvons corrélérer les altérations vasculaires observées dans nos modèles ATX et TAC avec les anomalies cognitives induites par les changements des forces hémodynamiques (Figure 30).

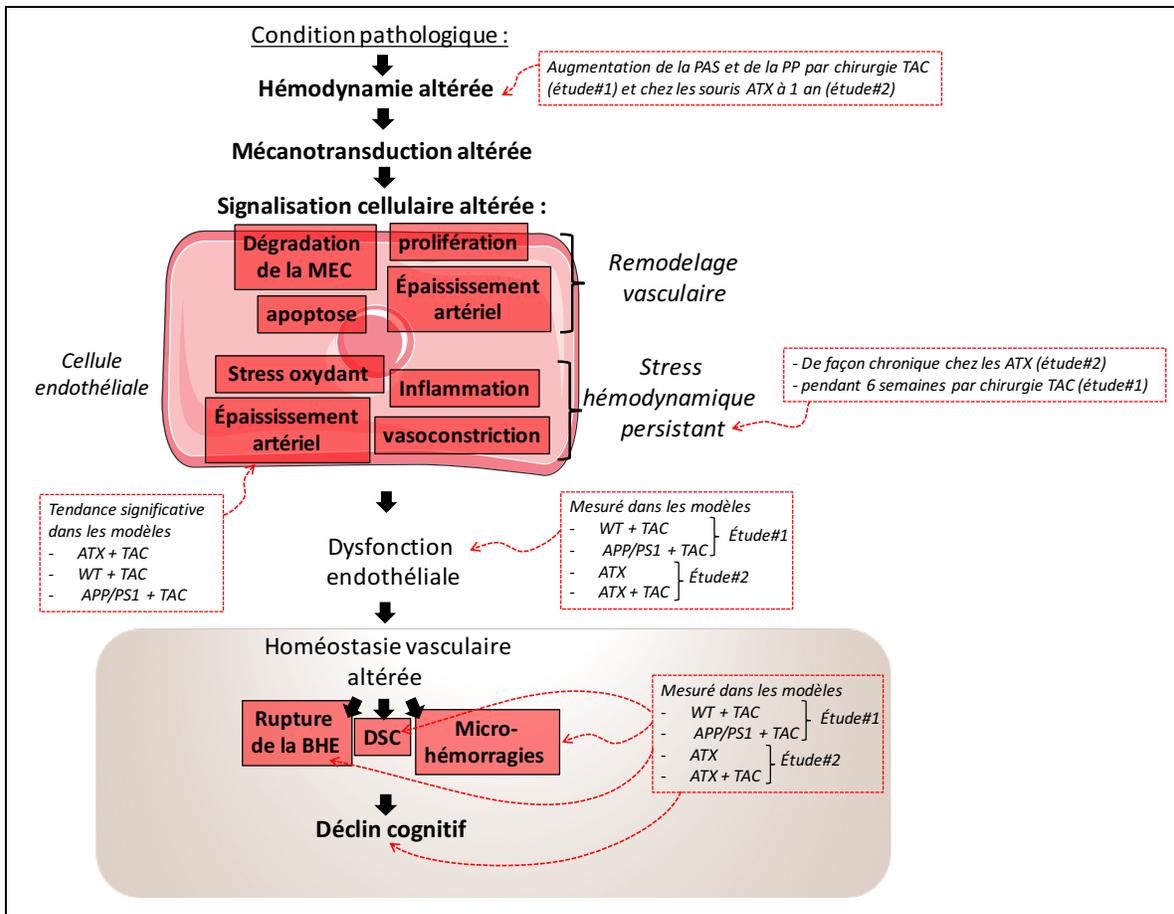


Figure 30 : Représentation schématique des conséquences pathologiques d'une altération des forces hémodynamique sur l'homéostasie vasculaire cérébrale et la cognition.

Lorsque les propriétés hémodynamiques du flux sanguin dans le système vasculaire sont modifiées, le stress mécanique excessif endommage la fonction endothéliale. Au niveau cérébral, le stress hémodynamique peut entraîner la rupture du vaisseau et se manifeste par l'incidence de microhémorragies. De plus, une rupture de la BHE peut apparaître, entraînant une diminution du DSC. L'ensemble des perturbations cérébrovasculaires altère ainsi l'homéostasie cérébrovasculaire, conduisant à un déclin cognitif.

3.4 Quels sont les autres mécanismes moléculaires qui peuvent participer aux dommages cérébrovasculaires et cognitifs ?

En plus de la dysfonction endothéliale, quelques études ont examiné les mécanismes moléculaires pouvant contribuer aux anomalies cérébrovasculaires et au déclin cognitif. Collectivement, la présence d'ischémie/hypoxie, l'augmentation du stress oxydant et la dysfonction mitochondriale contribuent aux dommages cérébrovasculaires et notamment au tissu cérébral, provoquant un déclin cognitif.

Les dommages cérébraux sont en effet principalement attribués à la participation d'un mécanisme ischémique et nous pouvons rappeler que la démence vasculaire découle généralement d'événements ischémiques, hémorragiques ou hypoxiques (de la Torre 2002, Weinachter et al 1990) et sont retrouvés dans la MA (Sochocka et al 2013). Notamment, dans un modèle d'hypoperfusion cérébrale globale chronique chez le rat, l'accumulation protéique prolongée du facteur inductible par l'hypoxie 1α (HIF- 1α) dans l'hippocampe (Yang et al 2013), qui est un régulateur essentiel de l'expression des gènes en réponse à l'hypoxie et à l'ischémie, a été mesuré. Dans nos études, l'hypoxie/ischémie n'a pas été mesurée, mais il est très probable que dans nos modèles ATX et TAC caractérisés par une hypoperfusion cérébrale, ce mécanisme d'hypoxie et d'ischémie participe aux dommages vasculaires et cérébraux. Afin de confirmer la présence d'hypoxie/ischémie, nous aurions pu mesurer l'expression génique ou protéique de HIF- 1α , dont l'induction régule les réponses menant à la survie ou à la mort cellulaire, en fonction de la durée et de la gravité du stress (Yang et al 2013). Les composants métaboliques modifiés par hypoxie ou ischémie sont la diminution de la disponibilité en oxygène et en glucose qui entraînent des conséquences plus ou moins délétères selon la durée et le type d'hypoxie ou d'ischémie (pour revue, voir (Weinachter et al 1990)). La cascade pathologique est représentée dans la figure 31 : la baisse en O_2 et en glucose induit rapidement une perturbation de l'homéostasie ionique par l'influx intracellulaire du sodium et du Ca^{2+} et l'efflux de potassium, ce qui modifie le potentiel de membrane conduisant à la dépolarisation cellulaire et à la libération de neurotransmetteurs (dopamine, norépinéphrine, sérotonine, acétylcholine et le glutamate) (Weinachter et al

1990). La combinaison de la libération synaptique excessive et l'absorption cellulaire altérée augmentent la concentration en neurotransmetteurs dans l'espace synaptique et extracellulaire, ce qui entraîne entre autre l'hyperexcitation des récepteurs NMDA induisant un dommage neuronal (Weinachter et al 1990). Plus particulièrement, le glutamate induit une neurotoxicité par un influx toxique de Ca^{2+} , ce qui entraîne la mort neuronale (notamment dans les zones les plus vulnérables de l'hippocampe) et mène bien souvent à une perte de mémoire (Weinachter et al 1990). L'augmentation de la concentration en Ca^{2+} neuronal peut également stimuler la synthèse et l'accumulation du NO par la nNOS (Beckman 1991), et ses produits toxiques dérivés de l' O_2 peuvent attaquer l'intégrité de la BHE, causer un dysfonctionnement astrocytaire et augmenter la perméabilité endothéliale (pour revues, (Farkas & Luiten 2001, Freeman & Keller 2012)). De plus, la perturbation de l'homéostasie calcique contribue au dysfonctionnement de la mitochondrie, dans laquelle s'accumule du Ca^{2+} , ce qui lui est délétère, notamment par l'arrêt de la production d'ATP et par un niveau de stress oxydant accru pouvant entraîner la mort cellulaire (pour revue, voir (Muller et al 2018)). Le dysfonctionnement mitochondrial est d'ailleurs désormais considéré comme l'une des principales lésions intracellulaires cérébrales de la MA (Sochocka et al 2013) et comme la principale source de stress oxydant conduisant à une perturbation de l'homéostasie cérébrale. De façon intéressante, il a été montré d'une part chez des souris âgées et chez l'Homme, qu'un traitement avec le *mitoquinone mesylate (MitoQ)* qui est un anti-oxydant mitochondrial, restaurait la fonction endothéliale (Rossman et al 2018) et d'autre part, il a été démontré chez un modèle murin de la MA (souris 3xTg-AD) que le traitement au *MitoQ* était capable de prévenir les déficits cognitifs de la souris via une diminution du stress oxydant et de l'accumulation du peptide $A\beta$, de l'inflammation et de l'apoptose cellulaire (McManus et al 2011). Dans une autre étude chez la souris soumise à un stress hémodynamique par chirurgie TAC, l'administration de l'antioxydant *Tiron* a renversé les déficits cognitifs de la souris induit par la TAC (Carnevale et al 2012b). Expérimentalement, la mesure de l'expression de HIF-1 α combinée à la détection d'une augmentation du stress oxydant dans le tissu cérébral pourrait donc suggérer la présence de la cascade pathologique d'un

environnement ischémique et hypoxique. L'augmentation des ROS dans le tissu cérébral (cortex et hippocampe) que nous avons mesurée (par marquage au dihydroéthidium (DHE)) dans l'étude #2 chez les souris ATX, pourrait donc indiquer un environnement hypoxique/ischémique pouvant entraîner des dommages aux cellules cérébrales. La production de stress oxydant étant exacerbée en condition TAC (dans notre étude #2 et dans (Carnevale et al 2012b)), nous pouvons avancer que l'augmentation des forces hémodynamiques génère un environnement hypoxique/ischémique qui participe aux mécanismes affectant l'homéostasie cérébrale et le maintien des fonctions cognitives (Figure 31).

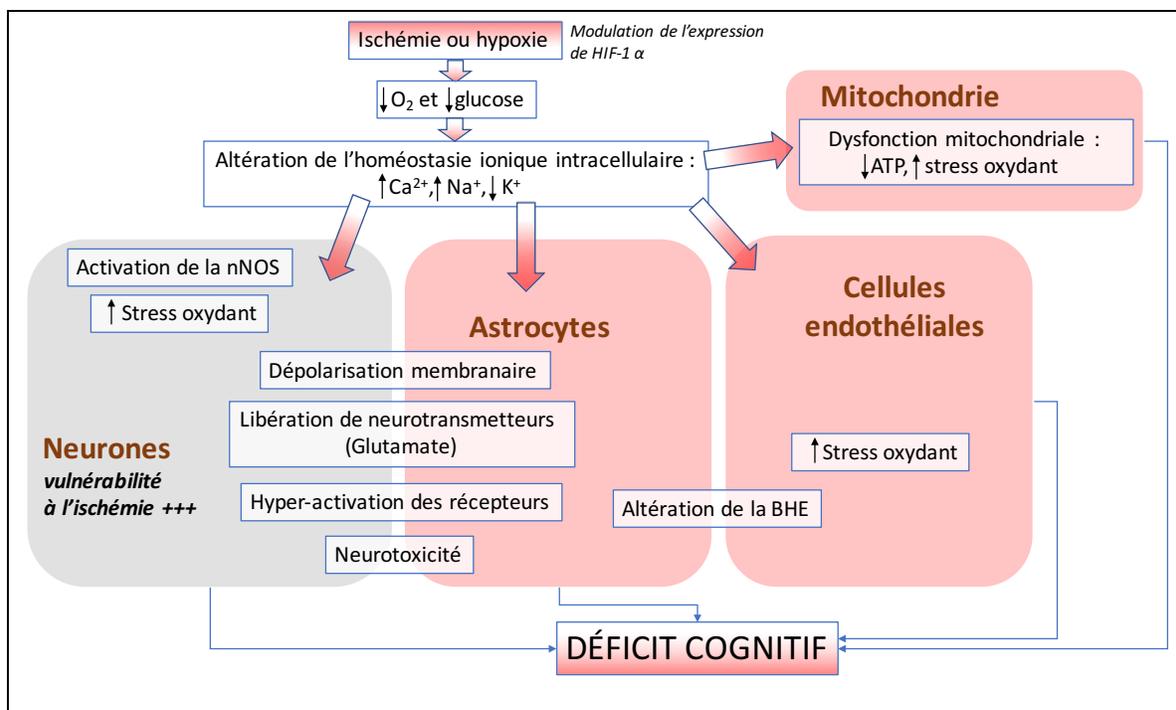


Figure 31 : Schématisation des événements pathologiques cellulaires cérébraux lors de l'ischémie et pouvant contribuer au déclin cognitif.

Adapté de (Weinachter et al 1990). La diminution de la disponibilité en oxygène cérébral et en glucose induit une perturbation de l'homéostasie ionique qui entraîne une baisse rapide de la teneur en ATP nécessaire au métabolisme neuronal normal. La modification du potentiel membranaire neuronal et astrocytaire conduit à la dépolarisation cellulaire et la libération de neurotransmetteurs, pouvant mener à une neurotoxicité par hyper-activation des récepteurs. Dans les cellules endothéliales, la perturbation de l'homéostasie ionique entraîne des perturbations pouvant conduire à une altération de la BHE. Dans l'ensemble des cellules, la dysfonction mitochondriale est caractéristique de conditions ischémiques et entraîne la production accrue de stress oxydant ayant des répercussions sur tous les types cellulaires du cerveau. La cascade de ces événements altère l'homéostasie de l'UNV et mène au déclin cognitif

(BHE : barrière hémato-encéphalique, UNV : unité neurovasculaire, ATP : adénosine triphosphate).

Une ischémie cérébrale de courte durée s'accompagne de lésions tissulaires limitées généralement à la population neuronale ; les cellules situées en dehors des zones vulnérables ne sont généralement pas touchées (comme les cellules gliales et l'endothélium) (pour revues, (Kristian & Siesjo 1998, Puig et al 2018)). Les astrocytes sont notamment moins vulnérables à l'ischémie car ils sont capables de maintenir des niveaux d'ATP plus longtemps que les neurones pendant la durée de l'ischémie et la dérégulation ionique s'effectue plus lentement ; les astrocytes possèdent également une densité inférieure de récepteurs au glutamate et ont une meilleure capacité anti-oxydante (Rossi et al 2007). En revanche, une ischémie de longue durée conduit à une mort de tous les types de cellules (Kristian & Siesjo 1998, Puig et al 2018)). Dans notre étude#1, nous avons mesuré la mort cellulaire par apoptose (marquage TUNEL) dans des coupes cérébrales dans le groupe de souris soumises à la chirurgie TAC. De façon intéressante, l'apoptose semblait être majoritairement de nature vasculaire, car co-localisée avec le marquage CD31, un marqueur spécifique endothélial, suggérant que l'apoptose endothéliale des microvaisseaux cérébraux résultait d'une ischémie de longue durée après la TAC. De plus, la présence de la réactivité astrocytaire (augmentation du marqueur de réactivité astrocytaire de la protéine acide fibrillaire gliale (GFAP)) observées dans les études #1 et #2) peut aussi être suggestive de la forte inflammation et de la mort cellulaire de l'UNV en présence d'hypoxie/ischémie en condition TAC.

3.5 Participation de la dérégulation neurohumorale aux dommages cérébrovasculaires et cognitifs :

La régulation du tonus vasculaire et de la pression artérielle est assurée par l'action du SNA et du système rénine-angiotensine-aldostérone (RAAS). Cependant, il est largement décrit dans la littérature, que le SNA et le RAAS hyper-activés sont des acteurs interconnectés dans l'altération vasculaire (récapitulée dans la figure 32). Chez l'Homme, la dérégulation neurohumorale de ces deux systèmes est impliquée au cours du vieillissement (Hotta & Uchida 2010) et dans des pathologies vasculaires (Fisher et al

2009), comme l'hypertension (Laragh 1971), l'athérosclérose (Durante et al 2012), et les démences comme la MA et la démence vasculaire (Allan et al 2007). De façon mécanistique, les effets néfastes du RAAS proviennent de la production de l'hormone Ang II (Fleegal-DeMotta et al 2009) qui exerce son activité sur les cellules vasculaires, notamment par l'activation de son récepteur de type 1 (AT1R) (McKinley et al 2003). Les mécanismes moléculaires par lesquels l'Ang II induit un dommage vasculaire implique la production excessive des ROS, notamment via l'induction de la NADPH oxydase (Ruiz-Ortega et al 2001)). De plus, l'activation d'une réponse inflammatoire dans les cellules endothéliales et CMLV (par action directe de l'Ang II sur les cellules ou indirectement par l'activation de NFκB ou des ROS) (Ruiz-Ortega et al 2001)) induit un dommage vasculaire. Le stress oxydant et l'inflammation induites par l'Ang II entraînent l'altération de la fonction endothéliale, ainsi que la stimulation de la relâche d'autres composés vaso-actifs et hypertensifs (McKinley et al 2003). La dysfonction endothéliale a d'ailleurs été démontrée via la perte de biodisponibilité du NO (pour revue, (Sheng & Zhu 2018)). De plus, l'Ang II circulante accède au SNC par les organes circumventriculaires sensoriels dépourvus de BHE (McKinley et al 2003) et établit ainsi son effet délétère sur les cellules cérébrales. La signalisation pro-oxydante et pro-inflammatoire de l'Ang II altère l'UNV (Gebre et al 2018, Girouard 2016) : la perméabilité de la BHE est augmentée au cours de l'hypertension induite par l'AngII, comme démontré expérimentalement *in vitro* sur une culture de microvaisseaux (Fleegal-DeMotta et al 2009) ou *in vivo* chez la souris par perfusion chronique d'Ang II, d'une manière dépendante de AT1R (Vital et al 2010). En atteignant la moelle ventrolatérale rostrale (MRVL) dans le tronc cérébral, qui est le siège de l'activation du SNA, l'Ang II exerce un effet sympathoexcitateur, neurosécrétoire et modulateur de baroréflexe, entraînant une augmentation de la PA (Biancardi & Stern 2016). Expérimentalement, il a été démontré *in vivo* chez la souris qu'un niveau élevé de stress oxydant dans la MRVL est chroniquement associé à de l'hypertension systémique (Tai et al 2005). De plus, la formation locale d'Ang II dans le cerveau est également possible car tous les composants du RAAS y sont présents, contribuant donc à la sympatho-excitation et à l'hypertension (Biancardi & Stern 2016). De façon intéressante,

il a récemment été mis en évidence que dans des conditions où la BHE est déjà altérée (entre autres via l'effet de l'Ang II elle-même), cette perméabilité facilite d'autant plus l'accès direct de l'Ang II circulante vers les centres cérébraux sympatho-excitateurs, normalement protégés, ce qui constitue un cercle vicieux exacerbant l'activation sympathique induite par l'Ang II (Biancardi & Stern 2016). L'augmentation de l'Ang II et l'hyper-activation du SNA provoquent donc une hypertension, et en retour des dommages vasculaires périphériques, cérébraux et neuronaux menant à une déficience cognitive (Figure 32).

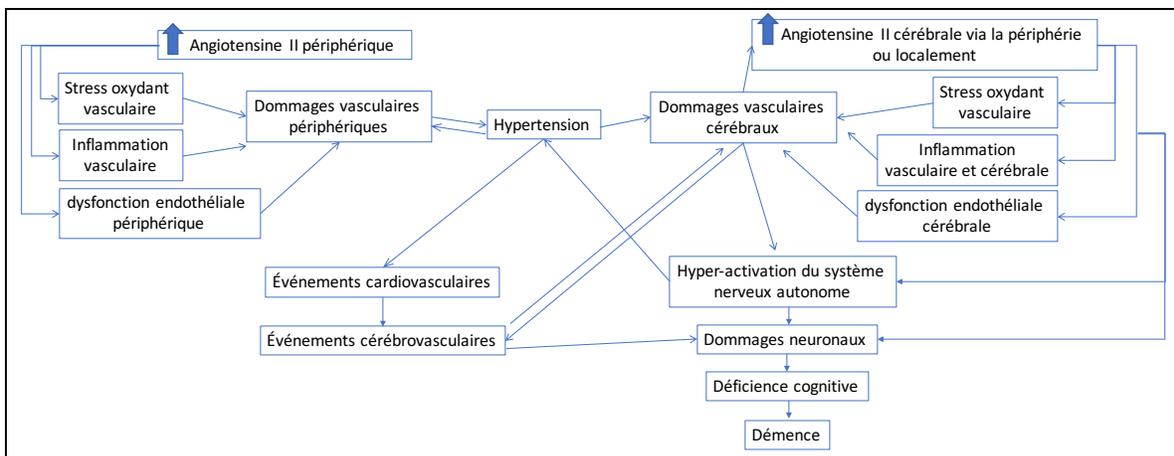


Figure 32 : Schématisation des interconnexions des différents événements vasculaires et cérébraux induisant l'incidence de la démence.

Adapté de (Bodiga & Bodiga 2013, Kishi & Hirooka 2012). L'augmentation de l'angiotensine II et l'hyper-activation du système nerveux autonome provoquent tous deux une hypertension et une déficience cognitive menant à la démence, notamment via des dommages vasculaires périphériques, cérébraux et neuronaux.

Dans nos deux études chez la souris, nous ne nous sommes pas intéressés expérimentalement à l'implication de la dérégulation neurohumorale dans la pathogénèse des déficits cognitifs. Néanmoins, le modèle TAC a été développé à l'origine par Rockman et ses collègues pour étudier l'hypertrophie ventriculaire gauche (*left ventricular hypertrophy*, LVH) et l'insuffisance cardiaque (Rockman et al 1991) ; dans la pathogénèse de l'insuffisance cardiaque, la signalisation du SNA augmente en réponse à une diminution du débit cardiaque, ce qui active à son tour le RAAS (Li et al 2018), suggérant que les deux systèmes sont suractivés dans le modèle de TAC. Bien qu'une

mesure directe d'une augmentation des niveaux d'AngII dans le plasma et dans le LCR n'aient jamais été rapportées, le modèle de chirurgie TAC est caractérisé par une augmentation des niveaux de catécholamines (Rapacciuolo et al 2001), suggérant une augmentation de l'activité du SNA et du RAAS. Nous pouvons donc proposer que les dommages vasculaires cérébraux induits par la TAC pourraient résulter, du moins en partie, de l'action de l'AngII, le tout participant au déclin cognitif. Dans le modèle APP/PS1 de souris transgéniques de la MA que nous avons utilisé dans l'étude#1, aucune donnée sur une augmentation endogène de l'activité du SNA ou du RAAS ne semble être disponible. De plus, ces souris ne sont pas caractérisées par de l'hypertension. Néanmoins, il a été démontré dans le modèle murin APP/PS1, que l'administration intranasale du *losartan* (bloqueur du récepteur AT1R) entraîne une diminution de l'inflammation cérébrale et des dépôts A β (Danielyan et al 2010), suggérant l'action cérébrale de l'AngII (et donc l'activation neurohumorale) dans la pathogénèse des déclin cognitifs observés. Dans un autre modèle de la MA (souris APP), le déclin cognitif a d'ailleurs été renversé par l'administration du *losartan* (Ongali et al 2014). Peu de données sont disponibles concernant l'activation de la réponse neurohumorale dans le modèle de souris LDLr^{-/-};hApoB₁₀₀^{+/+} que nous avons utilisé dans l'étude#2. Néanmoins, ces souris développent de l'hypertension. Nous pouvons donc avancer que les deux systèmes neurohumoraux sont potentiellement activés ; de plus ces souris sont caractérisées par une rupture de la BHE (démonstré dans l'étude#2), pouvant refléter l'impact de l'AngII sur les structures vasculaires cérébrales. Il a été rapporté qu'un autre modèle de souris athérosclérotiques (souris ApoE KO dyslipidémiques par supplémentation d'une diète riche en gras) était caractérisé par une activation du RAAS (Ni et al 2013). Les altérations vasculaires cérébrales observées dans nos souris dyslipidémiques et athérosclérotiques pourraient donc possiblement découler de l'effet délétère de l'AngII sur la vasculature. D'ailleurs les niveaux d'inflammation et de stress oxydant dans les microvaisseaux cérébraux mesurés dans les souris LDLr^{-/-};hApoB₁₀₀^{+/+} (étude #2) pourraient découler de l'action de l'AngII.

3.6 Quel modèle murin serait optimal pour étudier l'hypothèse biomécanique de l'augmentation de la PP dans l'incidence des déclin cognitifs ?

Le modèle chirurgical de TAC que nous avons utilisé dans l'étude #1 apparaît comme un modèle intéressant pour évaluer l'effet de l'augmentation de la PAS et de la PP sur les fonctions cognitives. L'induction du stress hémodynamique nous a effectivement permis de mesurer un bon nombre d'altérations neurovasculaires aboutissant à un déclin cognitif. Une limite de ce modèle serait peut-être le pourcentage de constriction imposé à l'aorte ; dans notre étude#1 (et en accordance avec la littérature (Li et al 2014, Rockman et al 1991)), la constriction aortique que nous avons appliquée est d'environ 65% ; ceci correspond à l'induction d'un stress hémodynamique très important et aigu. Il pourrait donc être intéressant d'utiliser le modèle de chirurgie TAC dans l'étude de l'altération des fonctions cognitives mais avec un pourcentage de constriction moindre, afin de reproduire un stress chronique plus représentatif de la pathogénèse de l'hypothèse biomécanique (qui s'effectue sur plusieurs décennies chez l'Homme). De façon méthodologique, le pourcentage de la constriction dans le modèle de TAC est le paramètre à modifier plutôt que la durée de la constriction. Pour rappel, le modèle TAC a été développé à l'origine par Rockman et ses collègues pour étudier la LVH et l'insuffisance cardiaque (Rockman et al 1991). Chez l'Homme, un risque accru de démence a été rapporté chez les patients insuffisants cardiaques (Qiu et al 2006) et caractérisés par une LVH (Moazzami et al 2018). Après 6 semaines de constriction dans le modèle de chirurgie TAC, nous avons bien observé le développement d'une LVH (mesuré expérimentalement par l'augmentation du poids du cœur chez les souris TAC) ainsi qu'une diminution légère mais statistiquement significative de la fraction d'éjection systolique ($71,4 \pm 3,3\%$ chez les souris sham *versus* $59,9 \pm 3,5\%$ chez les souris TAC, données non publiées) ; cependant, la PAD périphérique est maintenue. Ces données indiquent que les 6 semaines de constriction induisent le développement d'une LVH de type compensatoire, mais que les souris ne sont pas en défaillance cardiaque. Cependant, une étude récente a démontré *in vivo* dans les souris Tga q*44 modifiées génétiquement et qui développent progressivement une cardiomyopathie mimant la défaillance

cardiaque, que celles-ci développent un déclin cognitif mimant la VCI, bien avant le déclin de la fonction ventriculaire gauche (Adamski et al 2018). Ce modèle présente également une dysfonction endothéliale cérébrale (Adamski et al 2018). En revanche, ce modèle n'est pas caractérisé par une hypoperfusion cérébrale, ce qui est le cas dans notre modèle de TAC et qui est retrouvée dans la plupart des modèles mimant la VCI. Bien que les mécanismes conduisant à la VCI entre ce modèle d'étude et ceux utilisés pour conduire cette thèse, pourraient diverger, il faut néanmoins garder à l'esprit que la présence de la LVH pourrait représenter un biais dans l'étude des performances cognitives dans ce modèle.

Le modèle murin de dyslipidémie sévère $LDLr^{-/-};hApoB_{100}^{+}$ que nous avons utilisé dans l'étude#2, apparait également d'après nos résultats, comme un modèle prometteur dans l'étude de la démence. Nous avons en effet démontré des altérations vasculaires et hémodynamiques multiples, associées à un déclin cognitif, qui pouvaient être modulables par l'ajout de la TAC. Néanmoins, il peut être difficile dans ce modèle de clairement identifier la contribution de chaque facteur (athérosclérose, hypertension, dyslipidémie) aux altérations cérébrales et cognitives observées. Cependant, cette limite constitue aussi la force du modèle $LDLr^{-/-};hApoB_{100}^{+}$ dans notre étude#2, car de façon translationnelle, l'Homme est exposé à une multitude de facteurs de risque des MCV au cours du vieillissement, ces facteurs pouvant d'ailleurs s'auto-influencer entre eux dans l'incidence et la progression d'un état pathologique.

Parmi les modèles de facteurs de risques des MCV, d'autres modèles athérosclérotiques ont été associés à une diminution des performances cognitives, comme les souris APOE, $LDLr^{-/-}$ (pour revue, voir (Bink et al 2013)). Néanmoins, l'augmentation de la PP n'est pas rapportée pour ces modèles. L'induction de l'hypertension est, elle, très souvent reproduite. Un modèle hypertensif très fréquent chez la souris correspond à l'établissement d'une hypertension chronique par perfusion systémique d'Ang II qui a aussi été rapporté comme pouvant augmenter la PP (Haggerty et al 2015), induire un déclin cognitif chez la souris (Duchemin et al 2013) ou accélérer le

développement de la MA (Cifuentes et al 2015), et être associée à une augmentation du RAAS (Faraci 2018).

D'autres modèles murins, caractérisés par une PP augmentée, existent et pourraient être utilisés pour étudier l'impact de l'augmentation de la PP sur les fonctions cérébrovasculaires et cognitives. Les modèles de rigidité artérielle sont un bon exemple ; le modèle de calcification carotidienne (Sadekova et al 2013) est un modèle murin de rigidité artérielle caractérisé par une augmentation de la PP au niveau de la carotide et au niveau cérébral (Sadekova et al 2013). Le modèle de souris déficiente en élastine (souris $Eln^{+/-}$) est également caractérisé par une rigidité artérielle, une PP centrale augmentée et une dysfonction endothéliale cérébrale (Walker et al 2015). Cependant, au niveau cérébral, aucune mesure directe de l'augmentation de la PP dans ce modèle n'a été effectuée.

3.7 Limites expérimentales de nos études :

L'un de nos premiers objectifs était de fournir la preuve directe d'une pulsatilité plus importante dans les artères intracrâniennes après la TAC ou chez les souris ATX, afin de valider expérimentalement l'hypothèse biomécanique de la propagation de la pression pulsée dans la microcirculation cérébrale et ainsi son effet destructeur sur le cerveau (Stone et al 2015). Dans le modèle de souris ATX utilisé dans l'étude#2, des données du laboratoire ont déjà montré une augmentation de la compliance de la paroi des artères cérébrales comparativement à des souris WT témoins, sans changement de diamètre dans les deux groupes, suggérant une augmentation de la pulsatilité cérébrale dès 6 mois chez les souris ATX (Bolduc et al 2012). Néanmoins, aucune donnée sur la propagation de la PP dans la vasculature cérébrale avec le modèle TAC n'est à ce jour disponible dans la littérature. Nous avons ainsi entrepris, 6 semaines post-TAC, de mesurer la pulsatilité dans les artères intracrâniennes (de diamètre de 30 μ m) chez des souris conscientes par tomographie par cohérence optique, à l'aide d'une fenêtre intracrânienne unilatérale du côté ipsilatéral du cerveau (données non publiées de l'étude #1). Malheureusement, les données obtenues étaient beaucoup trop variables et la méthode d'acquisition nécessite encore d'être affinée. Ces données n'ont donc pas été incluses dans l'article #1. Les

données préliminaires, exprimées par le changement relatif de surface des artères intracrâniennes au cours d'un cycle cardiaque (indice de pulsatilité du flux) (Figure 33), suggèrent une augmentation (non significative) de la pulsatilité intracérébrale chez 30% des souris TAC. Ces données restent à être validées, soit chez des souris anesthésiées pour diminuer le bruit de fond, soit après raffinement de la méthode d'analyse des données. Bien que dans l'étude #1 nous n'ayons pas pu expérimentalement et directement démontrer la propagation de la PP dans la microvasculature cérébrale afin de valider l'hypothèse biomécanique dans le déclin cognitif, nous avons mesuré une augmentation de la paroi des artères cérébrales MCA et l'incidence de microhémorragies. Ces données suggèrent, indirectement, la propagation de la PP dans la microcirculation cérébrale dans le modèle de TAC.

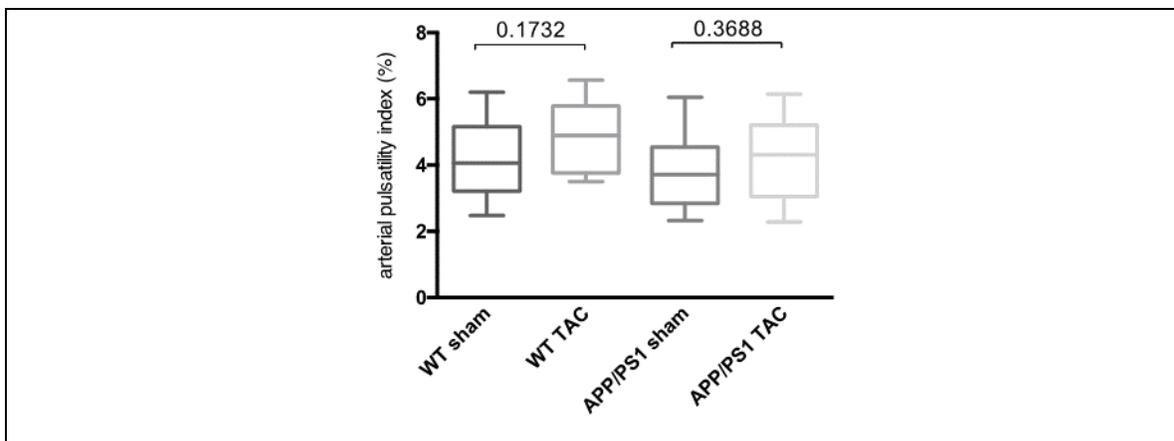


Figure 33 : Mesure de la pulsatilité artérielle cérébrale chez les souris WT et APP/PS1 après 6 semaines de TAC, par tomographie par cohérence optique.
(TAC : constriction transverse aortique).

De plus, l'augmentation de la PP étant de façon inhérente causée par le vieillissement, il aurait été très intéressant de travailler avec des souris très âgées, pour voir la progression de l'effet de la PP avec l'âge. Cependant, cela ne semble pas envisageable dans ce modèle par chirurgie TAC car la réalisation de la chirurgie sur des animaux âgés représente une limite technique (augmentation de la mortalité et difficulté de réalisation par la présence de tissus adipeux au niveau cardiaque). De plus, de façon générale, il semblerait difficile de corréler spécifiquement le rôle de la PP avec

d'éventuelles modifications observées, étant donné que le vieillissement est caractérisé par une multitude de dysfonctions. La méthodologie optimale pour étudier la progression de l'effet de la PP avec l'âge serait sans doute de provoquer une augmentation modeste et chronique de la PP (par un autre modèle que la chirurgie TAC), mimant le plus fidèlement possible la chronologie du vieillissement vasculaire expérimenté par l'Homme.

En résumé, et en accord avec la littérature, nous avons démontré dans nos études #1 et #2 réalisées chez la souris, que la vasculature est une cible pathologique des forces hémodynamiques et qu'au niveau cérébral, cela s'accompagne de dommages cellulaires du tissu cérébral, l'ensemble des altérations neurovasculaires étant associées à une diminution des fonctions cognitives ou accélérant une pathologie déjà établie, comme celle de la MA ou de la VCI. Étant donné que la MA partage de nombreuses caractéristiques vasculaires communes à la démence vasculaire, que ce soit les facteurs de risque communs ou les dysfonctions cérébrales vasculaires en tant que telles, et que ces pathologies sont maintenant regroupées sous le terme de VCID, nous pouvons nous demander s'il existe également une composante vasculaire pathologique dans d'autres maladies neurologiques ?

3.8 Est-ce que l'on retrouve des dysfonctions vasculaires cérébrales dans d'autres types de maladies neurologiques ?

Sans faire une analyse très complète et poussée de la littérature, la présence de lésions et d'anomalies vasculaires a effectivement été rapportée (présenté dans le tableau 4) chez l'Homme dans la plupart des maladies du SNC comme les maladies neurologiques et même psychiatriques.

Tout d'abord, une démence proche de celle de la pathologie de la MA (car toutes deux partagent la présence de DNF intraneuronale) et dont le diagnostic entre les deux est difficile à établir (Neary et al 1998) est la **démence frontotemporale** (ou maladie de Pick) (Schraen-Maschke et al 2008) dans laquelle la présence de microhémorragies (De Reuck et al 2012), une rupture de la BHE (Sjogren et al 2004) et une hypoperfusion cérébrale (Du et al 2006) a été rapportée.

Le **parkinsonisme vasculaire** est un syndrome présentant des caractéristiques cliniques très similaires au Parkinsonisme, mais 3 à 12% des patients Parkinsoniens présentent des lésions vasculaires cérébrales et des infarctus cérébraux (Benamer & Grosset 2009). Des dysfonctions vasculaires dans des maladies neurologiques et psychiatriques incluent majoritairement une dysfonction de la BHE, comme cela a été démontré chez des patients **épileptiques** (Marchi et al 2007) et dans le **trouble bipolaire** (Patel & Frey 2015) ou *in vivo* dans des modèles animaux (comme le modèle animal 3-nitropropionic acid (3-NPA) de la **maladie d'Huntington** (Duran-Vilaregut et al 2009)). Il est à noter que chez les personnes âgées, il est très souvent retrouvé comme étiologie, un antécédent d'origine vasculaire, à savoir un AVC, dans la manifestation de l'épilepsie (Myint et al 2006). Chez les patients atteints de la maladie d'Huntington, l'intégrité de la BHE semble être préservée (Huang et al 2011). Néanmoins, des diminutions du DSC ont été rapportées, ainsi qu'un rétrécissement de la paroi des vaisseaux et des zones de vascularisation accrue (Chen et al 2013). Dans le cas de la **sclérose en plaque**, certains cas ont été rapportés dans lesquels la dégradation de la BHE dans la moelle épinière est un événement précoce qui précède les premiers signes cliniques (Kermode et al 1990). De plus, dans un modèle animal de la sclérose en plaque (encéphalomyélite auto-immune expérimentale), il a également été démontré que la perméabilité de la BHE augmente et que l'étendue de cette augmentation de perméabilité est corrélée à la sévérité de l'évolution clinique (Claudio et al 1989). Une caractéristique commune de ces maladies est également l'inflammation (Bjorklund et al 2018, Chen et al 2013, Marchi et al 2012, Patel & Frey 2015, Tufekci et al 2012). Les médiateurs inflammatoires comme le TNF- α et IL-1 β sont capables d'augmenter la perméabilité de la BHE, comme cela a été démontré chez la souris (Tsao et al 2001) et dans un modèle cellulaire *in vitro* (Argaw et al 2006). Comme cela a déjà été évoqué, une ouverture excessive de la BBB peut alors avoir des conséquences néfastes, comme l'extrasation de composants sanguins qui peuvent interférer avec la fonction neuronale et provoquer des crises d'épilepsie (Obermeier et al 2013, Zlokovic 2011), la mise en place d'une réponse inflammatoire dans le cerveau (si elle n'est pas la cause de la rupture de la BHE) (Patel & Frey 2015) ou encore l'altération de la perfusion

microvasculaire cérébrale (Taccone et al 2010, Zlokovic 2011). De plus, le **stress mental** a été associé à une dysfonction endothéliale chez l'homme (Ghiadoni et al 2000). Le stress social a également été démontré exacerber l'incidence d'AVC chez la souris (stress social provoqué par contact avec une souris mâle agressive), chez laquelle les concentrations élevées de corticostérone (hormone de stress majeure chez la souris), étaient significativement corrélées à des infarctus plus importants (DeVries et al 2001).

Que les changements cérébraux, spécifiques à chaque maladie neurologique et psychologique, suivent ou précèdent un dysfonctionnement vasculaire ou un processus inflammatoire, l'ensemble de ces données appuient la démonstration selon laquelle les processus inflammatoires et les altérations vasculaires cérébrales sont associés à la progression de la maladie neurologique (pour revue, avec l'exemple de l'épilepsie, voir (Marchi et al 2012)). L'implication des altérations vasculaires dans l'incidence de ces pathologies est pourtant peu étudiée.

Tableau 4 : Exemples de dysfonctions vasculaires présentes chez l'homme dans certaines maladies du SNC

Démence frontotemporale	Microhémorragies (De Reuck et al 2012) Rupture de la BHE (Sjogren et al 2004) Hypoperfusion cérébrale (Du et al 2006)
Maladie de Parkinson	Lésions vasculaires cérébrales (Benamer & Grosset 2009) Infarctus cérébraux (Benamer & Grosset 2009)
Epilepsie	Altération de la BHE (Marchi et al 2007) AVC (Myint et al 2006)
Trouble bipolaire	Altération de la BHE (Patel & Frey 2015)
Maladie d'Huntington	Diminutions du DSC (Chen et al 2013) Rétrécissement de la paroi des vaisseaux (Chen et al 2013) Zones de vascularisation accrue (Chen et al 2013)
Sclérose en plaque	Altération de la BHE (Kermode et al 1990)
Stress mental	Dysfonction endothéliale cérébrale (Ghiadoni et al 2000)

3.9 Existe-t-il une association entre l'augmentation de pression pulsée et d'autres troubles neurologiques et psychologiques ?

Malheureusement, l'association entre une augmentation de PP chez des patients atteints de maladies neurologiques ou psychologiques est très rarement évoquée et encore moins étudiée, que ce soit au niveau central ou périphérique, ce qui ne nous permet pas de vérifier si l'hypothèse biomécanique s'applique aussi à d'autres troubles du SNC que la VCID. Dans le cas de la sclérose en plaque, il est néanmoins suggéré qu'un des processus neurodégénératif initial possible pourrait être causé par une « encéphalopathie pulsatile » (Juurlink 2015). Pour rappel, ce terme désigne une pathologie cérébrale d'origine vasculaire liée à la force de la pulsatilité induite dans la cavité crânienne par l'arbre vasculaire artériel (Bateman 2004). Il est proposé que les pulsations induisent un stress au tissu cérébral et au drainage veineux et périvasculaire qui chroniquement, pourrait alors augmenter l'incidence de la démence (Bateman 2004). Notamment, il a été constaté dans une étude clinique que des patients atteints de sclérose en plaque (n=26) présentaient une compliance artérielle centrale inférieure à celle des témoins sains (n=25), ce qui pourrait affecter les vaisseaux du système nerveux central (Fjeldstad et al 2010). De plus, une augmentation de la PP dans le canal vertébral et dans l'espace sous-arachnoïdien a été référencée dans la sclérose en plaque (Bateman et al 2016). Dans une autre étude clinique, une augmentation de la PP brachiale a été associée aux déficits cognitifs chez les patients atteints de schizophrénie (n=27) par rapport aux sujets témoins (n=33) (Morra & Strauss 2016).

De façon controversée dans le cas de la maladie de Parkinson, une étude a démontré que la PP était significativement plus basse dans le groupe Parkinsonien (n=70) que dans le groupe témoin (n=77) (Park et al 2017a), mais selon pourrait être relié à l'hypotension dont la prévalence est commune chez les patients Parkinsoniens (Isaacson & Skettini 2014). Étant donné que de nombreux patients atteints de la maladie de Parkinson ont des modes de vie sédentaires dus à des déficiences motrices, il a été proposé que le manque d'activité physique régulière soit un facteur de risque dans le développement d'une maladie vasculaire comme l'athérosclérose (Park et al 2017a). Le manque d'activité

physique peut d'ailleurs être transposable aux différentes maladies neurologiques et entraîner des altérations vasculaires, accélérant la progression de la pathologie. De plus, il a été rapporté que le traitement à la *Levodopa* (qui est convertie en dopamine par la décarboxylase aromatique L-amino acide (DOPA décarboxylase) et améliore les symptômes Parkinsoniens) favoriserait l'incidence de l'hyperhomocystéinémie secondaire (Lamberti et al 2005) qui est un facteur de risque des MCV, de troubles cognitifs et de démence (Riggs et al 1996).

3.10 Est-ce que l'impact de la dysfonction cérébrovasculaire peut avoir des répercussions périphériques ?

Il a été décrit que la dysfonction cérébrale vasculaire peut contribuer à des troubles métaboliques et systémiques, notamment via une altération de la BHE qui de par sa localisation, est une interface pouvant conférer une vulnérabilité à la fois aux compartiments cérébraux et périphériques (pour revue, voir (Faraci 2018)). En effet, des altérations vasculaires dans les sous-régions hypothalamiques peuvent affecter la régulation nutritionnelle et la leptine et ainsi le contrôle du poids corporel, et augmenter l'incidence de l'obésité (Faraci 2018). Un dysfonctionnement du plexus choroïde ou encore des organes circumventriculaires pourrait altérer le trafic de cellules immunitaires systémiques (Faraci 2018). De plus, une diminution du DSC dans les régions des organes circumventriculaires ou du tronc cérébral pourrait contribuer à une altération de la réponse neurohumorale et métabolique au cours de maladies telles que l'insuffisance cardiaque (Faraci 2018). L'impact de la dysfonction cérébrovasculaire peut donc s'étendre au-delà du cerveau et avoir des répercussions au niveau périphérique.

3.11 La pression pulsée peut-elle être utilisée comme une cible thérapeutique et/ou préventive du déclin cognitif ?

3.11.1 Ciblage de la PP et amélioration des fonctions cognitives par des agents pharmacologiques :

La rigidité artérielle (principalement aortique) qui se produit au cours du vieillissement augmente les valeurs de PP centrale en réduisant la compliance artérielle

et en augmentant la VOP, qui entraîne un retour plus rapide de l'onde réfléchie avec augmentation de la PAS, de la PAM et de la PP (Safar & Jankowski 2010). Ainsi, une des approches thérapeutique est de réduire la PAS afin de diminuer la PP (Safar & Jankowski 2010), ou de façon plus optimale, d'augmenter spécifiquement la compliance artérielle centrale afin de réduire la PP (Safar & Jankowski 2010). Un certain nombre d'études, qui sont présentées en exemple ci-dessous (voir les revues de (Dart & Kingwell 2001, Gupta & Bodakhe 2013, Safar et al 2011, Safar & Jankowski 2010)), ont été menées chez l'Homme et chez l'animal, afin d'investiguer l'usage de différents agents pharmacologiques et en particulier les antihypertenseurs sur la fonction hémodynamique, notamment sur la réflexion des vagues de l'onde de pouls et / ou sur les propriétés de la paroi artérielle. D'autre part, quelques études ont été menées afin d'évaluer l'effet de ces agents pharmacologiques dans la prévention du déclin cognitif et des démences, sans pour autant étudier leur impact sur la PP ou le remodelage artériel. L'objectif d'une éventuelle stratégie thérapeutique serait d'agir de façon préventive sur l'effet destructeur de la propagation de la PP induit par la rigidité artérielle, afin de ralentir l'incidence du déclin cognitif avec l'âge. De plus, la contribution des facteurs de risques CV, dans l'accélération des dommages vasculaires et du déclin cognitif au cours du temps, étant majeure, une prise en charge de leur progression apparaît également comme une stratégie thérapeutique préventive à mettre en œuvre.

Tout d'abord, l'administration **d'inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine** (ACEi) semble être efficace chez l'Homme dans l'amélioration de la fonction hémodynamique de la PAS et de la structure de la paroi artérielle (Safar & Jankowski 2010). Les ACEi sont utilisés en premier choix dans les essais cliniques pour augmenter la compliance artérielle (Safar 1990). L'administration orale du quinapril en comparaison avec un placebo chez des patients souffrant d'hypertension essentielle (n=20), a entraîné une augmentation de la distensibilité de l'artère carotidienne et de la compliance aortique (déterminée par une diminution de la VOP) (Topouchian et al 1998). Il a également été démontré que l'administration de captopril par voie intraveineuse a augmenté la compliance vasculaire de sujets hypertendus (n=12) et diminué la VOP

comparativement à des sujets normotendus (n=14) (Ting et al 1993). Des patients hypertendus (n=27) ont été randomisés pour recevoir du lisinopril (20 mg) ou du losartan (50 mg) (antagoniste des récepteurs de l'angiotensine, ARA) pendant 5 semaines, puis sont passés au traitement alternatif pendant une seconde période de 5 semaines; le lisinopril s'est avéré plus efficace que le losartan dans la réduction de la PP (Stergiou et al 2002). L'administration du ramipril (5 mg) a réduit la PP aortique chez des sujets hypertendus pendant 42 jours (Benetos et al 1991); néanmoins, aucune relation entre la diminution de la PP et une variation de la PAD ou PAM n'a été mesurée, suggérant un effet indépendant de la PA et suggestif d'un remodelage artériel. Un traitement oral de 3 mois au perindopril (de 2 mg, 4 mg ou 8 mg/jour) a augmenté la compliance de l'artère brachiale par rapport au placebo chez des sujets hypertendus (n=16), avec diminution de la VOP mais sans modification de la tension tangentielle de la paroi artérielle (mesurée par pression artérielle moyenne x diamètre artériel), suggérant à nouveau un effet direct sur les propriétés de la paroi artérielle (Asmar et al 1988). Les effets des ACEi sur le remodelage vasculaire sembleraient être associés à un effet anti-inflammatoire et anti-fibrotique, induisant la réversibilité du remodelage des artères (Kakou et al 2009). De plus, les ACEi peuvent agir sur la formation des complexes intégrine-fibronectine qui contribuent de manière spécifique à l'augmentation de l'épaisseur et de la rigidité artérielle (Ingber 2006), notamment en présence d'un stress mécanique élevé ou d'une stimulation du RAAS (Kakou et al 2009). Leur dissociation par les ACEi réduit ainsi la rigidité artérielle et la PP centrale (Koffi et al 1998). En présence d'Ang II, la fibronectine se lie à son récepteur intégrine, ce qui augmente l'épaisseur de la média et contribue à la rigidité artérielle. Le blocage de l'Ang II par le trandolapril est associé à une accumulation marquée de fibronectine qui n'est pas capable de se lier à son récepteur, entraînant alors une diminution de la rigidité de la paroi vasculaire (Kakou et al 2009). Bien que l'administration des ACEi démontre une efficacité supérieure dans l'abaissement de la PP comparativement aux autres agents antihypertenseurs, leur bénéfice dans la diminution de l'incidence du déclin cognitif ne semble pas être autant prometteur. L'étude HOPE, menée chez des patients présentant un risque cardiovasculaire et traités avec le ramipril,

n'a pas évalué l'incidence de la démence mais a néanmoins révélée une réduction significative de 41% de déficience fonctionnelle liée à un AVC (Bosch et al 2002). De plus, une étude dans une cohorte japonaise a démontré que le captopril et le périndopril, tous deux capables de passer au travers de la BHE, diminuaient le risque d'incidence de la MA (Ohruï et al 2004). Cependant, il a été démontré *in vitro* que l'ACE catabolise les peptides amyloïdes et convertit notamment l'A β ₄₂ en la forme A β ₄₀ moins toxique (Hemming & Selkoe 2005), et l'administration du captopril pendant 7 mois dans le modèle de souris transgéniques Tg2576 âgées de 6 mois révèle une augmentation significative des taux d'A β ₄₂ dans le cortex cérébral (Zou et al 2007). Par conséquent, les ACEi pourraient augmenter le fardeau pathologique et le déclin cognitif à long terme (Fournier et al 2009). D'après ces résultats controversés (Hemming et al 2007), l'utilisation des ACEi chez les personnes à risque pour la MA ne serait ainsi pas conseillée (Fournier et al 2009).

Les antagonistes des récepteurs de l'angiotensine (ARA) (ou sartans) bloquent l'effet de l'Ang II au niveau du récepteur AT1R. Chez des patients hypertendus, l'olmésartan (20 mg ou 40 mg/jour) a entraîné une réduction significative, de la PAS et de la PP, après un traitement de 6 à 12 semaines, et ces réductions ont été plus prononcées chez les patients présentant une PP très élevée au départ (Giles & Robinson 2004). Dans une étude croisée randomisée à simple insu de 4 semaines, l'effet du losartan (50 mg/jour) a été comparé avec l'hydrochlorothiazide (diurétique) (12,5 mg/jour) chez des patients hypertendus (n=11) (Mahmud & Feely 2002). Les deux traitements ont entraîné une diminution de la PA brachiale, mais seul le losartan a induit une diminution de la réflexion de l'onde artérielle avec une réduction préférentielle dans l'aorte par rapport à la PP brachiale et a également réduit la VOP, suggérant une diminution de la rigidité aortique (Mahmud & Feely 2002). Dans l'étude MOSES, l'administration de l'eprosartan a démontré chez l'Homme des réductions significatives de 50% du risque de démence, de 25% de la récurrence d'AVC (Schrader et al 2005). L'essai PProFESS n'a pas été convainquant dans la démonstration de l'effet neuroprotecteur du temilsartan pour la prévention des AVC ou de la démence (Diener et al 2008). Néanmoins, dans l'étude ONTARGET, le telmisartan combiné au ramipril a rapporté une réduction significative de

9% du risque de démence et d'AVC (Yusuf et al 2008). Les ARA ont démontré leur impact préventif sur le processus neuropathologique dégénératif du peptide β -amyloïde en surexprimant l'enzyme de dégradation de l'insuline qui régule les niveaux du peptide β -amyloïde par leur dégradation (Farris et al 2003). De plus, ils augmentent la formation d'Ang II et IV et stimulent donc les récepteurs AT2 et AT4, dont l'activation participe aux processus cognitifs (revues soulignant ce rôle de l'angiotensine IV dans les processus neuronaux et cognitifs (Stragier et al 2008, Wright & Harding 2008, Wright et al 2008)).

Les antagonistes des récepteurs alpha-adrénergiques agissent sur le SNA et relaxent les vaisseaux ce qui abaisse la PA mais n'ont cependant pas montré d'effet direct sur la diminution de la PP (pas de changement de compliance ni des valeurs de VOP) (pour revue, voir (Gupta & Bodakhe 2013)). Néanmoins, une étude avait démontré une diminution de la VOP chez des sujets hypertendus, comparativement à des sujets normotendus, par la combinaison de bloqueurs des récepteurs α -adrénergiques par le phentolamine avec un **antagoniste des récepteurs beta-adrénergiques (β -bloquants)**, le propranolol (Ting et al 1991). Dans une étude réalisée chez les rats SHR, l'effet du β -bloquant carvedilol administré seul (n=20, 30 mg/kg/jour) ou en combinaison avec le captopril (ACEi) (n=20, 60 mg/kg/jour) par gavage gastrique pendant 6 à 12 semaines, il a été démontré que les deux conditions entraînaient une réduction de la PAS, PAD et PP mais qui étaient plus marquée avec la combinaison des 2 agents (Jovanovic et al 2009). De plus, l'administration orale du nébivolol (5 mg/kg) combiné à l'administration sublinguale de nitrate (nitroglycérine, 0,5 mg/kg) ont entraîné une baisse significative de la PP et une augmentation de la compliance aortique (Prisada et al 2007). Cependant, au niveau de l'évaluation des fonctions cognitives, les **β -bloquants**, ont plutôt été référencés comme aggravant le déclin de la cognition ou étant neutres, selon qu'ils traversent ou non la BHE (pour revue, voir (Fournier et al 2009)). Notamment, il a été démontré dans notre laboratoire que le traitement au β -bloquant *métoprolol* aggravait la fonction endothéliale des artères cérébrales (Bolduc et al 2011), ce qui pourrait participer à l'altération de l'homéostasie cognitive.

Une baisse plus prononcée de la cfVOP centrale, de la VOP périphérique ainsi qu'une réduction de la PA (Asmar et al 1993) (brachiale-radiale) a été enregistrée avec la fêlodipine (Asmar et al 1993), qui est un **inhibiteur ou bloqueur des canaux calciques**. Une étude a comparé le traitement de 12 semaines de la fêlodipine avec le diurétique hydrochlorothiazide chez des patients souffrant d'hypertension légère à modérée. Chez des patients hypertendus, le traitement pendant 8 mois par la nicardipine (n=20) en comparaison avec l'aténolol (β -bloquant) (n=20) a contribué à une diminution de la PA dans les deux groupes ; néanmoins, l'augmentation de la compliance périphérique n'a été acquise que dans le groupe nicardipine (diminution de la VOP mesurée au site brachial-radial) (De Cesaris et al 1992). De façon intéressante, l'administration des bloqueurs des canaux calciques dans l'étude Syst-Eur a significativement réduit de 50% le risque de démence (dont deux tiers du type Alzheimer), de 42% du risque d'AVC en diminuant la PAS de 10 mm Hg avec un traitement à la nitrendipine (Forette et al 2002, Forette et al 1998).

Chez des sujets hypertendus plus âgés qui utilisaient des **diurétiques** seuls ou en association avec des β -bloquants démontrent une valeur de PP plus basse que ceux utilisant d'autres agents ou des β -bloquants seuls (pour revue (Gupta & Bodakhe 2013)). De plus, l'association du diurétique thiazidique indapamide avec le perindopril (ACEi) a été évaluée chez des sujets diabétiques dans l'essai ADVANCE (n = 11 340) sur 4,3 années de suivi, démontrant une réduction de la PA par réduction de la PAS et PP (Kengne et al 2009). Les diurétiques ne sembleraient pas prévenir la démence, sauf en combinaison avec un ACEI et que les patients aient des antécédents d'AVC, car un effet protecteur éventuel passerait par la prévention des récives d'accidents cérébrovasculaires (Fournier et al 2009).

A date, l'essai clinique randomisé multicentrique SPRINT-MIND semblerait être le plus prometteur. Deux stratégies de gestion de la PAS (toutes principales classes d'agents antihypertenseurs incluses) chez des personnes âgées hypertendues (≥ 50 ans) et présentant un risque accru de maladies cardiovasculaires, ont été comparées et (avec en première ligne les diurétiques de type thiazidiques) (Williamson et al 2019). Il a ainsi été

démontré qu'une réduction intensive de la PA (<120 mmHg) permet de réduire significativement le risque de développer une déficience cognitive légère ou de démence probable. De plus, le contrôle de la PA a permis de réduire de 25% le risque d'événements cardiovasculaire majeur (dont les AVC) (Williamson et al 2019). Cependant, aucune donnée sur l'abaissement concomittant de l'amplitude de la PP ou l'abaissement de la rigidité artérielle n'a été mesuré dans l'étude.

Les **statines**, qui constituent le traitement pharmacologique de première intention pour le traitement de la dyslipidémie chez les patients coronariens (Schultz et al 2018) ont été associée à une diminution de la PA brachiale et centrale (dont PAS et PP centrales) dans la cohorte CARTaGENE (Lamarche et al 2018). Il est notamment avancé que les statines agiraient de façon pléiotrope via à la fois un effet direct de l'abaissement des taux LDL (par action inhibitrice compétitive de l'hydroxy-méthyl-glutaryl-coenzyme A réductase (HMG-CoA réductase)) mais aussi indirect ; notamment, la réduction du stress oxydant pourrait entraîner une amélioration de la fonction vasculaire par les statines. De plus, les statines sembleraient interagir avec le RAAS de différentes manières, ce qui pourrait expliquer l'abaissement de la PA notamment par la diminution de l'expression de récepteurs de l'AngII, par l'inhibition de la signalisation intracellulaire dépendante de l'Ang II, la réduction du stress oxydatif et de l'inflammation, ainsi que l'inhibition de la synthèse de l'AngII et de l'aldostérone (Drapala et al 2014). Chez l'Homme, il a été recensé que les statines améliorent la rigidité artérielle (Upala et al 2017). Ce bénéfice artériel pourrait notamment s'expliquer par la restauration de l'endothélium (pour revue (Ii & Losordo 2007)), prévenant ainsi de l'accélération de la rigidification des artères lors de l'athérosclérose.

D'autres classes de médicaments ont été étudiées dans l'amélioration de la rigidité artérielle et la réduction de la composante pulsatile de la PA sans influencer la PAM (Safar et al 2011, Safar & Jankowski 2010). Par exemple, l'administration de l'alagebrium (appartenant à la classe des agents pharmacologiques rompant les liaisons croisées AGE établies entre les protéines) a augmenté l'élasticité artérielle et la PP sans

changement de PAM chez le chien et chez l'Homme (pour revue, voir (Bakris et al 2004)). Malheureusement, les agents rompant les liaisons AGE peuvent induire une dilatation de l'aorte, limitant ainsi leur utilisation en pratique clinique (Shapiro et al 2008). Aussi, l'utilisation des **inhibiteurs de la phosphodiesterase-5** tels que le sildénafil, qui est approuvé par la FDA pour le traitement de la dysfonction érectile chez l'Homme ainsi que de l'hypertension artérielle pulmonaire, a démontré réduire de façon importante la réflexion de l'onde de pouls, la PP et la cfVOP, chez des patients coronariens et hypertendus (n=24, 50 mg/kg oralement) (Vlachopoulos et al 2003). Cependant, aucun essai clinique n'a encore testé chez l'Homme l'impact des inhibiteurs de la phosphodiesterase de type 5 sur l'incidence de la démence. Néanmoins, chez des patients atteints de démence de type Alzheimer, l'administration de sildénafil est associée à une augmentation du DSC ainsi qu'à un accroissement de l'activité métabolique, notamment via une augmentation de l'oxygénation cérébrale (n=14, 50 mg/kg) (Sheng et al 2017). Dans les modèles animaux, plusieurs groupes ont mesurés des améliorations bénéfiques de la pathologie de la MA : le sildénafil (15 mg/kg/jour en intrapéritonéal pendant 5 jours et jusqu'à 5 semaines) restaure les fonctions cognitives sans affecter la charge en β -amyloïde dans le modèle de souris transgénique Tg2576 comparativement aux souris placebo (Cuadrado-Tejedor et al 2011). De même, le tadalafil (15 mg/kg/jour par gavage pendant 4 semaines) qui a une demi-vie plus longue, renverse également le dysfonctionnement cognitif chez les souris transgéniques Alzheimer J20 (Garcia-Barroso et al 2013). Il a d'ailleurs été démontré que ces inhibiteurs traversaient la BHE chez le rat et le singe (Garcia-Barroso et al 2013, Gomez-Vallejo et al 2016). De plus, dans un modèle de démence vasculaire par infarctus multiples chez le rat âgé (16-18 mois), le traitement au sildénafil (2 mg/kg, intrapéritonéal) améliore les performances cognitives et exerce un effet anti-inflammatoire cérébral (Venkat et al 2018).

En résumé, il n'existe à ce jour aucun agents pharmacologiques ayant à la fois démontré un réel bénéfice dans la diminution de l'amplitude de la PP et dans la prévention du déclin cognitif. De manière générale, quelques limitations dans les études doivent être

considérées : de nombreuses études ont seulement examiné les artères musculaires ou périphériques, telles que l'artère brachiale, ce qui n'est pas représentatif des vaisseaux centraux où les conséquences physiopathologiques du changement de la PP sont observées. De plus, l'augmentation de la pression systolique centrale et de la rigidité artérielle étant influencée par la fréquence cardiaque (Liang et al 1999), la mesure de ce paramètre devrait être incluse. Dans certaines études, bien que la VOP ait été utilisée comme mesure de la rigidité artérielle, une diminution de sa valeur n'est pas forcément représentative d'un remodelage artériel réel ; les antihypertenseurs (comme les inhibiteurs calciques et les α -bloquants) diminuent les résistances périphériques par vasodilatation et donc diminuent la post-charge et donc l'amplitude de la PP de façon indépendante d'un remodelage, améliorant la compliance artérielle. Pour finir, le choix d'un antihypertenseur n'abaissant pas la PAM (pour ne pas abaisser la PAD et entraîner des complications cardiaques et coronarienne) est optimal (Safar et al 2011). Malgré un nombre d'études considérables au niveau central et périphérique, la démonstration d'une réduction de la PP n'est pas disponible au niveau cérébral. Néanmoins, certaines études ont étudié la contribution éventuelle de certains agents pharmacologiques dans l'amélioration des fonctions cognitives. Notamment, les classes d'antihypertenseurs des bloqueurs de canaux calciques et des ARA ainsi que les inhibiteurs de la PDE-5 semblent avoir un effet protecteur établi dans le déclin cognitif (Figure 34). Aucune investigation n'a cependant pu rapporter que le bénéfice était associé à une diminution de la PP au niveau cérébral. Les mécanismes par lequel ce bénéfice est acquis ne sont pas clairement établis, car de multiples mécanismes indépendants de la PP pourraient être impliqués. De plus, dans certaines études, l'évaluation de l'efficacité des antihypertenseurs dans la prévention de la démence ont été réalisés sur une population de patients hétérogènes et au contraire, des analyses sur des groupes de patients avec stratification pourraient révéler des effets positifs de ces médicaments sur la cognition. Notamment, la MA est plus élevée chez les femmes de plus de 80 ans que chez les hommes, avec des taux plus rapides de déclin cognitif après le diagnostic de démence (Mielke et al 2014). Par conséquent, il serait optimal de stratifier selon le sexe. De même, l'appartenance

ethnique est un critère à prendre en compte, où des réponses au traitement antihypertenseur peuvent différer entre différents groupes ethniques (Gupta et al 2010).

3.11.2 Ciblage de la PP centrale et des fonctions cognitives par des agents non pharmacologiques :

De façon préventive, additive ou alternative à l'action des agents pharmacologiques, la diminution de la PP et l'augmentation de la compliance artérielle peuvent être obtenus par des moyens non pharmacologiques tels que **l'entraînement physique** (Cameron & Dart 1994, Kingwell et al 1995), particulièrement avec un entraînement aérobie (Tanaka et al 2000). Contrairement aux effets de l'entraînement aérobie, l'entraînement musculaire est associé à une augmentation de la rigidité artérielle et à une augmentation de la PP (Bertovic et al 1999). Chez des personnes âgées, l'activité physique, notamment la pratique de marche régulière, est bénéfique à la vascularisation systémique, améliore la rigidité artérielle et diminue la cfVOP (Park et al 2017b). Des études de neuro-imagerie chez l'Homme ont démontré les répercussions positives de la pratique d'une activité physique sur les fonctions cérébrales, par la mesure de l'augmentation du volume du cortex préfrontal et temporal et de l'hippocampe chez des personnes âgées actives, comparativement à des sujets âgés sédentaires (pour revue, voir (Camandola & Mattson 2017)).

Une diminution de la rigidité artérielle peut également être atteinte chez l'Homme par des **régimes alimentaires**, notamment une diète riche en acides gras n-3 (Nestel et al 1997) et une consommation réduite de sel (Safar et al 1988). D'après les données plus récentes, plutôt que de modifier le contenu de son alimentation, la modification de l'apport énergétique alimentaire comme une **restriction calorique** ou par **jeûne intermittent** (par exemple, 16 h par jour ou 24 h deux fois par semaine), améliore la plasticité synaptique, la neurogénèse et les performances cognitives chez les animaux (pour revue, voir (Camandola & Mattson 2017)). De nombreuses études ont démontré que lorsque le cerveau est soumis à de légers défis métaboliques, la fonction cérébrale est améliorée et la résistance au dysfonctionnement et la dégénérescence sont accrues. Par exemple, dans une culture de neurones soumis d'abord à un léger stress métabolique

puis soumis dans un deuxième temps à un niveau plus élevé de stress (par exemple, métabolique, excitotoxique ou oxydant), il a été rapporté que les neurones deviennent résistants aux expositions de stress ultérieures (pour revue, voir (Camandola & Mattson 2017)). De la même façon que le pré-conditionnement au niveau cardiaque exerce des bénéfices dans la récupération d'un infarctus myocardique, une neuroprotection du cerveau face aux AVC peut être acquise par pré-conditionnement ischémique dans lequel des rats ou des souris sont soumis à une légère ischémie cérébrale avant une ischémie complète ; ce pré-conditionnement ischémique diminue la taille des lésions cérébrales, comparativement aux animaux non soumis au pré-conditionnement (pour revue, voir (Dirnagl et al 2009)). Le régime intermittent appliqué aux études animales (alternance de jours de jeûne complet et d'alimentation *ad libitum* chez l'animal) a démontré une réduction de la sévérité neuropathologique (diminution des AVC, diminution de la pathologie Alzheimer)(pour revue, voir (Camandola & Mattson 2017)). La RC semble donc être neuroprotectrice, mais son effet sur l'UNV ou sur les fonctions vasculaires cérébrales n'a pas été démontré. De façon intéressante chez l'Homme, une restriction calorique par régime intermittent a été associée à une réduction de la PP (pour revue, (Nicoll & Henein 2018)). La fonction cognitive n'a cependant pas été évaluée.

Il a aussi été démontré chez l'Homme que la vitesse du déclin cognitif lié à l'âge peut être ralentie par des interventions **stimulant l'activité cérébrale** ; s'engager dans des défis intellectuels renforce les circuits neuronaux et l'entraînement de la mémoire augmente le volume de l'hippocampe (pour revue, voir (Camandola & Mattson 2017)). Dans les études réalisées sur les animaux, l'enrichissement de l'environnement améliore les capacités cognitives, notamment en favorisant la production de neurotrophine, la synaptogénèse et la formation de dendrites (Camandola & Mattson 2017).

Pour résumer, ces observations des bénéfices d'une activité physique, d'une restriction calorique alimentaire et de la stimulation intellectuelle offrent de nouvelles perspectives pour la prévention du déclin cognitif et de l'incidence de la démence chez les personnes âgées. La présence de ces trois paramètres a particulièrement été soulignée par les résultats d'une étude qui démontre que des changements dans l'alimentation, une

activité physique régulière et un entraînement intellectuel ralentissent la progression du déclin cognitif chez des sujets âgés (Ngandu et al 2015). De plus, l'adoption d'un mode de vie plus sain incluant l'activité physique et/ou la restriction calorique semblent présenter des avantages synergiques sur l'amélioration des fonctions cognitives lorsqu'elles sont combinées (Schneider et al 2007). Notamment, une réduction de la prévalence de l'hypertension de seulement 10% par prévention primaire avec modification du mode de vie, diminue mondialement l'incidence de la MA (Barnes & Yaffe 2011). Il est intéressant de noter que l'adoption d'un mode de vie sain a également été démontré être bénéfique dans la progression d'autres maladies du SNC, notamment avec la pratique de l'exercice physique dans la réduction des symptômes Parkinsoniens (pour revue, voir (Camandola & Mattson 2017)).

En conclusion, il est apparent que la composante vasculaire des troubles neurologiques devrait être mieux considérée, comme cela a déjà été suggéré par d'autres (DeCarli 2012, O'Donnell et al 2012). Notamment, un contrôle en temps opportun de la PP artérielle chez les patients autour de la cinquantaine peut conférer une plus grande protection cognitive que chez les patients plus âgés. Ainsi, la perspective d'approches préventives pharmacologiques ou non pharmacologiques ciblant la PP permettra de réduire l'impact délétère du vieillissement et des facteurs de risque des MCV, afin de protéger à la fois la vasculature périphérique et cérébrale et prédire une meilleure qualité de vie. Un aperçu des agents pharmacologiques et non pharmacologiques diminuant la PP périphérique et ayant un bénéfice au niveau cognitif sont ainsi présentés dans la figure 34.

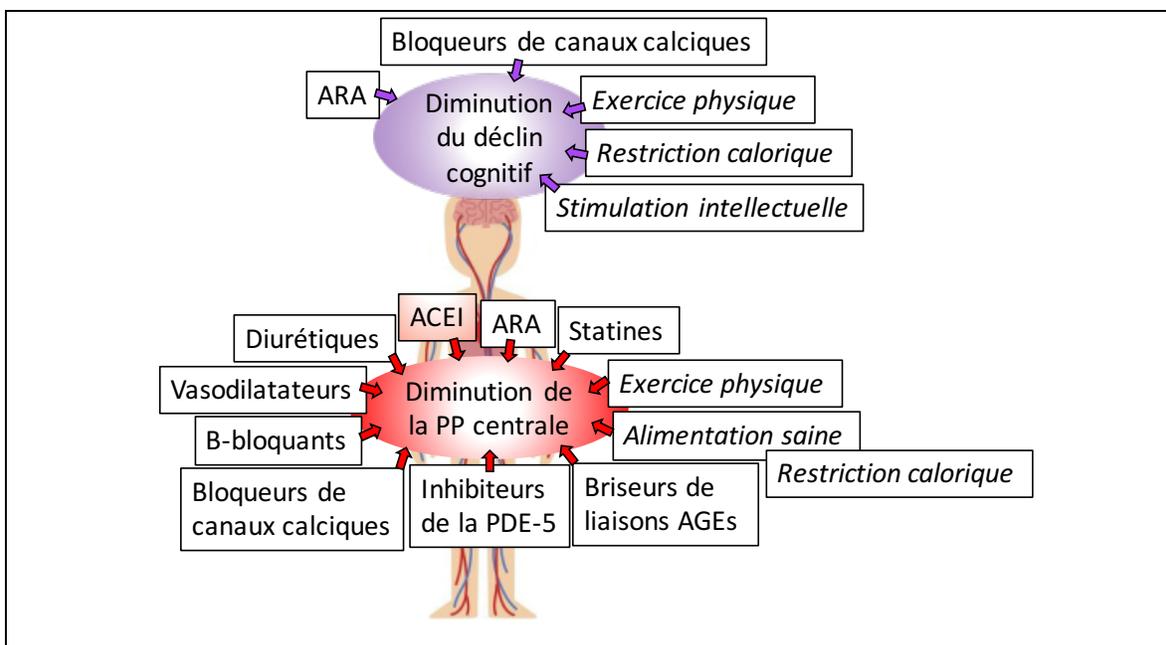


Figure 34 : Représentation schématique des approches thérapeutiques ciblant la diminution de la pression pulsée et/ou associées à un bénéfice cérébral par une diminution de l'incidence du déclin cognitif chez l'homme.

L'augmentation de l'amplitude de la PP au niveau central étant associée à l'incidence du déclin cognitif, une approche thérapeutique dans le traitement des maladies du SNC caractérisées par un déclin cognitif est de cibler la réduction de la PP. La PP étant une composante de la pression, la classe pharmacologique des antihypertenseurs a particulièrement été investiguée dans l'abaissement de la PP. Plusieurs agents antihypertenseurs ont ainsi démontré un effet sur la réduction de la PP comme les ACEi, les diurétiques, les vasodilatateurs, les β -bloquants, les bloqueurs des canaux calciques et les vasodilatateurs. D'autres classes pharmacologiques comme les statines, les agents pharmacologiques rompant les liaisons croisées AGE et les inhibiteurs de la PDE-5 ont également démontré une réduction de la PP. Parmi eux, les ACEi se sont positionnés comme les plus prometteurs dans l'abaissement de la PP. De plus, des approches non pharmacologiques, comme l'exercice physique et une prise en charge de l'alimentation semblent être bénéfiques dans la diminution de la PP. Aucun de ces traitements n'a cependant diminué la PP au niveau cérébral, bien que l'ensemble de ces approches thérapeutiques ait été investigué pour leurs effets potentiellement protecteurs du déclin cognitif. De façon restrictive, seulement deux classes d'antihypertenseurs ont pu démontrer un réel bénéfice, les ARA et les bloqueurs des canaux calciques ; les autres rapportant des résultats trop controversés ; De façon non pharmacologique, l'exercice physique, la restriction calorique et la stimulation intellectuelle semblent être bénéfique sur le ralentissement du déclin cognitif (PP : pression pulsée, ACEi : inhibiteurs de l'enzyme de conversion, ARA : antagonistes des récepteurs à l'angiotensine, PDE-5 : phosphodiesterase-5).

4 CONCLUSION GÉNÉRALE :

Le vieillissement est vecteur de l'apparition d'altérations vasculaires à la fois périphériques et cérébrales, altérations toutes deux impliquées dans le déclin progressif des fonctions cognitives et dans l'incidence de pathologies du SNC telles que la démence. L'apparition des dommages et donc des symptômes de déclin cognitif peuvent être accélérés au cours du vieillissement, en présence de facteurs de risques des MCV qui altèrent la fonction vasculaire, amplifiant ainsi le processus vasculaire pathologique.

Les études expérimentales menées chez l'animal et chez l'Homme suggèrent fortement la contribution de la dysfonction vasculaire sur l'altération de la structure et la fonction du cerveau. De plus, des lésions cérébrales chez l'homme semblent précéder les manifestations cliniques des pathologies neurologiques de plusieurs années (voire de plusieurs décennies), ce qui indique que la prévention du déclin cognitif devrait passer par la gestion de la prévention ou de la restauration de la fonction vasculaire périphérique et cérébrale. Le ciblage de la réduction de la PP apparaît ainsi comme étant une approche attractive du déclin cognitif, pouvant être préventive et même thérapeutique. La prise en charge de la PP devrait être effectuée avant que la rigidité artérielle centrale ne commence à transmettre son excès de pulsatilité dans la microvascularisation périphérique puis à celle du cerveau. L'ensemble de ces détériorations vasculaires, et notamment l'augmentation de la PP, étant accéléré par la présence des facteurs de risque des MCV, ceux-ci devraient être également pris en charge dès leur émergence afin de ralentir le déficit cognitif.

L'étude des maladies du SNC reste malgré tout généralement concentrée sur les mécanismes intraneuronaux. Pourtant, la théorie de la contribution vasculaire dans le déclin cognitif, théorie qui a été défendue dans cette thèse, est d'autant plus intéressante qu'elle peut s'étendre à plusieurs pathologies neurologiques et psychologiques. Accepter le rôle de la détérioration cérébrovasculaire dans l'apparition des maladies cognitives et neurodégénératives ouvre un domaine de recherche encore peu exploité, mais de grand intérêt et prometteur de bénéfices thérapeutiques cliniques dans un monde où la population est vieillissante, cumule les facteurs de risque et est de plus en plus sujette à

développer des démences. Le fardeau social et économique croissant que représentent les maladies de troubles cognitifs et neurodégénératifs montre à lui seul l'urgence de considérer toutes les approches thérapeutiques possibles.

5 RÉFÉRENCES

- Abbott NJ, Romero IA. 1996. Transporting therapeutics across the blood-brain barrier. *Molecular medicine today* 2: 106-13
- Adamski MG, Sternak M, Mohaissen T, Kaczor D, Wieronska JM, et al. 2018. Vascular Cognitive Impairment Linked to Brain Endothelium Inflammation in Early Stages of Heart Failure in Mice. *Journal of the American Heart Association* 7
- Aguero-Torres H, Kivipelto M, von Strauss E. 2006. Rethinking the dementia diagnoses in a population-based study: what is Alzheimer's disease and what is vascular dementia?. A study from the kungsholmen project. *Dementia and geriatric cognitive disorders* 22: 244-9
- Ahn KC, Learman CR, Dunbar GL, Maiti P, Jang WC, et al. 2018. Characterization of Impaired Cerebrovascular Structure in APP/PS1 Mouse Brains. *Neuroscience* 385: 246-54
- Aisen PS, Gauthier S, Ferris SH, Saumier D, Haine D, et al. 2011. Tramiprosate in mild-to-moderate Alzheimer's disease - a randomized, double-blind, placebo-controlled, multi-centre study (the Alphase Study). *Archives of medical science : AMS* 7: 102-11
- Alexopoulos P, Sorg C, Forschler A, Grimmer T, Skokou M, et al. 2012. Perfusion abnormalities in mild cognitive impairment and mild dementia in Alzheimer's disease measured by pulsed arterial spin labeling MRI. *European archives of psychiatry and clinical neuroscience* 262: 69-77
- Allan LM, Ballard CG, Allen J, Murray A, Davidson AW, et al. 2007. Autonomic dysfunction in dementia. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry* 78: 671-7
- Allt G, Lawrenson JG. 2001. Pericytes: cell biology and pathology. *Cells, tissues, organs* 169: 1-11
- Alzheimer A. 1907. Über eine eigenartige Erkrankung der Hirnrinde Allgemeine Zeitschrift für Psychiatrie und Psychisch-gerichtliche Medizin. . 64:146-8.
- Amarenco P. 2001. Hypercholesterolemia, lipid-lowering agents, and the risk for brain infarction. *Neurology* 57: S35-44
- Anderson CM, Nedergaard M. 2003. Astrocyte-mediated control of cerebral microcirculation. *Trends in neurosciences* 26: 340-4; author reply 44-5
- Argaw AT, Zhang Y, Snyder BJ, Zhao ML, Kopp N, et al. 2006. IL-1beta regulates blood-brain barrier permeability via reactivation of the hypoxia-angiogenesis program. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)* 177: 5574-84
- Armulik A, Abramsson A, Betsholtz C. 2005. Endothelial/pericyte interactions. *Circ Res* 97: 512-23
- Asmar RG, Benetos A, Chaouche-Teyara K, Raveau-Landon CM, Safar ME. 1993. Comparison of effects of felodipine versus hydrochlorothiazide on arterial diameter and pulse-wave velocity in essential hypertension. *The American journal of cardiology* 72: 794-8

- Asmar RG, Pannier B, Santoni JP, Laurent S, London GM, et al. 1988. Reversion of cardiac hypertrophy and reduced arterial compliance after converting enzyme inhibition in essential hypertension. *Circulation* 78: 941-50
- Association AP. 1994. *Diagnostic and statistical manual of mental disorders*. 138–42. pp.
- Attems J, Jellinger KA. 2014. The overlap between vascular disease and Alzheimer's disease--lessons from pathology. *BMC medicine* 12: 206
- Attwell D, Buchan AM, Charpak S, Lauritzen M, Macvicar BA, Newman EA. 2010. Glial and neuronal control of brain blood flow. *Nature* 468: 232-43
- Austin SA, Santhanam AV, Hinton DJ, Choi DS, Katusic ZS. 2013. Endothelial nitric oxide deficiency promotes Alzheimer's disease pathology. *J Neurochem* 127: 691-700
- Avolio A, Kim MO, Adji A, Gangoda S, Avadhanam B, et al. 2018. Cerebral Haemodynamics: Effects of Systemic Arterial Pulsatile Function and Hypertension. *Current hypertension reports* 20: 20
- Avolio AP, Deng FQ, Li WQ, Luo YF, Huang ZD, et al. 1985. Effects of aging on arterial distensibility in populations with high and low prevalence of hypertension: comparison between urban and rural communities in China. *Circulation* 71: 202-10
- Ayata C, Shin HK, Dilekoz E, Atochin DN, Kashiwagi S, et al. 2013. Hyperlipidemia disrupts cerebrovascular reflexes and worsens ischemic perfusion defect. *J Cereb Blood Flow Metab* 33: 954-62
- Bachstetter AD, Xing B, de Almeida L, Dimayuga ER, Watterson DM, Van Eldik LJ. 2011. Microglial p38alpha MAPK is a key regulator of proinflammatory cytokine up-regulation induced by toll-like receptor (TLR) ligands or beta-amyloid (Abeta). *J Neuroinflammation* 8: 79
- Backman L, Lindenberger U, Li SC, Nyberg L. 2010. Linking cognitive aging to alterations in dopamine neurotransmitter functioning: recent data and future avenues. *Neuroscience and biobehavioral reviews* 34: 670-7
- Bakris GL, Bank AJ, Kass DA, Neutel JM, Preston RA, Oparil S. 2004. Advanced glycation end-product cross-link breakers. A novel approach to cardiovascular pathologies related to the aging process. *Am J Hypertens* 17: 23s-30s
- Balestrini S, Perozzi C, Altamura C, Vernieri F, Luzzi S, et al. 2013. Severe carotid stenosis and impaired cerebral hemodynamics can influence cognitive deterioration. *Neurology* 80: 2145-50
- Ballermann BJ, Dardik A, Eng E, Liu A. 1998. Shear stress and the endothelium. *Kidney international. Supplement* 67: S100-8
- Baratchi S, Evans J, Tate WP, Abraham WC, Connor B. 2012. Secreted amyloid precursor proteins promote proliferation and glial differentiation of adult hippocampal neural progenitor cells. *Hippocampus* 22: 1517-27
- Baric D. 2014. Why pulsatility still matters: a review of current knowledge. *Croatian medical journal* 55: 609-20
- Barnes DE, Yaffe K. 2011. The projected effect of risk factor reduction on Alzheimer's disease prevalence. *The Lancet. Neurology* 10: 819-28

- Bass NH, Hess HH, Pope A, Thalheimer C. 1971. Quantitative cytoarchitectonic distribution of neurons, glia, and DNA in rat cerebral cortex. *The Journal of comparative neurology* 143: 481-90
- Bateman GA. 2002. Pulse-wave encephalopathy: a comparative study of the hydrodynamics of leukoaraiosis and normal-pressure hydrocephalus. *Neuroradiology* 44: 740-8
- Bateman GA. 2004. Pulse wave encephalopathy: a spectrum hypothesis incorporating Alzheimer's disease, vascular dementia and normal pressure hydrocephalus. *Medical hypotheses* 62: 182-7
- Bateman GA, Lechner-Scott J, Lea RA. 2016. A comparison between the pathophysiology of multiple sclerosis and normal pressure hydrocephalus: is pulse wave encephalopathy a component of MS? *Fluids Barriers CNS* 13: 18
- Bateman RJ, Munsell LY, Morris JC, Swarm R, Yarasheski KE, Holtzman DM. 2006. Human amyloid-beta synthesis and clearance rates as measured in cerebrospinal fluid in vivo. *Nature medicine* 12: 856-61
- Baumbach GL. 1996. Effects of increased pulse pressure on cerebral arterioles. *Hypertension* 27: 159-67
- Bayliss WM. 1902. On the local reactions of the arterial wall to changes of internal pressure. *The Journal of physiology* 28: 220-31
- Beckman JS. 1991. The double-edged role of nitric oxide in brain function and superoxide-mediated injury. *Journal of developmental physiology* 15: 53-9
- Beckmann N, Schuler A, Mueggler T, Meyer EP, Wiederhold KH, et al. 2003. Age-dependent cerebrovascular abnormalities and blood flow disturbances in APP23 mice modeling Alzheimer's disease. *J Neurosci* 23: 8453-9
- Begley DJ, Brightman MW. 2003. Structural and functional aspects of the blood-brain barrier. *Progress in drug research. Fortschritte der Arzneimittelforschung. Progres des recherches pharmaceutiques* 61: 39-78
- Belanger M, Allaman I, Magistretti PJ. 2011. Brain energy metabolism: focus on astrocyte-neuron metabolic cooperation. *Cell Metab* 14: 724-38
- Belanger M, Magistretti PJ. 2009. The role of astroglia in neuroprotection. *Dialogues in clinical neuroscience* 11: 281-95
- Bell RD, Zlokovic BV. 2009. Neurovascular mechanisms and blood-brain barrier disorder in Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol* 118: 103-13
- Belmin J, Corman B, Merval R, Tedgui A. 1993. Age-related changes in endothelial permeability and distribution volume of albumin in rat aorta. *The American journal of physiology* 264: H679-85
- Benamer HT, Grosset DG. 2009. Vascular parkinsonism: a clinical review. *European neurology* 61: 11-5
- Benetos A, Okuda K, Lajemi M, Kimura M, Thomas F, et al. 2001. Telomere length as an indicator of biological aging: the gender effect and relation with pulse pressure and pulse wave velocity. *Hypertension* 37: 381-5
- Benetos A, Safar M, Rudnichi A, Smulyan H, Richard JL, et al. 1997. Pulse pressure: a predictor of long-term cardiovascular mortality in a French male population. *Hypertension* 30: 1410-5

- Benetos A, Vasmant D, Thiery P, Safar M. 1991. Effects of ramipril on arterial hemodynamics. *Journal of cardiovascular pharmacology* 18 Suppl 2: S153-6
- Bertovic DA, Waddell TK, Gatzka CD, Cameron JD, Dart AM, Kingwell BA. 1999. Muscular strength training is associated with low arterial compliance and high pulse pressure. *Hypertension* 33: 1385-91
- Bertram L, Tanzi RE. 2008. Thirty years of Alzheimer's disease genetics: the implications of systematic meta-analyses. *Nat Rev Neurosci* 9: 768-78
- Biancardi VC, Stern JE. 2016. Compromised blood-brain barrier permeability: novel mechanism by which circulating angiotensin II signals to sympathoexcitatory centres during hypertension. *The Journal of physiology* 594: 1591-600
- Bill A, Linder J. 1976. Sympathetic control of cerebral blood flow in acute arterial hypertension. *Acta physiologica Scandinavica* 96: 114-21
- Bink DI, Ritz K, Aronica E, van der Weerd L, Daemen MJ. 2013. Mouse models to study the effect of cardiovascular risk factors on brain structure and cognition. *J Cereb Blood Flow Metab* 33: 1666-84
- Birukov KG, Bardy N, Lehoux S, Merval R, Shirinsky VP, Tedgui A. 1998. Intraluminal pressure is essential for the maintenance of smooth muscle caldesmon and filamin content in aortic organ culture. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 18: 922-7
- Bjorklund G, Kern JK, Urbina MA, Saad K, El-Houfey AA, et al. 2018. Cerebral hypoperfusion in autism spectrum disorder. *Acta neurobiologiae experimentalis* 78: 21-29
- Blennow K, Mattsson N, Scholl M, Hansson O, Zetterberg H. 2015. Amyloid biomarkers in Alzheimer's disease. *Trends in pharmacological sciences* 36: 297-309
- Boccardi V, Pelini L, Ercolani S, Ruggiero C, Mecocci P. 2015. From cellular senescence to Alzheimer's disease: The role of telomere shortening. *Ageing research reviews* 22: 1-8
- Bodiga VL, Bodiga S. 2013. Renin Angiotensin System in Cognitive Function and Dementia. *Asian Journal of Neuroscience*
- Bolduc V, Baraghis E, Duquette N, Thorin-Trescases N, Lambert J, et al. 2012. Catechin prevents severe dyslipidemia-associated changes in wall biomechanics of cerebral arteries in LDLr^{-/-}:hApoB^{+/+} mice and improves cerebral blood flow. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 302: H1330-9
- Bolduc V, Drouin A, Gillis MA, Duquette N, Thorin-Trescases N, et al. 2011. Heart rate-associated mechanical stress impairs carotid but not cerebral artery compliance in dyslipidemic atherosclerotic mice. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 301: H2081-92
- Bolduc V, Thorin-Trescases N, Thorin E. 2013. Endothelium-dependent control of cerebrovascular functions through age: exercise for healthy cerebrovascular aging. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 305: H620-33
- Bonthu S, Heistad DD, Chappell DA, Lamping KG, Faraci FM. 1997. Atherosclerosis, vascular remodeling, and impairment of endothelium-dependent relaxation in genetically altered hyperlipidemic mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 17: 2333-40

- Bosch J, Yusuf S, Pogue J, Sleight P, Lonn E, et al. 2002. Use of ramipril in preventing stroke: double blind randomised trial. *BMJ (Clinical research ed.)* 324: 699-702
- Bowman GL, Kaye JA, Quinn JF. 2012. Dyslipidemia and blood-brain barrier integrity in Alzheimer's disease. *Current gerontology and geriatrics research* 2012: 184042
- Braak H, Braak E. 1991. Neuropathological staging of Alzheimer-related changes. *Acta Neuropathol* 82: 239-59
- Brecht WJ, Harris FM, Chang S, Tesseur I, Yu GQ, et al. 2004. Neuron-specific apolipoprotein e4 proteolysis is associated with increased tau phosphorylation in brains of transgenic mice. *J Neurosci* 24: 2527-34
- Breteler MM. 2000. Vascular involvement in cognitive decline and dementia. Epidemiologic evidence from the Rotterdam Study and the Rotterdam Scan Study. *Ann N Y Acad Sci* 903: 457-65
- Briet M, Boutouyrie P, Laurent S, London GM. 2012. Arterial stiffness and pulse pressure in CKD and ESRD. *Kidney Int* 82: 388-400
- Brion JP. 2006. Immunological demonstration of tau protein in neurofibrillary tangles of Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis* 9: 177-85
- Brown WR, Thore CR. 2011. Review: cerebral microvascular pathology in ageing and neurodegeneration. *Neuropathol Appl Neurobiol* 37: 56-74
- Buee L, Bussiere T, Buee-Scherrer V, Delacourte A, Hof PR. 2000. Tau protein isoforms, phosphorylation and role in neurodegenerative disorders. *Brain research. Brain research reviews* 33: 95-130
- Buee L, Delacourte A. 2006. [Tauopathy and Alzheimer disease: a full degenerating process]. *Psychologie & neuropsychiatrie du vieillissement* 4: 261-73
- Busija DW, Bari F, Domoki F, Louis T. 2007. Mechanisms involved in the cerebrovascular dilator effects of N-methyl-d-aspartate in cerebral cortex. *Brain research reviews* 56: 89-100
- Busija DW, Heistad DD, Marcus ML. 1980. Effects of sympathetic nerves on cerebral vessels during acute, moderate increases in arterial pressure in dogs and cats. *Circ Res* 46: 696-702
- Cai H, Harrison DG. 2000. Endothelial dysfunction in cardiovascular diseases: the role of oxidant stress. *Circ Res* 87: 840-4
- Calik AN, Ozcan KS, Yuksel G, Gungor B, Arugarlan E, et al. 2014. Altered diastolic function and aortic stiffness in Alzheimer's disease. *Clin Interv Aging* 9: 1115-21
- Camandola S, Mattson MP. 2017. Brain metabolism in health, aging, and neurodegeneration. *The EMBO journal* 36: 1474-92
- Cameron JD, Dart AM. 1994. Exercise training increases total systemic arterial compliance in humans. *The American journal of physiology* 266: H693-701
- Cao XL, Du J, Zhang Y, Yan JT, Hu XM. 2015. Hyperlipidemia exacerbates cerebral injury through oxidative stress, inflammation and neuronal apoptosis in MCAO/reperfusion rats. *Experimental brain research* 233: 2753-65
- Cardillo C, Kilcoyne CM, Cannon RO, 3rd, Panza JA. 2000. Interactions between nitric oxide and endothelin in the regulation of vascular tone of human resistance vessels in vivo. *Hypertension* 35: 1237-41

- Carnevale D, Mascio G, Ajmone-Cat MA, D'Andrea I, Cifelli G, et al. 2012a. Role of neuroinflammation in hypertension-induced brain amyloid pathology. *Neurobiol Aging* 33: 205 e19-29
- Carnevale D, Mascio G, D'Andrea I, Fardella V, Bell RD, et al. 2012b. Hypertension induces brain beta-amyloid accumulation, cognitive impairment, and memory deterioration through activation of receptor for advanced glycation end products in brain vasculature. *Hypertension* 60: 188-97
- Carvajal JA, Germain AM, Huidobro-Toro JP, Weiner CP. 2000. Molecular mechanism of cGMP-mediated smooth muscle relaxation. *Journal of cellular physiology* 184: 409-20
- Cassery I, Topol EJ. 2004. Convergence of atherosclerosis and Alzheimer's disease: inflammation, cholesterol, and misfolded proteins. *The Lancet* 363: 1139-46
- Chen CC, Chen YC, Hsiao HY, Chang C, Chern Y. 2013. Neurovascular abnormalities in brain disorders: highlights with angiogenesis and magnetic resonance imaging studies. *Journal of biomedical science* 20: 47
- Chen R, Ovbiagele B, Feng W. 2016. Diabetes and Stroke: Epidemiology, Pathophysiology, Pharmaceuticals and Outcomes. *The American journal of the medical sciences* 351: 380-6
- Chetelat G, La Joie R, Villain N, Perrotin A, de La Sayette V, et al. 2013. Amyloid imaging in cognitively normal individuals, at-risk populations and preclinical Alzheimer's disease. *Neuroimage Clin* 2: 356-65
- Chinta SJ, Woods G, Rane A, Demaria M, Campisi J, Andersen JK. 2015. Cellular senescence and the aging brain. *Exp Gerontol* 68: 3-7
- Chishti MA, Yang DS, Janus C, Phinney AL, Horne P, et al. 2001. Early-onset amyloid deposition and cognitive deficits in transgenic mice expressing a double mutant form of amyloid precursor protein 695. *J Biol Chem* 276: 21562-70
- Chistiakov DA, Orekhov AN, Bobryshev YV. 2017. Effects of shear stress on endothelial cells: go with the flow. *Acta physiologica (Oxford, England)* 219: 382-408
- Chiu JJ, Usami S, Chien S. 2009. Vascular endothelial responses to altered shear stress: pathologic implications for atherosclerosis. *Annals of medicine* 41: 19-28
- Chow N, Bell RD, Deane R, Streb JW, Chen J, et al. 2007. Serum response factor and myocardin mediate arterial hypercontractility and cerebral blood flow dysregulation in Alzheimer's phenotype. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 104: 823-8
- Chui HC, Zarow C, Mack WJ, Ellis WG, Zheng L, et al. 2006. Cognitive impact of subcortical vascular and Alzheimer's disease pathology. *Ann Neurol* 60: 677-87
- Chung HY, Cesari M, Anton S, Marzetti E, Giovannini S, et al. 2009. Molecular inflammation: underpinnings of aging and age-related diseases. *Ageing research reviews* 8: 18-30
- Cifuentes D, Poitvein M, Bonnin P, Ngkelo A, Kubis N, et al. 2017. Inactivation of Nitric Oxide Synthesis Exacerbates the Development of Alzheimer Disease Pathology in APPS1 Mice (Amyloid Precursor Protein/Presenilin-1). *Hypertension*

- Cifuentes D, Poittevin M, Dere E, Broqueres-You D, Bonnin P, et al. 2015. Hypertension accelerates the progression of Alzheimer-like pathology in a mouse model of the disease. *Hypertension* 65: 218-24
- Cipolla MJ. 2009. *The Cerebral Circulation*. .
- Cipolla MJ, Li R, Vitullo L. 2004. Perivascular innervation of penetrating brain parenchymal arterioles. *Journal of cardiovascular pharmacology* 44: 1-8
- Cirrito JR, Deane R, Fagan AM, Spinner ML, Parsadanian M, et al. 2005. P-glycoprotein deficiency at the blood-brain barrier increases amyloid-beta deposition in an Alzheimer disease mouse model. *The Journal of clinical investigation* 115: 3285-90
- Claudio L, Kress Y, Norton WT, Brosnan CF. 1989. Increased vesicular transport and decreased mitochondrial content in blood-brain barrier endothelial cells during experimental autoimmune encephalomyelitis. *The American journal of pathology* 135: 1157-68
- Cliff WJ. 1970. The aortic tunica media in aging rats. *Experimental and molecular pathology* 13: 172-89
- Cognat E, Cleophax S, Domenga-Denier V, Joutel A. 2014. Early white matter changes in CADASIL: evidence of segmental intramyelinic oedema in a pre-clinical mouse model. *Acta neuropathologica communications* 2: 49
- Cohen Z, Molinatti G, Hamel E. 1997. Astroglial and vascular interactions of noradrenaline terminals in the rat cerebral cortex. *J Cereb Blood Flow Metab* 17: 894-904
- Cole WC, Welsh DG. 2011. Role of myosin light chain kinase and myosin light chain phosphatase in the resistance arterial myogenic response to intravascular pressure. *Archives of biochemistry and biophysics* 510: 160-73
- Cooper LL, Woodard T, Sigurdsson S, van Buchem MA, Torjesen AA, et al. 2016. Cerebrovascular Damage Mediates Relations Between Aortic Stiffness and Memory. *Hypertension* 67: 176-82
- Coppe JP, Desprez PY, Krtolica A, Campisi J. 2010. The senescence-associated secretory phenotype: the dark side of tumor suppression. *Annual review of pathology* 5: 99-118
- Corriere M, Rooparinesingh N, Kalyani RR. 2013. Epidemiology of diabetes and diabetes complications in the elderly: an emerging public health burden. *Current diabetes reports* 13: 805-13
- Corriveau RA, Bosetti F, Emr M, Gladman JT, Koenig JI, et al. 2016. The Science of Vascular Contributions to Cognitive Impairment and Dementia (VCID): A Framework for Advancing Research Priorities in the Cerebrovascular Biology of Cognitive Decline. *Cell Mol Neurobiol* 36: 281-8
- Coste B, Xiao B, Santos JS, Syeda R, Grandl J, et al. 2012. Piezo proteins are pore-forming subunits of mechanically activated channels. *Nature* 483: 176-81
- Cottart CH, Laguillier C, Nivet-Antoine V, Klimczak C, Sebban C, Beaudeux JL. 2009. [Biology of arterial ageing and arteriosclerosis]. *Comptes rendus biologiques* 332: 433-47

- Cuadrado-Tejedor M, Hervias I, Ricobaraza A, Puerta E, Perez-Roldan JM, et al. 2011. Sildenafil restores cognitive function without affecting beta-amyloid burden in a mouse model of Alzheimer's disease. *Br J Pharmacol* 164: 2029-41
- Cui Y, Liang X, Gu H, Hu Y, Zhao Z, et al. 2017. Cerebral perfusion alterations in type 2 diabetes and its relation to insulin resistance and cognitive dysfunction. *Brain imaging and behavior* 11: 1248-57
- Cummins PM, Cotter EJ, Cahill PA. 2004. Hemodynamic regulation of metallopeptidases within the vasculature. *Protein and peptide letters* 11: 433-42
- d'Adda di Fagagna F. 2008. Living on a break: cellular senescence as a DNA-damage response. *Nature reviews. Cancer* 8: 512-22
- Danielyan L, Klein R, Hanson LR, Buadze M, Schwab M, et al. 2010. Protective effects of intranasal losartan in the APP/PS1 transgenic mouse model of Alzheimer disease. *Rejuvenation research* 13: 195-201
- Dart AM, Kingwell BA. 2001. Pulse pressure--a review of mechanisms and clinical relevance. *J Am Coll Cardiol* 37: 975-84
- Davignon J, Ganz P. 2004. Role of endothelial dysfunction in atherosclerosis. *Circulation* 109: 1127-32
- De Cesaris R, Ranieri G, Filitti V, Andriani A. 1992. Large artery compliance in essential hypertension. Effects of calcium antagonism and beta-blocking. *Am J Hypertens* 5: 624-8
- de la Torre J. 2018. The Vascular Hypothesis of Alzheimer's Disease: A Key to Preclinical Prediction of Dementia Using Neuroimaging. *J Alzheimers Dis* 63: 35-52
- de la Torre JC. 1997. Hemodynamic consequences of deformed microvessels in the brain in Alzheimer's disease. *Ann N Y Acad Sci* 826: 75-91
- de la Torre JC. 2000. Critically attained threshold of cerebral hypoperfusion: the CATCH hypothesis of Alzheimer's pathogenesis. *Neurobiol Aging* 21: 331-42
- de la Torre JC. 2002. Alzheimer disease as a vascular disorder: nosological evidence. *Stroke* 33: 1152-62
- de la Torre JC. 2004a. Alzheimer's disease is a vasocognopathy: a new term to describe its nature. *Neurological research* 26: 517-24
- de la Torre JC. 2004b. Is Alzheimer's disease a neurodegenerative or a vascular disorder? Data, dogma, and dialectics. *The Lancet Neurology* 3: 184-90
- de la Torre JC. 2008. Pathophysiology of neuronal energy crisis in Alzheimer's disease. *Neuro-degenerative diseases* 5: 126-32
- de la Torre JC. 2012. Cardiovascular risk factors promote brain hypoperfusion leading to cognitive decline and dementia. *Cardiovascular psychiatry and neurology* 2012: 367516
- de Leeuw FE, De Groot JC, Oudkerk M, Wittteman JC, Hofman A, et al. 2000. Aortic atherosclerosis at middle age predicts cerebral white matter lesions in the elderly. *Stroke* 31: 425-9
- de Leon MJ, Mosconi L, Blennow K, DeSanti S, Zinkowski R, et al. 2007. Imaging and CSF studies in the preclinical diagnosis of Alzheimer's disease. *Ann N Y Acad Sci* 1097: 114-45

- de Montgolfier O, Pincon A, Pouliot P, Gillis MA, Bishop J, et al. 2019. High Systolic Blood Pressure Induces Cerebral Microvascular Endothelial Dysfunction, Neurovascular Unit Damage, and Cognitive Decline in Mice. *Hypertension* 73: 217-28
- De Reuck J, Deramecourt V, Cordonnier C, Auger F, Durieux N, et al. 2012. Detection of microbleeds in post-mortem brains of patients with frontotemporal lobar degeneration: a 7.0-Tesla magnetic resonance imaging study with neuropathological correlates. *European journal of neurology* 19: 1355-60
- De Silva TM, Modrick ML, Dabertrand F, Faraci FM. 2018. Changes in Cerebral Arteries and Parenchymal Arterioles With Aging: Role of Rho Kinase 2 and Impact of Genetic Background. *Hypertension* 71: 921-27
- de Vos LC, Lefrandt JD, Dullaart RP, Zeebregts CJ, Smit AJ. 2016. Advanced glycation end products: An emerging biomarker for adverse outcome in patients with peripheral artery disease. *Atherosclerosis* 254: 291-99
- Deane R, Wu Z, Sagare A, Davis J, Du Yan S, et al. 2004. LRP/amyloid beta-peptide interaction mediates differential brain efflux of Abeta isoforms. *Neuron* 43: 333-44
- Deane R, Zlokovic BV. 2007. Role of the blood-brain barrier in the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Current Alzheimer research* 4: 191-7
- DeCarli C. 2012. Cerebrovascular disease: Assessing the brain as an end-organ of vascular disease. *Nature reviews. Cardiology* 9: 435-6
- del Zoppo GJ, Mabuchi T. 2003. Cerebral microvessel responses to focal ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab* 23: 879-94
- Deng Y, Li B, Liu Y, Iqbal K, Grundke-Iqbal I, Gong CX. 2009. Dysregulation of insulin signaling, glucose transporters, O-GlcNAcylation, and phosphorylation of tau and neurofilaments in the brain: Implication for Alzheimer's disease. *The American journal of pathology* 175: 2089-98
- DeVries AC, Joh HD, Bernard O, Hattori K, Hurn PD, et al. 2001. Social stress exacerbates stroke outcome by suppressing Bcl-2 expression. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 98: 11824-8
- Diaz A, Galli C, Tringler M, Ramirez A, Cabrera Fischer EI. 2014. Reference values of pulse wave velocity in healthy people from an urban and rural argentinean population. *International journal of hypertension* 2014: 653239
- Diener HC, Sacco RL, Yusuf S, Cotton D, Ounpuu S, et al. 2008. Effects of aspirin plus extended-release dipyridamole versus clopidogrel and telmisartan on disability and cognitive function after recurrent stroke in patients with ischaemic stroke in the Prevention Regimen for Effectively Avoiding Second Strokes (PRoFESS) trial: a double-blind, active and placebo-controlled study. *The Lancet. Neurology* 7: 875-84
- Dimmeler S, Haendeler J, Rippmann V, Nehls M, Zeiher AM. 1996. Shear stress inhibits apoptosis of human endothelial cells. *FEBS letters* 399: 71-4
- Dirnagl U, Becker K, Meisel A. 2009. Preconditioning and tolerance against cerebral ischaemia: from experimental strategies to clinical use. *The Lancet. Neurology* 8: 398-412
- Dobrin PB. 1978. Mechanical properties of arteries. *Physiological reviews* 58: 397-460

- Domnitz SB, Robbins EM, Hoang AW, Garcia-Alloza M, Hyman BT, et al. 2005. Progression of cerebral amyloid angiopathy in transgenic mouse models of Alzheimer disease. *Journal of neuropathology and experimental neurology* 64: 588-94
- Donato AJ, Morgan RG, Walker AE, Lesniewski LA. 2015. Cellular and molecular biology of aging endothelial cells. *Journal of molecular and cellular cardiology* 89: 122-35
- Dore-Duffy P. 2008. Pericytes: pluripotent cells of the blood brain barrier. *Current pharmaceutical design* 14: 1581-93
- Dorr A, Sahota B, Chinta LV, Brown ME, Lai AY, et al. 2012. Amyloid-beta-dependent compromise of microvascular structure and function in a model of Alzheimer's disease. *Brain : a journal of neurology* 135: 3039-50
- Drapala A, Sikora M, Ufnal M. 2014. Statins, the renin-angiotensin-aldosterone system and hypertension - a tale of another beneficial effect of statins. *Journal of the renin-angiotensin-aldosterone system : JRAAS* 15: 250-8
- Drouin A, Bolduc V, Thorin-Trescases N, Belanger E, Fernandes P, et al. 2011a. Catechin treatment improves cerebrovascular flow-mediated dilation and learning abilities in atherosclerotic mice. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 300: H1032-43
- Drouin A, Bolduc V, Thorin-Trescases N, Bélanger É, Fernandes P, et al. 2011b. Catechin treatment improves cerebrovascular flow-mediated dilation and learning abilities in atherosclerotic mice. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 300: H1032-43
- Drouin A, Farhat N, Bolduc V, Thorin-Trescases N, Gillis MA, et al. 2011c. Up-regulation of thromboxane A(2) impairs cerebrovascular eNOS function in aging atherosclerotic mice. *Pflugers Arch* 462: 371-83
- Drouin A, Thorin E. 2009. Flow-induced dilation is mediated by Akt-dependent activation of endothelial nitric oxide synthase-derived hydrogen peroxide in mouse cerebral arteries. *Stroke* 40: 1827-33
- Du AT, Jahng GH, Hayasaka S, Kramer JH, Rosen HJ, et al. 2006. Hypoperfusion in frontotemporal dementia and Alzheimer disease by arterial spin labeling MRI. *Neurology* 67: 1215-20
- Duchemin S, Belanger E, Wu R, Ferland G, Girouard H. 2013. Chronic perfusion of angiotensin II causes cognitive dysfunctions and anxiety in mice. *Physiology & behavior* 109: 63-8
- Duff K, Eckman C, Zehr C, Yu X, Prada CM, et al. 1996. Increased amyloid-beta₄₂(43) in brains of mice expressing mutant presenilin 1. *Nature* 383: 710-3
- Duran-Vilaregut J, del Valle J, Camins A, Pallas M, Pelegri C, Vilaplana J. 2009. Blood-brain barrier disruption in the striatum of rats treated with 3-nitropropionic acid. *Neurotoxicology* 30: 136-43
- Durante A, Peretto G, Laricchia A, Ancona F, Spartera M, et al. 2012. Role of the renin-angiotensin-aldosterone system in the pathogenesis of atherosclerosis. *Current pharmaceutical design* 18: 981-1004
- Earley S, Waldron BJ, Brayden JE. 2004. Critical role for transient receptor potential channel TRPM4 in myogenic constriction of cerebral arteries. *Circ Res* 95: 922-9

- Edison P, Archer HA, Hinz R, Hammers A, Pavese N, et al. 2007. Amyloid, hypometabolism, and cognition in Alzheimer disease: an [11C]PIB and [18F]FDG PET study. *Neurology* 68: 501-8
- Edvinsson L, MacKenzie ET. 1976. Amine mechanisms in the cerebral circulation. *Pharmacological reviews* 28: 275-348
- Eftekhari H, Uretsky S, Messerli FH. 2007. Blood pressure, cognitive dysfunction, and dementia. *Journal of the American Society of Hypertension : JASH* 1: 135-44
- Eichner JE, Dunn ST, Perveen G, Thompson DM, Stewart KE, Stroehla BC. 2002. Apolipoprotein E polymorphism and cardiovascular disease: a HuGE review. *American journal of epidemiology* 155: 487-95
- Enciu AM, Constantinescu SN, Popescu LM, Muresanu DF, Popescu BO. 2011. Neurobiology of vascular dementia. *Journal of aging research* 2011: 401604
- Ermak G, Davies KJ. 2002. Calcium and oxidative stress: from cell signaling to cell death. *Molecular immunology* 38: 713-21
- Faraci FM. 2006. Reactive oxygen species: influence on cerebral vascular tone. *Journal of applied physiology (Bethesda, Md. : 1985)* 100: 739-43
- Faraci FM. 2011. Protecting against vascular disease in brain. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 300: H1566-82
- Faraci FM. 2018. Watching Small Vessel Disease Grow. *Circ Res* 122: 810-12
- Faraco G, Iadecola C. 2013. Hypertension: a harbinger of stroke and dementia. *Hypertension* 62: 810-7
- Faraco G, Park L, Zhou P, Luo W, Paul SM, et al. 2016. Hypertension enhances Abeta-induced neurovascular dysfunction, promotes beta-secretase activity, and leads to amyloidogenic processing of APP. *J Cereb Blood Flow Metab* 36: 241-52
- Farhat N, Thorin-Trescases N, Mamarbachi M, Villeneuve L, Yu C, et al. 2013. Angiopoietin-like 2 promotes atherogenesis in mice. *Journal of the American Heart Association* 2: e000201
- Farkas E, Luiten PG. 2001. Cerebral microvascular pathology in aging and Alzheimer's disease. *Prog Neurobiol* 64: 575-611
- Farrall AJ, Wardlaw JM. 2009. Blood-brain barrier: ageing and microvascular disease--systematic review and meta-analysis. *Neurobiol Aging* 30: 337-52
- Farris W, Mansourian S, Chang Y, Lindsley L, Eckman EA, et al. 2003. Insulin-degrading enzyme regulates the levels of insulin, amyloid beta-protein, and the beta-amyloid precursor protein intracellular domain in vivo. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 100: 4162-7
- Felix-Redondo FJ, Grau M, Fernandez-Berges D. 2013. Cholesterol and cardiovascular disease in the elderly. Facts and gaps. *Aging Dis* 4: 154-69
- Fernando MS, Simpson JE, Matthews F, Brayne C, Lewis CE, et al. 2006. White matter lesions in an unselected cohort of the elderly: molecular pathology suggests origin from chronic hypoperfusion injury. *Stroke* 37: 1391-8
- Ficzere A, Valikovics A, Fulesdi B, Juhasz A, Czuriga I, Csiba L. 1997. Cerebrovascular reactivity in hypertensive patients: a transcranial Doppler study. *Journal of clinical ultrasound : JCU* 25: 383-9
- Fields RD. 2010. Neuroscience. Change in the brain's white matter. *Science* 330: 768-9

- Fisher JP, Young CN, Fadel PJ. 2009. Central sympathetic overactivity: maladies and mechanisms. *Autonomic neuroscience : basic & clinical* 148: 5-15
- Fitzgerald MJT. 1996. *Neuroanatomy: Basic and Clinical*.
- Fjeldstad C, Frederiksen C, Fjeldstad AS, Bemben M, Pardo G. 2010. Arterial compliance in multiple sclerosis: a pilot study. *Angiology* 61: 31-6
- Fjell AM, McEvoy L, Holland D, Dale AM, Walhovd KB. 2014. What is normal in normal aging? Effects of aging, amyloid and Alzheimer's disease on the cerebral cortex and the hippocampus. *Prog Neurobiol* 117: 20-40
- Fleegal-DeMotta MA, Doghu S, Banks WA. 2009. Angiotensin II modulates BBB permeability via activation of the AT(1) receptor in brain endothelial cells. *J Cereb Blood Flow Metab* 29: 640-7
- Fleg JL, Strait J. 2012. Age-associated changes in cardiovascular structure and function: a fertile milieu for future disease. *Heart failure reviews* 17: 545-54
- Fleming I, Busse R. 1999. Signal transduction of eNOS activation. *Cardiovasc Res* 43: 532-41
- Folkow B. 1949. Intravascular pressure as a factor regulating the tone of the small vessels. *Acta physiologica Scandinavica* 17: 289-310
- Folkow B. 1989. Myogenic mechanisms in the control of systemic resistance. Introduction and historical background. *Journal of hypertension. Supplement : official journal of the International Society of Hypertension* 7: S1-4
- Forette F, Seux ML, Staessen JA, Thijs L, Babarskiene MR, et al. 2002. The prevention of dementia with antihypertensive treatment: new evidence from the Systolic Hypertension in Europe (Syst-Eur) study. *Archives of internal medicine* 162: 2046-52
- Forette F, Seux ML, Staessen JA, Thijs L, Birkenhager WH, et al. 1998. Prevention of dementia in randomised double-blind placebo-controlled Systolic Hypertension in Europe (Syst-Eur) trial. *Lancet (London, England)* 352: 1347-51
- Fotuhi M, Hachinski V, Whitehouse PJ. 2009. Changing perspectives regarding late-life dementia. *Nat Rev Neurol* 5: 649-58
- Foulquier S, Namsolleck P, Van Hagen BT, Milanova I, Post MJ, et al. 2018. Hypertension-induced cognitive impairment: insights from prolonged angiotensin II infusion in mice. *Hypertension research : official journal of the Japanese Society of Hypertension* 41: 817-27
- Fournier A, Oprisiu-Fournier R, Serot JM, Godefroy O, Achard JM, et al. 2009. Prevention of dementia by antihypertensive drugs: how AT1-receptor-blockers and dihydropyridines better prevent dementia in hypertensive patients than thiazides and ACE-inhibitors. *Expert review of neurotherapeutics* 9: 1413-31
- Franceschi C, Capri M, Monti D, Giunta S, Olivieri F, et al. 2007. Inflammaging and anti-inflammaging: a systemic perspective on aging and longevity emerged from studies in humans. *Mechanisms of ageing and development* 128: 92-105
- Franklin SS. 2006. Hypertension in older people: part 1. *Journal of clinical hypertension (Greenwich, Conn.)* 8: 444-9

- Franklin SS, Gustin Wt, Wong ND, Larson MG, Weber MA, et al. 1997. Hemodynamic patterns of age-related changes in blood pressure. The Framingham Heart Study. *Circulation* 96: 308-15
- Franklin SS, Khan SA, Wong ND, Larson MG, Levy D. 1999. Is pulse pressure useful in predicting risk for coronary heart Disease? The Framingham heart study. *Circulation* 100: 354-60
- Freeman LR, Keller JN. 2012. Oxidative stress and cerebral endothelial cells: regulation of the blood-brain-barrier and antioxidant based interventions. *Biochim Biophys Acta* 1822: 822-9
- Frostegard J. 2013. Immunity, atherosclerosis and cardiovascular disease. *BMC medicine* 11: 117
- Fujimoto Y, Uno E, Sakuma S. 2004. Effects of reactive oxygen and nitrogen species on cyclooxygenase-1 and -2 activities. *Prostaglandins, leukotrienes, and essential fatty acids* 71: 335-40
- Gambillara V, Thacher T, Silacci P, Stergiopoulos N. 2008. Effects of reduced cyclic stretch on vascular smooth muscle cell function of pig carotids perfused ex vivo. *Am J Hypertens* 21: 425-31
- Games D, Adams D, Alessandrini R, Barbour R, Berthelette P, et al. 1995. Alzheimer-type neuropathology in transgenic mice overexpressing V717F beta-amyloid precursor protein. *Nature* 373: 523-7
- Garcia-Barroso C, Ricobaraza A, Pascual-Lucas M, Unceta N, Rico AJ, et al. 2013. Tadalafil crosses the blood-brain barrier and reverses cognitive dysfunction in a mouse model of AD. *Neuropharmacology* 64: 114-23
- Garcia-Polite F, Martorell J, Del Rey-Puech P, Melgar-Lesmes P, O'Brien CC, et al. 2017. Pulsatility and high shear stress deteriorate barrier phenotype in brain microvascular endothelium. *J Cereb Blood Flow Metab* 37: 2614-25
- Gatzka CD, Cameron JD, Kingwell BA, Dart AM. 1998. Relation between coronary artery disease, aortic stiffness, and left ventricular structure in a population sample. *Hypertension* 32: 575-8
- Gebre AK, Altaye BM, Atey TM, Tuem KB, Berhe DF. 2018. Targeting Renin-Angiotensin System Against Alzheimer's Disease. *Frontiers in pharmacology* 9: 440
- Geijselaers SL, Sep SJ, Schram MT, van Boxtel MP, van Sloten TT, et al. 2016. Carotid stiffness is associated with impairment of cognitive performance in individuals with and without type 2 diabetes. The Maastricht Study. *Atherosclerosis* 253: 186-93
- Gendron ME, Theoret JF, Mamarbachi AM, Drouin A, Nguyen A, et al. 2010. Late chronic catechin antioxidant treatment is deleterious to the endothelial function in aging mice with established atherosclerosis. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 298: H2062-70
- Gentile MT, Poulet R, Di Pardo A, Cifelli G, Maffei A, et al. 2009. Beta-amyloid deposition in brain is enhanced in mouse models of arterial hypertension. *Neurobiol Aging* 30: 222-8

- Gerstenblith G, Frederiksen J, Yin FC, Fortuin NJ, Lakatta EG, Weisfeldt ML. 1977. Echocardiographic assessment of a normal adult aging population. *Circulation* 56: 273-8
- Gervais F, Paquette J, Morissette C, Krzywkowski P, Yu M, et al. 2007. Targeting soluble Abeta peptide with Tramiprosate for the treatment of brain amyloidosis. *Neurobiol Aging* 28: 537-47
- Ghiadoni L, Donald AE, Cropley M, Mullen MJ, Oakley G, et al. 2000. Mental stress induces transient endothelial dysfunction in humans. *Circulation* 102: 2473-8
- Gibbs E, Silverman JM, Zhao B, Peng X, Wang J, et al. 2019. A Rationally Designed Humanized Antibody Selective for Amyloid Beta Oligomers in Alzheimer's Disease. *Sci Rep* 9: 9870
- Giles TD, Robinson TD. 2004. Effects of olmesartan medoxomil on systolic blood pressure and pulse pressure in the management of hypertension. *Am J Hypertens* 17: 690-5
- Gilgun-Sherki Y, Melamed E, Offen D. 2001. Oxidative stress induced-neurodegenerative diseases: the need for antioxidants that penetrate the blood brain barrier. *Neuropharmacology* 40: 959-75
- Girouard H. 2016. Hypertension and the Brain as an End-Organ Target. *Springer*
- Girouard H, Bonev AD, Hannah RM, Meredith A, Aldrich RW, Nelson MT. 2010. Astrocytic endfoot Ca²⁺ and BK channels determine both arteriolar dilation and constriction. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 107: 3811-6
- Girouard H, Iadecola C. 2006. Neurovascular coupling in the normal brain and in hypertension, stroke, and Alzheimer disease. *Journal of applied physiology (Bethesda, Md. : 1985)* 100: 328-35
- Glenner GG, Wong CW. 1984. Alzheimer's disease: initial report of the purification and characterization of a novel cerebrovascular amyloid protein. *Biochemical and biophysical research communications* 120: 885-90
- Goadsby PJ, Edvinsson, L. 1997a. *Extrinsic Innervation: Transmitters, receptors, and functions – The parasympathetic nervous system*. pp. 63-67. San Diego: Academic Press.
- Goadsby PJ, Edvinsson, L. 1997b. *Extrinsic Innervation: Transmitters, receptors, and functions – The trigeminovascular system*. In: *Primer on cerebrovascular diseases*,. pp. 67-70. San Diego: Academic Press.
- Gobel U, Theilen H, Kuschinsky W. 1990. Congruence of total and perfused capillary network in rat brains. *Circ Res* 66: 271-81
- Goettsch C, Goettsch W, Arsov A, Hofbauer LC, Bornstein SR, Morawietz H. 2009. Long-term cyclic strain downregulates endothelial Nox4. *Antioxidants & redox signaling* 11: 2385-97
- Gold G, Giannakopoulos P, Herrmann FR, Bouras C, Kovari E. 2007. Identification of Alzheimer and vascular lesion thresholds for mixed dementia. *Brain : a journal of neurology* 130: 2830-6
- Goldstein JL, Brown MS. 2009. The LDL receptor. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 29: 431-8

- Gomez-Vallejo V, Ugarte A, Garcia-Barroso C, Cuadrado-Tejedor M, Szczupak B, et al. 2016. Pharmacokinetic investigation of sildenafil using positron emission tomography and determination of its effect on cerebrospinal fluid cGMP levels. *J Neurochem* 136: 403-15
- Gooch J, Wilcock DM. 2016. Animal Models of Vascular Cognitive Impairment and Dementia (VCID). *Cell Mol Neurobiol* 36: 233-9
- Gordon GR, Choi HB, Rungta RL, Ellis-Davies GC, MacVicar BA. 2008. Brain metabolism dictates the polarity of astrocyte control over arterioles. *Nature* 456: 745-9
- Gorelick PB, Scuteri A, Black SE, Decarli C, Greenberg SM, et al. 2011. Vascular contributions to cognitive impairment and dementia: a statement for healthcare professionals from the american heart association/american stroke association. *Stroke* 42: 2672-713
- Gouw AA, Seewann A, van der Flier WM, Barkhof F, Rozemuller AM, et al. 2011. Heterogeneity of small vessel disease: a systematic review of MRI and histopathology correlations. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry* 82: 126-35
- Graff-Radford J, Simino J, Kantarci K, Mosley TH, Jr., Griswold ME, et al. 2017. Neuroimaging Correlates of Cerebral Microbleeds: The ARIC Study (Atherosclerosis Risk in Communities). *Stroke* 48: 2964-72
- Gretarsdottir S, Thorleifsson G, Reynisdottir ST, Manolescu A, Jonsdottir S, et al. 2003. The gene encoding phosphodiesterase 4D confers risk of ischemic stroke. *Nature genetics* 35: 131-8
- Guglielmotto M, Aragno M, Autelli R, Giliberto L, Novo E, et al. 2009. The up-regulation of BACE1 mediated by hypoxia and ischemic injury: role of oxidative stress and HIF1alpha. *J Neurochem* 108: 1045-56
- Gupta AK, Poulter NR, Dobson J, Eldridge S, Cappuccio FP, et al. 2010. Ethnic differences in blood pressure response to first and second-line antihypertensive therapies in patients randomized in the ASCOT Trial. *Am J Hypertens* 23: 1023-30
- Gupta SK, Bodakhe SH. 2013. An elevated pulse pressure: a major risk factor for cardiovascular diseases. *Asian J Pharm Clin Res* 6
- Hachinski V. 2011. Stroke and Alzheimer disease: fellow travelers or partners in crime? *Archives of neurology* 68: 797-8
- Hachinski VC. 1990. The decline and resurgence of vascular dementia. *CMAJ : Canadian Medical Association journal = journal de l'Association medicale canadienne* 142: 107-11
- Haggerty CM, Mattingly AC, Gong MC, Su W, Daugherty A, Fornwalt BK. 2015. Telemetric Blood Pressure Assessment in Angiotensin II-Infused ApoE^{-/-} Mice: 28 Day Natural History and Comparison to Tail-Cuff Measurements. *PLoS One* 10: e0130723
- Haider AW, Larson MG, Franklin SS, Levy D. 2003. Systolic blood pressure, diastolic blood pressure, and pulse pressure as predictors of risk for congestive heart failure in the Framingham Heart Study. *Annals of internal medicine* 138: 10-6

- Hainsworth AH, Markus HS. 2008. Do in vivo experimental models reflect human cerebral small vessel disease? A systematic review. *J Cereb Blood Flow Metab* 28: 1877-91
- Hamann GF, Okada Y, Fitridge R, del Zoppo GJ. 1995. Microvascular basal lamina antigens disappear during cerebral ischemia and reperfusion. *Stroke* 26: 2120-6
- Hamel E. 2006. Perivascular nerves and the regulation of cerebrovascular tone. *Journal of applied physiology (Bethesda, Md. : 1985)* 100: 1059-64
- Hanon O, Haulon S, Lenoir H, Seux ML, Rigaud AS, et al. 2005. Relationship between arterial stiffness and cognitive function in elderly subjects with complaints of memory loss. *Stroke* 36: 2193-7
- Hanson DR, Gottesman, II. 2005. Theories of schizophrenia: a genetic-inflammatory-vascular synthesis. *BMC medical genetics* 6: 7
- Harada CN, Natelson Love MC, Triebel KL. 2013. Normal cognitive aging. *Clinics in geriatric medicine* 29: 737-52
- Harder DR, Gilbert R, Lombard JH. 1987. Vascular muscle cell depolarization and activation in renal arteries on elevation of transmural pressure. *The American journal of physiology* 253: F778-81
- Harder DR, Narayanan J, Gebremedhin D, Roman RJ. 1995. Transduction of physical force by the vascular wall Role of phospholipase C and cytochrome P450 metabolites of arachidonic acid. *Trends in cardiovascular medicine* 5: 7-14
- Hardy JA, Higgins GA. 1992. Alzheimer's disease: the amyloid cascade hypothesis. *Science* 256: 184-5
- Harris MB, Ju H, Venema VJ, Liang H, Zou R, et al. 2001. Reciprocal phosphorylation and regulation of endothelial nitric-oxide synthase in response to bradykinin stimulation. *J Biol Chem* 276: 16587-91
- Harrison MJ. 1989. Influence of haematocrit in the cerebral circulation. *Cerebrovascular and brain metabolism reviews* 1: 55-67
- Hatami J, Tafazzoli-Shadpour, M., Haghighipour, N. et al. 2013. Influence of Cyclic Stretch on Mechanical Properties of Endothelial Cells. *Experimental Mechanics* 53: 1291-98
- Hattori H, Takeda M, Kudo T, Nishimura T, Hashimoto S. 1992. Cumulative white matter changes in the gerbil brain under chronic cerebral hypoperfusion. *Acta Neuropathol* 84: 437-42
- Heistad DD. 2001. What's new in the cerebral microcirculation? Landis Award lecture. *Microcirculation (New York, N.Y. : 1994)* 8: 365-75
- Hemming ML, Selkoe DJ. 2005. Amyloid beta-protein is degraded by cellular angiotensin-converting enzyme (ACE) and elevated by an ACE inhibitor. *J Biol Chem* 280: 37644-50
- Hemming ML, Selkoe DJ, Farris W. 2007. Effects of prolonged angiotensin-converting enzyme inhibitor treatment on amyloid beta-protein metabolism in mouse models of Alzheimer disease. *Neurobiol Dis* 26: 273-81
- Henderson AS. 1988. The risk factors for Alzheimer's disease: a review and a hypothesis. *Acta psychiatrica Scandinavica* 78: 257-75

- Henry Feugeas MC, De Marco G, Peretti, II, Godon-Hardy S, Fredy D, Claeys ES. 2005. Age-related cerebral white matter changes and pulse-wave encephalopathy: observations with three-dimensional MRI. *Magnetic resonance imaging* 23: 929-37
- Henry-Feugeas MC, Roy C, Baron G, Schouman-Claeys E. 2009. Leukoaraiosis and pulse-wave encephalopathy: observations with phase-contrast MRI in mild cognitive impairment. *Journal of neuroradiology. Journal de neuroradiologie* 36: 212-8
- Henshall TL, Keller A, He L, Johansson BR, Wallgard E, et al. 2015. Notch3 is necessary for blood vessel integrity in the central nervous system. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 35: 409-20
- Holsinger RM, McLean CA, Beyreuther K, Masters CL, Evin G. 2002. Increased expression of the amyloid precursor beta-secretase in Alzheimer's disease. *Ann Neurol* 51: 783-6
- Holtzman DM, Bales KR, Tenkova T, Fagan AM, Parsadanian M, et al. 2000. Apolipoprotein E isoform-dependent amyloid deposition and neuritic degeneration in a mouse model of Alzheimer's disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 97: 2892-7
- Holtzman DM, Bales KR, Wu S, Bhat P, Parsadanian M, et al. 1999. Expression of human apolipoprotein E reduces amyloid-beta deposition in a mouse model of Alzheimer's disease. *The Journal of clinical investigation* 103: R15-r21
- Horowitz A, Menice CB, Laporte R, Morgan KG. 1996. Mechanisms of smooth muscle contraction. *Physiological reviews* 76: 967-1003
- Hossmann KA. 1994. Viability thresholds and the penumbra of focal ischemia. *Ann Neurol* 36: 557-65
- Hossmann KA. 2006. Pathophysiology and therapy of experimental stroke. *Cell Mol Neurobiol* 26: 1057-83
- Hotta H, Uchida S. 2010. Aging of the autonomic nervous system and possible improvements in autonomic activity using somatic afferent stimulation. *Geriatrics & gerontology international* 10 Suppl 1: S127-36
- Hsiao K, Chapman P, Nilsen S, Eckman C, Harigaya Y, et al. 1996. Correlative memory deficits, A β elevation, and amyloid plaques in transgenic mice. *Science* 274: 99-102
- Huang Y, Zhang W, Lin L, Feng J, Chen F, et al. 2010. Is endothelial dysfunction of cerebral small vessel responsible for white matter lesions after chronic cerebral hypoperfusion in rats? *J Neurol Sci* 299: 72-80
- Huang YC, Wu YR, Tseng MY, Chen YC, Hsieh SY, Chen CM. 2011. Increased prothrombin, apolipoprotein A-IV, and haptoglobin in the cerebrospinal fluid of patients with Huntington's disease. *PLoS One* 6: e15809
- Huber JD, VanGilder RL, Houser KA. 2006. Streptozotocin-induced diabetes progressively increases blood-brain barrier permeability in specific brain regions in rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 291: H2660-8
- Hughes TM, Craft S, Lopez OL. 2015. Review of 'the potential role of arterial stiffness in the pathogenesis of Alzheimer's disease'. *Neurodegenerative disease management* 5: 121-35

- Hughes TM, Sink KM. 2016. Hypertension and Its Role in Cognitive Function: Current Evidence and Challenges for the Future. *Am J Hypertens* 29: 149-57
- Iadecola C. 2004. Neurovascular regulation in the normal brain and in Alzheimer's disease. *Nat Rev Neurosci* 5: 347-60
- Iadecola C. 2010. The overlap between neurodegenerative and vascular factors in the pathogenesis of dementia. *Acta Neuropathol* 120: 287-96
- Iadecola C. 2013. The pathobiology of vascular dementia. *Neuron* 80: 844-66
- Iadecola C. 2015. Dangerous leaks: blood-brain barrier woes in the aging hippocampus. *Neuron* 85: 231-3
- Iadecola C, Gorelick PB. 2003. Converging pathogenic mechanisms in vascular and neurodegenerative dementia. *Stroke* 34: 335-7
- Iadecola C, Yaffe K, Biller J, Bratzke LC, Faraci FM, et al. 2016. Impact of Hypertension on Cognitive Function: A Scientific Statement From the American Heart Association. *Hypertension* 68: e67-e94
- Li M, Losordo DW. 2007. Statins and the endothelium. *Vascular pharmacology* 46: 1-9
- Ingber DE. 2006. Cellular mechanotransduction: putting all the pieces together again. *Faseb j* 20: 811-27
- Isaacson SH, Skettini J. 2014. Neurogenic orthostatic hypotension in Parkinson's disease: evaluation, management, and emerging role of droxidopa. *Vascular health and risk management* 10: 169-76
- Iturria-Medina Y, Sotero RC, Toussaint PJ, Mateos-Perez JM, Evans AC. 2016. Early role of vascular dysregulation on late-onset Alzheimer's disease based on multifactorial data-driven analysis. *Nat Commun* 7: 11934
- Iulita MF, Girouard H. 2017. Treating Hypertension to Prevent Cognitive Decline and Dementia: Re-Opening the Debate. *Advances in experimental medicine and biology* 956: 447-73
- Iulita MF, Noriega de la Colina A, Girouard H. 2018. Arterial stiffness, cognitive impairment and dementia: confounding factor or real risk? *J Neurochem* 144: 527-48
- Iwasaki K, Kitamura Y, Ohgami Y, Mishima K, Fujiwara M. 1996. The disruption of spatial cognition and changes in brain amino acid, monoamine and acetylcholine in rats with transient cerebral ischemia. *Brain research* 709: 163-72
- Jack CR, Jr., Bennett DA, Blennow K, Carrillo MC, Dunn B, et al. 2018. NIA-AA Research Framework: Toward a biological definition of Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement* 14: 535-62
- James MA, Watt PA, Potter JF, Thurston H, Swales JD. 1995. Pulse pressure and resistance artery structure in the elderly. *Hypertension* 26: 301-6
- Jellinger KA. 2001. Small concomitant cerebrovascular lesions are not important for cognitive decline in severe Alzheimer disease. *Archives of neurology* 58: 520-1
- Jellinger KA. 2008. Morphologic diagnosis of "vascular dementia" - a critical update. *J Neurol Sci* 270: 1-12
- Jellinger KA. 2013. Pathology and pathogenesis of vascular cognitive impairment-a critical update. *Front Aging Neurosci* 5: 17

- Jellinger KA, Attems J. 2010. Is there pure vascular dementia in old age? *J Neurol Sci* 299: 150-4
- Jennings JR, Muldoon MF, Ryan C, Price JC, Greer P, et al. 2005. Reduced cerebral blood flow response and compensation among patients with untreated hypertension. *Neurology* 64: 1358-65
- Jiwa NS, Garrard P, Hainsworth AH. 2010. Experimental models of vascular dementia and vascular cognitive impairment: a systematic review. *J Neurochem* 115: 814-28
- Johnson NA, Jahng GH, Weiner MW, Miller BL, Chui HC, et al. 2005. Pattern of cerebral hypoperfusion in Alzheimer disease and mild cognitive impairment measured with arterial spin-labeling MR imaging: initial experience. *Radiology* 234: 851-9
- Jovanovic D, Jovovic D, Mihailovic-Stanojevic N, Miloradovic Z, Naumovic R, et al. 2009. Effect of carvedilol on pulse pressure and left ventricular hypertrophy in spontaneously hypertensive rats with adriamycin nephropathy. *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie* 63: 571-6
- Jufri NF, Mohamedali A, Avolio A, Baker MS. 2015. Mechanical stretch: physiological and pathological implications for human vascular endothelial cells. *Vascular cell* 7: 8
- Jurk D, Wang C, Miwa S, Maddick M, Korolchuk V, et al. 2012. Postmitotic neurons develop a p21-dependent senescence-like phenotype driven by a DNA damage response. *Aging cell* 11: 996-1004
- Juurlink BH. 2015. Is there a pulse wave encephalopathy component to multiple sclerosis? *Current neurovascular research* 12: 199-209
- Kakou A, Bezie Y, Mercier N, Louis H, Labat C, et al. 2009. Selective reduction of central pulse pressure under angiotensin blockage in SHR: role of the fibronectin-alpha5beta1 integrin complex. *Am J Hypertens* 22: 711-7
- Kalaria RN. 1997. Cerebrovascular degeneration is related to amyloid-beta protein deposition in Alzheimer's disease. *Ann N Y Acad Sci* 826: 263-71
- Kalaria RN. 2003. Vascular factors in Alzheimer's disease. *International psychogeriatrics* 15 Suppl 1: 47-52
- Kalaria RN. 2010. Vascular basis for brain degeneration: faltering controls and risk factors for dementia. *Nutrition reviews* 68 Suppl 2: S74-87
- Kalaria RN, Ballard C. 1999. Overlap between pathology of Alzheimer disease and vascular dementia. *Alzheimer disease and associated disorders* 13 Suppl 3: S115-23
- Kalaria RN, Bhatti SU, Palatinsky EA, Pennington DH, Shelton ER, et al. 1993. Accumulation of the beta amyloid precursor protein at sites of ischemic injury in rat brain. *Neuroreport* 4: 211-4
- Kalmijn S, Feskens EJ, Launer LJ, Stijnen T, Kromhout D. 1995. Glucose intolerance, hyperinsulinaemia and cognitive function in a general population of elderly men. *Diabetologia* 38: 1096-102
- Kametani F, Hasegawa M. 2018. Reconsideration of Amyloid Hypothesis and Tau Hypothesis in Alzheimer's Disease. *Frontiers in neuroscience* 12: 25

- Karran E, Mercken M, De Strooper B. 2011. The amyloid cascade hypothesis for Alzheimer's disease: an appraisal for the development of therapeutics. *Nature reviews. Drug discovery* 10: 698-712
- Kelley BJ, Petersen RC. 2007. Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. *Neurologic clinics* 25: 577-609, v
- Kengne AP, Czernichow S, Huxley R, Grobbee D, Woodward M, et al. 2009. Blood pressure variables and cardiovascular risk: new findings from ADVANCE. *Hypertension* 54: 399-404
- Kermode AG, Thompson AJ, Tofts P, MacManus DG, Kendall BE, et al. 1990. Breakdown of the blood-brain barrier precedes symptoms and other MRI signs of new lesions in multiple sclerosis. Pathogenetic and clinical implications. *Brain : a journal of neurology* 113 (Pt 5): 1477-89
- Kety S. 1957. *The general metabolism of the brain in vivo*. . pp. pp. 221–237.: In: Richter D, editor. .
- Kiefer CR, McKenney JB, Trainor JF, Snyder LM. 2005. Pulse-pressure-driven neutral lipid accumulation and correlative proinflammatory markers of accelerated atherogenesis. *Atherosclerosis* 183: 17-24
- Kim J, Basak JM, Holtzman DM. 2009. The role of apolipoprotein E in Alzheimer's disease. *Neuron* 63: 287-303
- Kim KW, Youn JC, Han MK, Paik NJ, Lee TJ, et al. 2008. Lack of association between apolipoprotein E polymorphism and vascular dementia in Koreans. *Journal of geriatric psychiatry and neurology* 21: 12-7
- Kim MO, Adji A, O'Rourke MF, Avolio AP, Smielewski P, et al. 2016. Change in Pulsatile Cerebral Arterial Pressure and Flow Waves as a Therapeutic Strategy? *Acta neurochirurgica. Supplement* 122: 167-70
- Kingwell BA, Cameron JD, Gillies KJ, Jennings GL, Dart AM. 1995. Arterial compliance may influence baroreflex function in athletes and hypertensives. *The American journal of physiology* 268: H411-8
- Kirkland JL, Tchkonja T. 2017. Cellular Senescence: A Translational Perspective. *EBioMedicine* 21: 21-28
- Kishi T, Hirooka Y. 2012. Oxidative stress in the brain causes hypertension via sympathoexcitation. *Frontiers in physiology* 3: 335
- Klein B, Kuschinsky W, Schrock H, Vetterlein F. 1986. Interdependency of local capillary density, blood flow, and metabolism in rat brains. *The American journal of physiology* 251: H1333-40
- Klevanski M, Herrmann U, Weyer SW, Fol R, Cartier N, et al. 2015. The APP Intracellular Domain Is Required for Normal Synaptic Morphology, Synaptic Plasticity, and Hippocampus-Dependent Behavior. *J Neurosci* 35: 16018-33
- Knot HJ, Nelson MT. 1995. Regulation of membrane potential and diameter by voltage-dependent K⁺ channels in rabbit myogenic cerebral arteries. *The American journal of physiology* 269: H348-55
- Knot HJ, Nelson MT. 1998. Regulation of arterial diameter and wall [Ca²⁺] in cerebral arteries of rat by membrane potential and intravascular pressure. *The Journal of physiology* 508 (Pt 1): 199-209

- Koffi I, Lacolley P, Kirchengast M, Pomies JP, Laurent S, Benetos A. 1998. Prevention of arterial structural alterations with verapamil and trandolapril and consequences for mechanical properties in spontaneously hypertensive rats. *Eur J Pharmacol* 361: 51-60
- Kogure D, Matsuda H, Ohnishi T, Asada T, Uno M, et al. 2000. Longitudinal evaluation of early Alzheimer's disease using brain perfusion SPECT. *Journal of nuclear medicine : official publication, Society of Nuclear Medicine* 41: 1155-62
- Kohn JC, Lampi MC, Reinhart-King CA. 2015. Age-related vascular stiffening: causes and consequences. *Front Genet* 6: 112
- Koller A, Toth P. 2012. Contribution of flow-dependent vasomotor mechanisms to the autoregulation of cerebral blood flow. *Journal of vascular research* 49: 375-89
- Krejza J, Mariak Z, Walecki J, Szydlik P, Lewko J, Ustymowicz A. 1999. Transcranial color Doppler sonography of basal cerebral arteries in 182 healthy subjects: age and sex variability and normal reference values for blood flow parameters. *AJR. American journal of roentgenology* 172: 213-8
- Kristian T, Siesjo BK. 1998. Calcium in ischemic cell death. *Stroke* 29: 705-18
- Krouwer VJ, Hekking LH, Langelaar-Makkinje M, Regan-Klapisz E, Post JA. 2012. Endothelial cell senescence is associated with disrupted cell-cell junctions and increased monolayer permeability. *Vascular cell* 4: 12
- Kudo T, Takeda M, Tanimukai S, Nishimura T. 1993. Neuropathologic changes in the gerbil brain after chronic hypoperfusion. *Stroke* 24: 259-64; discussion 65
- Kulik T, Kusano Y, Aronhime S, Sandler AL, Winn HR. 2008. Regulation of cerebral vasculature in normal and ischemic brain. *Neuropharmacology* 55: 281-8
- Kuo HK, Chen CY, Liu HM, Yen CJ, Chang KJ, et al. 2010. Metabolic risks, white matter hyperintensities, and arterial stiffness in high-functioning healthy adults. *International journal of cardiology* 143: 184-91
- Lakatta EG. 2000. Cardiovascular aging in health. *Clinics in geriatric medicine* 16: 419-44
- Lakatta EG. 2015. So! What's aging? Is cardiovascular aging a disease? *Journal of molecular and cellular cardiology* 83: 1-13
- Lakatta EG, Levy D. 2003. Arterial and cardiac aging: major shareholders in cardiovascular disease enterprises: Part I: aging arteries: a "set up" for vascular disease. *Circulation* 107: 139-46
- Lakatta EG, Wang M, Najjar SS. 2009. Arterial aging and subclinical arterial disease are fundamentally intertwined at macroscopic and molecular levels. *The Medical clinics of North America* 93: 583-604, Table of Contents
- Lamarche F, Agharazii M, Nadeau-Fredette AC, Madore F, Goupil R. 2018. Central and Brachial Blood Pressures, Statins, and Low-Density Lipoprotein Cholesterol: A Mediation Analysis. *Hypertension* 71: 415-21
- Lamberti P, Zoccolella S, Iliceto G, Armenise E, Fraddosio A, et al. 2005. Effects of levodopa and COMT inhibitors on plasma homocysteine in Parkinson's disease patients. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society* 20: 69-72
- Laragh JH. 1971. Biochemical profiling and the natural history of hypertensive diseases: low-renin essential hypertension, a benign condition. *Circulation* 44: 971-4

- Lee RM. 1995. Morphology of cerebral arteries. *Pharmacology & therapeutics* 66: 149-73
- Lee YU, Hayman D, Sprague EA, Han HC. 2010. Effects of Axial Stretch on Cell Proliferation and Intimal Thickness in Arteries in Organ Culture. *Cellular and molecular bioengineering* 3: 286-95
- Lehoux S. 2006. Redox signalling in vascular responses to shear and stretch. *Cardiovasc Res* 71: 269-79
- Lelkes PI. 1999. *Mechanical forces and the endothelium*. CRC publication.
- Ley K, Miller YI, Hedrick CC. 2011. Monocyte and macrophage dynamics during atherogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 31: 1506-16
- Li H, Guo Q, Inoue T, Polito VA, Tabuchi K, et al. 2014. Vascular and parenchymal amyloid pathology in an Alzheimer disease knock-in mouse model: interplay with cerebral blood flow. *Mol Neurodegener* 9: 28
- Li SC, Rieckmann A. 2014. Neuromodulation and aging: implications of aging neuronal gain control on cognition. *Current opinion in neurobiology* 29: 148-58
- Li Y, Rinne JO, Mosconi L, Pirraglia E, Rusinek H, et al. 2008. Regional analysis of FDG and PIB-PET images in normal aging, mild cognitive impairment, and Alzheimer's disease. *European journal of nuclear medicine and molecular imaging* 35: 2169-81
- Li Z, Organ CL, Kang J, Polhemus DJ, Trivedi RK, et al. 2018. Hydrogen Sulfide Attenuates Renin Angiotensin and Aldosterone Pathological Signaling to Preserve Kidney Function and Improve Exercise Tolerance in Heart Failure. *JACC. Basic to translational science* 3: 796-809
- Liang YL, Gatzka CD, Du XJ, Cameron JD, Kingwell BA, Dart AM. 1999. Effects of heart rate on arterial compliance in men. *Clinical and experimental pharmacology & physiology* 26: 342-6
- Liebeskind DS. 2003. Collateral circulation. *Stroke* 34: 2279-84
- Lincoln J. 1995. Innervation of cerebral arteries by nerves containing 5-hydroxytryptamine and noradrenaline. *Pharmacology & therapeutics* 68: 473-501
- Liu ZJ, Tan Y, Beecham GW, Seo DM, Tian R, et al. 2012. Notch activation induces endothelial cell senescence and pro-inflammatory response: implication of Notch signaling in atherosclerosis. *Atherosclerosis* 225: 296-303
- Longden TA, Dabertrand F, Koide M, Gonzales AL, Tykocki NR, et al. 2017. Capillary K(+)-sensing initiates retrograde hyperpolarization to increase local cerebral blood flow. *Nat Neurosci* 20: 717-26
- Lopez OL. 2013. Mild cognitive impairment. *Continuum (Minneapolis, Minn.)* 19: 411-24
- Lourenco CF, Ledo A, Barbosa RM, Laranjinha J. 2017. Neurovascular uncoupling in the triple transgenic model of Alzheimer's disease: Impaired cerebral blood flow response to neuronal-derived nitric oxide signaling. *Exp Neurol* 291: 36-43
- Lowenstein CJ, Dinerman JL, Snyder SH. 1994. Nitric oxide: a physiologic messenger. *Annals of internal medicine* 120: 227-37
- Magistretti PJ. 2006. Neuron-glia metabolic coupling and plasticity. *The Journal of experimental biology* 209: 2304-11

- Mahmud A, Feely J. 2002. Effect of angiotensin ii receptor blockade on arterial stiffness: beyond blood pressure reduction. *Am J Hypertens* 15: 1092-5
- Maillard P, Carmichael O, Fletcher E, Reed B, Mungas D, DeCarli C. 2012. Coevolution of white matter hyperintensities and cognition in the elderly. *Neurology* 79: 442-8
- Maillard P, Mitchell GF, Himali JJ, Beiser A, Fletcher E, et al. 2017. Aortic Stiffness, Increased White Matter Free Water, and Altered Microstructural Integrity: A Continuum of Injury. *Stroke* 48: 1567-73
- Maillard P, Mitchell GF, Himali JJ, Beiser A, Tsao CW, et al. 2016. Effects of Arterial Stiffness on Brain Integrity in Young Adults From the Framingham Heart Study. *Stroke* 47: 1030-6
- Marchi N, Angelov L, Masaryk T, Fazio V, Granata T, et al. 2007. Seizure-promoting effect of blood-brain barrier disruption. *Epilepsia* 48: 732-42
- Marchi N, Granata T, Ghosh C, Janigro D. 2012. Blood-brain barrier dysfunction and epilepsy: pathophysiologic role and therapeutic approaches. *Epilepsia* 53: 1877-86
- Markus HS, Hunt B, Palmer K, Enzinger C, Schmidt H, Schmidt R. 2005. Markers of endothelial and hemostatic activation and progression of cerebral white matter hyperintensities: longitudinal results of the Austrian Stroke Prevention Study. *Stroke* 36: 1410-4
- Martin AJ, Friston KJ, Colebatch JG, Frackowiak RS. 1991. Decreases in regional cerebral blood flow with normal aging. *J Cereb Blood Flow Metab* 11: 684-9
- Matin N, Fisher C, Jackson WF, Dorrance AM. 2016. Bilateral common carotid artery stenosis in normotensive rats impairs endothelium-dependent dilation of parenchymal arterioles. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 310: H1321-9
- Matsushita K, Kuriyama Y, Nagatsuka K, Nakamura M, Sawada T, Omae T. 1994. Periventricular white matter lucency and cerebral blood flow autoregulation in hypertensive patients. *Hypertension* 23: 565-8
- Mayhan WG, Faraci FM, Baumbach GL, Heistad DD. 1990. Effects of aging on responses of cerebral arterioles. *The American journal of physiology* 258: H1138-43
- McDade E, Sun Z, Lee CW, Snitz B, Hughes T, et al. 2016. The association between pulse pressure change and cognition in late life: Age and where you start matters. *Alzheimer's & dementia (Amsterdam, Netherlands)* 4: 56-66
- McEniery CM, Yasmin, McDonnell B, Munnerly M, Wallace SM, et al. 2008. Central pressure: variability and impact of cardiovascular risk factors: the Anglo-Cardiff Collaborative Trial II. *Hypertension* 51: 1476-82
- McKinley MJ, Albiston AL, Allen AM, Mathai ML, May CN, et al. 2003. The brain renin-angiotensin system: location and physiological roles. *The international journal of biochemistry & cell biology* 35: 901-18
- McManus MJ, Murphy MP, Franklin JL. 2011. The mitochondria-targeted antioxidant MitoQ prevents loss of spatial memory retention and early neuropathology in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *J Neurosci* 31: 15703-15
- Menet R, Bernard M, ElAli A. 2018. Hyperlipidemia in Stroke Pathobiology and Therapy: Insights and Perspectives. *Frontiers in physiology* 9: 488

- Metea MR, Newman EA. 2006. Glial cells dilate and constrict blood vessels: a mechanism of neurovascular coupling. *J Neurosci* 26: 2862-70
- Miao Q, Paloneva T, Tuominen S, Poyhonen M, Tuisku S, et al. 2004. Fibrosis and stenosis of the long penetrating cerebral arteries: the cause of the white matter pathology in cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy. *Brain pathology (Zurich, Switzerland)* 14: 358-64
- Mielke MM, Vemuri P, Rocca WA. 2014. Clinical epidemiology of Alzheimer's disease: assessing sex and gender differences. *Clinical epidemiology* 6: 37-48
- Mitchell GF. 2008. Effects of central arterial aging on the structure and function of the peripheral vasculature: implications for end-organ damage. *Journal of applied physiology (Bethesda, Md. : 1985)* 105: 1652-60
- Mitchell GF, Guo CY, Benjamin EJ, Larson MG, Keyes MJ, et al. 2007. Cross-sectional correlates of increased aortic stiffness in the community: the Framingham Heart Study. *Circulation* 115: 2628-36
- Mitchell GF, Hwang SJ, Vasan RS, Larson MG, Pencina MJ, et al. 2010. Arterial stiffness and cardiovascular events: the Framingham Heart Study. *Circulation* 121: 505-11
- Mitchell GF, Parise H, Benjamin EJ, Larson MG, Keyes MJ, et al. 2004. Changes in arterial stiffness and wave reflection with advancing age in healthy men and women: the Framingham Heart Study. *Hypertension* 43: 1239-45
- Mitchell GF, van Buchem MA, Sigurdsson S, Gotal JD, Jonsdottir MK, et al. 2011. Arterial stiffness, pressure and flow pulsatility and brain structure and function: the Age, Gene/Environment Susceptibility--Reykjavik study. *Brain : a journal of neurology* 134: 3398-407
- Moazzami K, Ostovaneh MR, Ambale Venkatesh B, Habibi M, Yoneyama K, et al. 2018. Left Ventricular Hypertrophy and Remodeling and Risk of Cognitive Impairment and Dementia: MESA (Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis). *Hypertension* 71: 429-36
- Moheet A, Mangia S, Seaquist ER. 2015. Impact of diabetes on cognitive function and brain structure. *Ann N Y Acad Sci* 1353: 60-71
- Montagne A, Barnes SR, Sweeney MD, Halliday MR, Sagare AP, et al. 2015. Blood-brain barrier breakdown in the aging human hippocampus. *Neuron* 85: 296-302
- Montagne A, Zhao Z, Zlokovic BV. 2017. Alzheimer's disease: A matter of blood-brain barrier dysfunction? *The Journal of experimental medicine* 214: 3151-69
- Morgan T, Lauri J, Bertram D, Anderson A. 2004. Effect of different antihypertensive drug classes on central aortic pressure. *Am J Hypertens* 17: 118-23
- Morita Y, Hardebo JE, Bouskela E. 1994. Influence of cerebrovascular parasympathetic nerves on resting cerebral blood flow, spontaneous vasomotion, autoregulation, hypercapnic vasodilation and sympathetic vasoconstriction. *Journal of the autonomic nervous system* 49 Suppl: S9-14
- Morra LF, Strauss GP. 2016. Severity of hypertension predicts the generalized neurocognitive deficit in schizophrenia. *Schizophrenia research* 176: 527-28
- Morrison JH, Baxter MG. 2012. The ageing cortical synapse: hallmarks and implications for cognitive decline. *Nat Rev Neurosci* 13: 240-50

- Mosconi L, De Santi S, Li J, Tsui WH, Li Y, et al. 2008. Hippocampal hypometabolism predicts cognitive decline from normal aging. *Neurobiol Aging* 29: 676-92
- Moskowitz MA, Lo EH, Iadecola C. 2010. The science of stroke: mechanisms in search of treatments. *Neuron* 67: 181-98
- Muller M, Ahumada-Castro U, Sanhueza M, Gonzalez-Billault C, Court FA, Cardenas C. 2018. Mitochondria and Calcium Regulation as Basis of Neurodegeneration Associated With Aging. *Frontiers in neuroscience* 12: 470
- Muller M, van der Graaf Y, Algra A, Hendrikse J, Mali WP, Geerlings MI. 2011. Carotid atherosclerosis and progression of brain atrophy: the SMART-MR study. *Ann Neurol* 70: 237-44
- Mulvany MJ, Aalkjaer C. 1990. Structure and function of small arteries. *Physiological reviews* 70: 921-61
- Murman DL. 2015. The Impact of Age on Cognition. *Seminars in hearing* 36: 111-21
- Myint PK, Staufenberg EF, Sabanathan K. 2006. Post-stroke seizure and post-stroke epilepsy. *Postgraduate medical journal* 82: 568-72
- Najjar SS, Scuteri A, Lakatta EG. 2005. Arterial aging: is it an immutable cardiovascular risk factor? *Hypertension* 46: 454-62
- Nakaji K, Ihara M, Takahashi C, Itohara S, Noda M, et al. 2006. Matrix metalloproteinase-2 plays a critical role in the pathogenesis of white matter lesions after chronic cerebral hypoperfusion in rodents. *Stroke* 37: 2816-23
- Nathan C, Ding A. 2010. Nonresolving inflammation. *Cell* 140: 871-82
- Nation DA, Edland SD, Bondi MW, Salmon DP, Delano-Wood L, et al. 2013. Pulse pressure is associated with Alzheimer biomarkers in cognitively normal older adults. *Neurology* 81: 2024-7
- Nation DA, Preis SR, Beiser A, Bangen KJ, Delano-Wood L, et al. 2016. Pulse Pressure Is Associated With Early Brain Atrophy and Cognitive Decline: Modifying Effects of APOE-epsilon4. *Alzheimer disease and associated disorders* 30: 210-5
- Nation DA, Sweeney MD, Montagne A, Sagare AP, D'Orazio LM, et al. 2019. Blood-brain barrier breakdown is an early biomarker of human cognitive dysfunction. *Nature medicine* 25: 270-76
- Nation DA, Wierenga CE, Delano-Wood L, Jak AJ, Delis DC, et al. 2010. Elevated pulse pressure is associated with age-related decline in language ability. *Journal of the International Neuropsychological Society : JINS* 16: 933-8
- Navarrete M, Araque A. 2014. The Cajal school and the physiological role of astrocytes: a way of thinking. *Frontiers in neuroanatomy* 8: 33
- Neary D, Snowden JS, Gustafson L, Passant U, Stuss D, et al. 1998. Frontotemporal lobar degeneration: a consensus on clinical diagnostic criteria. *Neurology* 51: 1546-54
- Nedergaard M, Ransom B, Goldman SA. 2003. New roles for astrocytes: redefining the functional architecture of the brain. *Trends in neurosciences* 26: 523-30
- Nelson AR, Sweeney MD, Sagare AP, Zlokovic BV. 2016. Neurovascular dysfunction and neurodegeneration in dementia and Alzheimer's disease. *Biochim Biophys Acta* 1862: 887-900

- Nelson MT, Conway MA, Knot HJ, Brayden JE. 1997. Chloride channel blockers inhibit myogenic tone in rat cerebral arteries. *The Journal of physiology* 502 (Pt 2): 259-64
- Nestel PJ, Pomeroy SE, Sasahara T, Yamashita T, Liang YL, et al. 1997. Arterial compliance in obese subjects is improved with dietary plant n-3 fatty acid from flaxseed oil despite increased LDL oxidizability. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 17: 1163-70
- Neto CJ, Paganelli RA, Benetoli A, Lima KC, Milani H. 2005. Permanent, 3-stage, 4-vessel occlusion as a model of chronic and progressive brain hypoperfusion in rats: a neurohistological and behavioral analysis. *Behav Brain Res* 160: 312-22
- Neuwelt EA, Bauer B, Fahlke C, Fricker G, Iadecola C, et al. 2011. Engaging neuroscience to advance translational research in brain barrier biology. *Nat Rev Neurosci* 12: 169-82
- Newman EA. 2003. New roles for astrocytes: regulation of synaptic transmission. *Trends in neurosciences* 26: 536-42
- Ngandu T, Lehtisalo J, Solomon A, Levalahti E, Ahtiluoto S, et al. 2015. A 2 year multidomain intervention of diet, exercise, cognitive training, and vascular risk monitoring versus control to prevent cognitive decline in at-risk elderly people (FINGER): a randomised controlled trial. *Lancet (London, England)* 385: 2255-63
- Ni J, Ma KL, Wang CX, Liu J, Zhang Y, et al. 2013. Activation of renin-angiotensin system is involved in dyslipidemia-mediated renal injuries in apolipoprotein E knockout mice and HK-2 cells. *Lipids in health and disease* 12: 49
- Nichols WW, Denardo SJ, Wilkinson IB, McEniery CM, Cockcroft J, O'Rourke MF. 2008. Effects of arterial stiffness, pulse wave velocity, and wave reflections on the central aortic pressure waveform. *Journal of clinical hypertension (Greenwich, Conn.)* 10: 295-303
- Nichols WW, O'Rourke, Michael. F. . 1998 *McDonald's blood flow in arteries : theoretical, experimental, and clinical principles.*
- Nicoll R, Henein MY. 2018. Caloric Restriction and Its Effect on Blood Pressure, Heart Rate Variability and Arterial Stiffness and Dilatation: A Review of the Evidence. *Int J Mol Sci* 19
- Niermann H, Amiry-Moghaddam M, Holthoff K, Witte OW, Ottersen OP. 2001. A novel role of vasopressin in the brain: modulation of activity-dependent water flux in the neocortex. *J Neurosci* 21: 3045-51
- Nishimura N, Schaffer CB, Friedman B, Lyden PD, Kleinfeld D. 2007. Penetrating arterioles are a bottleneck in the perfusion of neocortex. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 104: 365-70
- Niwa K, Porter VA, Kazama K, Cornfield D, Carlson GA, Iadecola C. 2001. A beta-peptides enhance vasoconstriction in cerebral circulation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 281: H2417-24
- Nordborg C, Fredriksson K, Johansson BB. 1985. The morphometry of consecutive segments in cerebral arteries of normotensive and spontaneously hypertensive rats. *Stroke* 16: 313-20

- O'Brien JT, Erkinjuntti T, Reisberg B, Roman G, Sawada T, et al. 2003. Vascular cognitive impairment. *The Lancet. Neurology* 2: 89-98
- O'Brien RJ, Wong PC. 2011. Amyloid precursor protein processing and Alzheimer's disease. *Annual review of neuroscience* 34: 185-204
- O'Donnell M, Teo K, Gao P, Anderson C, Sleight P, et al. 2012. Cognitive impairment and risk of cardiovascular events and mortality. *Eur Heart J* 33: 1777-86
- O'Rourke MF, Hashimoto J. 2007. Mechanical factors in arterial aging: a clinical perspective. *J Am Coll Cardiol* 50: 1-13
- O'Rourke MF, Safar ME. 2005. Relationship between aortic stiffening and microvascular disease in brain and kidney: cause and logic of therapy. *Hypertension* 46: 200-4
- O'Rourke MF, Safar ME, Dzau V. 2010. The Cardiovascular Continuum extended: aging effects on the aorta and microvasculature. *Vascular medicine (London, England)* 15: 461-8
- Oakley H, Cole SL, Logan S, Maus E, Shao P, et al. 2006. Intraneuronal beta-amyloid aggregates, neurodegeneration, and neuron loss in transgenic mice with five familial Alzheimer's disease mutations: potential factors in amyloid plaque formation. *J Neurosci* 26: 10129-40
- Obermeier B, Daneman R, Ransohoff RM. 2013. Development, maintenance and disruption of the blood-brain barrier. *Nature medicine* 19: 1584-96
- Oddo S, Caccamo A, Shepherd JD, Murphy MP, Golde TE, et al. 2003. Triple-transgenic model of Alzheimer's disease with plaques and tangles: intracellular Abeta and synaptic dysfunction. *Neuron* 39: 409-21
- Ohrui T, Matsui T, Yamaya M, Arai H, Ebihara S, et al. 2004. Angiotensin-converting enzyme inhibitors and incidence of Alzheimer's disease in Japan. *Journal of the American Geriatrics Society* 52: 649-50
- Okamoto K. YY, Nagaoka A. . 1974. Establishment of the stroke prone spontaneously hypertensive rat (SHR) *Circulation Research*. 33/34:1143-1153 33/34:1143-1153
- Ongali B, Nicolakakis N, Tong XK, Aboukassim T, Papadopoulos P, et al. 2014. Angiotensin II type 1 receptor blocker losartan prevents and rescues cerebrovascular, neuropathological and cognitive deficits in an Alzheimer's disease model. *Neurobiol Dis* 68: 126-36
- Osol G, Brekke JF, McElroy-Yaggy K, Gokina NI. 2002. Myogenic tone, reactivity, and forced dilatation: a three-phase model of in vitro arterial myogenic behavior. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 283: H2260-7
- Ovadya Y, Landsberger T, Leins H, Vadai E, Gal H, et al. 2018. Impaired immune surveillance accelerates accumulation of senescent cells and aging. *Nat Commun* 9: 5435
- Palmer AK, Tchkonja T, LeBrasseur NK, Chini EN, Xu M, Kirkland JL. 2015. Cellular Senescence in Type 2 Diabetes: A Therapeutic Opportunity. *Diabetes* 64: 2289-98
- Palmer RM, Ferrige AG, Moncada S. 1987. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature* 327: 524-6
- Papadopoulos P, Tong XK, Imboden H, Hamel E. 2017. Losartan improves cerebrovascular function in a mouse model of Alzheimer's disease with

- combined overproduction of amyloid-beta and transforming growth factor-beta1. *J Cereb Blood Flow Metab* 37: 1959-70
- Park JH, Han SW, Baik JS. 2017a. A Comparative Study of Central Hemodynamics in Parkinson's Disease. *Journal of movement disorders* 10: 135-39
- Park L, Anrather J, Girouard H, Zhou P, Iadecola C. 2007. Nox2-derived reactive oxygen species mediate neurovascular dysregulation in the aging mouse brain. *J Cereb Blood Flow Metab* 27: 1908-18
- Park W, Park HY, Lim K, Park J. 2017b. The role of habitual physical activity on arterial stiffness in elderly Individuals: a systematic review and meta-analysis. *Journal of exercise nutrition & biochemistry* 21: 16-21
- Pase MP, Pipingas A, Kras M, Nolidin K, Gibbs AL, et al. 2010. Healthy middle-aged individuals are vulnerable to cognitive deficits as a result of increased arterial stiffness. *Journal of hypertension* 28: 1724-9
- Patel JP, Frey BN. 2015. Disruption in the Blood-Brain Barrier: The Missing Link between Brain and Body Inflammation in Bipolar Disorder? *Neural Plast* 2015: 708306
- Paulson OB, Strandgaard S, Edvinsson L. 1990. Cerebral autoregulation. *Cerebrovascular and brain metabolism reviews* 2: 161-92
- Pearce WJ. 1995. Mechanisms of hypoxic cerebral vasodilatation. *Pharmacology & therapeutics* 65: 75-91
- Peng X, Carhuapoma JR, Bhardwaj A, Alkayed NJ, Falck JR, et al. 2002. Suppression of cortical functional hyperemia to vibrissal stimulation in the rat by epoxygenase inhibitors. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 283: H2029-37
- Pennypacker KR, Hernandez H, Benkovic S, Morgan DG, Willing AE, Sanberg PR. 1999. Induction of presenilins in the rat brain after middle cerebral arterial occlusion. *Brain research bulletin* 48: 539-43
- Peppiatt CM, Howarth C, Mobbs P, Attwell D. 2006. Bidirectional control of CNS capillary diameter by pericytes. *Nature* 443: 700-4
- Petersen RC, Smith GE, Waring SC, Ivnik RJ, Tangalos EG, Kokmen E. 1999. Mild cognitive impairment: clinical characterization and outcome. *Archives of neurology* 56: 303-8
- Peterson EC, Wang Z, Britz G. 2011. Regulation of cerebral blood flow. *International journal of vascular medicine* 2011: 823525
- Petrovitch H, White LR, Izmirilian G, Ross GW, Havlik RJ, et al. 2000. Midlife blood pressure and neuritic plaques, neurofibrillary tangles, and brain weight at death: the HAAS. Honolulu-Asia aging Study. *Neurobiol Aging* 21: 57-62
- Phillips SJ, Whisnant JP. 1992. Hypertension and the brain. The National High Blood Pressure Education Program. *Archives of internal medicine* 152: 938-45
- Pillai JJ, Mikulis DJ. 2015. Cerebrovascular reactivity mapping: an evolving standard for clinical functional imaging. *AJNR. American journal of neuroradiology* 36: 7-13
- Pires PW, Dams Ramos CM, Matin N, Dorrance AM. 2013. The effects of hypertension on the cerebral circulation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 304: H1598-614
- Plassman BL, Langa KM, Fisher GG, Heeringa SG, Weir DR, et al. 2007. Prevalence of dementia in the United States: the aging, demographics, and memory study. *Neuroepidemiology* 29: 125-32

- Poels MM, Ikram MA, van der Lugt A, Hofman A, Krestin GP, et al. 2011. Incidence of cerebral microbleeds in the general population: the Rotterdam Scan Study. *Stroke* 42: 656-61
- Poliakova T, Levin O, Arablinskiy A, Vasenina E, Zerr I. 2016. Cerebral microbleeds in early Alzheimer's disease. *Journal of neurology* 263: 1961-8
- Porter JT, McCarthy KD. 1996. Hippocampal astrocytes in situ respond to glutamate released from synaptic terminals. *J Neurosci* 16: 5073-81
- Poulet R, Gentile MT, Vecchione C, Distaso M, Aretini A, et al. 2006. Acute hypertension induces oxidative stress in brain tissues. *J Cereb Blood Flow Metab* 26: 253-62
- Prasad S, Sajja RK, Naik P, Cucullo L. 2014. Diabetes Mellitus and Blood-Brain Barrier Dysfunction: An Overview. *Journal of pharmacovigilance* 2: 125
- Price JM, Sutton ET, Hellermann A, Thomas T. 1997. beta-Amyloid induces cerebrovascular endothelial dysfunction in the rat brain. *Neurological research* 19: 534-8
- Prisada OV, Covic A, Arghiri E, Cernomaz A, Ungureanu G. 2007. [Pulse pressure, arterial compliance and Buckberg index in hypertensive patients treated with nebivolol and nitrates]. *Revista medico-chirurgicala a Societatii de Medici si Naturalisti din Iasi* 111: 352-7
- Puig B, Brenna S, Magnus T. 2018. Molecular Communication of a Dying Neuron in Stroke. *Int J Mol Sci* 19
- Purkayastha S, Fadar O, Mehregan A, Salat DH, Moscufo N, et al. 2014. Impaired cerebrovascular hemodynamics are associated with cerebral white matter damage. *J Cereb Blood Flow Metab* 34: 228-34
- Qiu C, Winblad B, Fratiglioni L. 2005. The age-dependent relation of blood pressure to cognitive function and dementia. *The Lancet. Neurology* 4: 487-99
- Qiu C, Winblad B, Marengoni A, Klarin I, Fastbom J, Fratiglioni L. 2006. Heart failure and risk of dementia and Alzheimer disease: a population-based cohort study. *Archives of internal medicine* 166: 1003-8
- Qiu C, Winblad B, Viitanen M, Fratiglioni L. 2003. Pulse pressure and risk of Alzheimer disease in persons aged 75 years and older: a community-based, longitudinal study. *Stroke* 34: 594-9
- Raber J, Wong D, Yu GQ, Buttini M, Mahley RW, et al. 2000. Apolipoprotein E and cognitive performance. *Nature* 404: 352-4
- Rabin JS, Schultz AP, Hedden T, Viswanathan A, Marshall GA, et al. 2018. Interactive Associations of Vascular Risk and beta-Amyloid Burden With Cognitive Decline in Clinically Normal Elderly Individuals: Findings From the Harvard Aging Brain Study. *JAMA Neurol* 75: 1124-31
- Radde R, Bolmont T, Kaeser SA, Coomaraswamy J, Lindau D, et al. 2006. Abeta42-driven cerebral amyloidosis in transgenic mice reveals early and robust pathology. *EMBO reports* 7: 940-6
- Raignault A, Bolduc V, Lesage F, Thorin E. 2017. Pulse pressure-dependent cerebrovascular eNOS regulation in mice. *J Cereb Blood Flow Metab* 37: 413-24
- Rancillac A, Geoffroy H, Rossier J. 2012. Impaired neurovascular coupling in the APPxPS1 mouse model of Alzheimer's disease. *Current Alzheimer research* 9: 1221-30

- Ransom B, Behar T, Nedergaard M. 2003. New roles for astrocytes (stars at last). *Trends in neurosciences* 26: 520-2
- Rapacciuolo A, Esposito G, Caron K, Mao L, Thomas SA, Rockman HA. 2001. Important role of endogenous norepinephrine and epinephrine in the development of in vivo pressure-overload cardiac hypertrophy. *J Am Coll Cardiol* 38: 876-82
- Ravona-Springer R, Davidson M, Noy S. 2003. Is the distinction between Alzheimer's disease and vascular dementia possible and relevant? *Dialogues in clinical neuroscience* 5: 7-15
- Rennels ML, Nelson E. 1975. Capillary innervation in the mammalian central nervous system: an electron microscopic demonstration. *The American journal of anatomy* 144: 233-41
- Reuter B, Venus A, Heiler P, Schad L, Ebert A, et al. 2016. Development of Cerebral Microbleeds in the APP23-Transgenic Mouse Model of Cerebral Amyloid Angiopathy-A 9.4 Tesla MRI Study. *Front Aging Neurosci* 8: 170
- Revesz T, Holton JL, Lashley T, Plant G, Frangione B, et al. 2009. Genetics and molecular pathogenesis of sporadic and hereditary cerebral amyloid angiopathies. *Acta Neuropathol* 118: 115-30
- Ridder DA, Wenzel J, Muller K, Tollner K, Tong XK, et al. 2015. Brain endothelial TAK1 and NEMO safeguard the neurovascular unit. *The Journal of experimental medicine* 212: 1529-49
- Riggs KM, Spiro A, 3rd, Tucker K, Rush D. 1996. Relations of vitamin B-12, vitamin B-6, folate, and homocysteine to cognitive performance in the Normative Aging Study. *The American journal of clinical nutrition* 63: 306-14
- Rockman HA, Ross RS, Harris AN, Knowlton KU, Steinhilber ME, et al. 1991. Segregation of atrial-specific and inducible expression of an atrial natriuretic factor transgene in an in vivo murine model of cardiac hypertrophy. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 88: 8277-81
- Roher AE, Esh CL, Kokjohn TA, Castano EM, Van Vickle GD, et al. 2009. Amyloid beta peptides in human plasma and tissues and their significance for Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement* 5: 18-29
- Roman GC, Kalaria RN. 2006. Vascular determinants of cholinergic deficits in Alzheimer disease and vascular dementia. *Neurobiol Aging* 27: 1769-85
- Roman RJ. 2002. P-450 metabolites of arachidonic acid in the control of cardiovascular function. *Physiological reviews* 82: 131-85
- Roos CM, Zhang B, Palmer AK, Ogrodnik MB, Pirtskhalava T, et al. 2016. Chronic senolytic treatment alleviates established vasomotor dysfunction in aged or atherosclerotic mice. *Aging cell* 15: 973-7
- Rossi DJ, Brady JD, Mohr C. 2007. Astrocyte metabolism and signaling during brain ischemia. *Nat Neurosci* 10: 1377-86
- Rossmann MJ, Santos-Parker JR, Steward CAC, Bispham NZ, Cuevas LM, et al. 2018. Chronic Supplementation With a Mitochondrial Antioxidant (MitoQ) Improves Vascular Function in Healthy Older Adults. *Hypertension* 71: 1056-63

- Rovio S, Kareholt I, Helkala EL, Viitanen M, Winblad B, et al. 2005. Leisure-time physical activity at midlife and the risk of dementia and Alzheimer's disease. *The Lancet. Neurology* 4: 705-11
- Roy CS, Sherrington CS. 1890. On the Regulation of the Blood-supply of the Brain. *The Journal of physiology* 11: 85-158.17
- Rubbo H, Trostchansky A, Botti H, Batthyany C. 2002. Interactions of nitric oxide and peroxynitrite with low-density lipoprotein. *Biological chemistry* 383: 547-52
- Rubin LL, Staddon JM. 1999. The cell biology of the blood-brain barrier. *Annual review of neuroscience* 22: 11-28
- Ruitenbergh A, den Heijer T, Bakker SL, van Swieten JC, Koudstaal PJ, et al. 2005. Cerebral hypoperfusion and clinical onset of dementia: the Rotterdam Study. *Ann Neurol* 57: 789-94
- Ruiz-Ortega M, Lorenzo O, Ruperez M, Esteban V, Suzuki Y, et al. 2001. Role of the renin-angiotensin system in vascular diseases: expanding the field. *Hypertension* 38: 1382-7
- Saczynski JS, Siggurdsson S, Jonsson PV, Eiriksdottir G, Olafsdottir E, et al. 2009. Glycemic status and brain injury in older individuals: the age gene/environment susceptibility-Reykjavik study. *Diabetes care* 32: 1608-13
- Sadekova N, Iulita MF, Vallerand D, Muhire G, Bourmoum M, et al. 2018. Arterial stiffness induced by carotid calcification leads to cerebral gliosis mediated by oxidative stress. *Journal of hypertension* 36: 286-98
- Sadekova N, Vallerand D, Guevara E, Lesage F, Girouard H. 2013. Carotid calcification in mice: a new model to study the effects of arterial stiffness on the brain. *Journal of the American Heart Association* 2: e000224
- Safar M. 1990. Ageing and its effects on the cardiovascular system. *Drugs* 39 Suppl 1: 1-8
- Safar M, Laurent S, Safavian A, Pannier B, Asmar R. 1988. Sodium and large arteries in hypertension. Effects of indapamide. *The American journal of medicine* 84: 15-9
- Safar ME, Blacher J, Jankowski P. 2011. Arterial stiffness, pulse pressure, and cardiovascular disease-is it possible to break the vicious circle? *Atherosclerosis* 218: 263-71
- Safar ME, Jankowski P. 2010. Antihypertensive therapy and de-stiffening of the arteries. *Expert opinion on pharmacotherapy* 11: 2625-34
- Safar ME, Levy BI, Struijker-Boudier H. 2003. Current perspectives on arterial stiffness and pulse pressure in hypertension and cardiovascular diseases. *Circulation* 107: 2864-9
- Saint-Aubert L, Lemoine L, Chiotis K, Leuzy A, Rodriguez-Vieitez E, Nordberg A. 2017. Tau PET imaging: present and future directions. *Mol Neurodegener* 12: 19
- Santos CY, Snyder PJ, Wu WC, Zhang M, Echeverria A, Alber J. 2017. Pathophysiologic relationship between Alzheimer's disease, cerebrovascular disease, and cardiovascular risk: A review and synthesis. *Alzheimer's & dementia (Amsterdam, Netherlands)* 7: 69-87
- Schaffer CB, Friedman B, Nishimura N, Schroeder LF, Tsai PS, et al. 2006. Two-photon imaging of cortical surface microvessels reveals a robust redistribution in blood flow after vascular occlusion. *PLoS biology* 4: e22

- Schenk D, Barbour R, Dunn W, Gordon G, Grajeda H, et al. 1999. Immunization with amyloid-beta attenuates Alzheimer-disease-like pathology in the PDAPP mouse. *Nature* 400: 173-7
- Schneider JA, Arvanitakis Z, Bang W, Bennett DA. 2007. Mixed brain pathologies account for most dementia cases in community-dwelling older persons. *Neurology* 69: 2197-204
- Schrader J, Luders S, Kulschewski A, Hammersen F, Plate K, et al. 2005. Morbidity and Mortality After Stroke, Eprosartan Compared with Nitrendipine for Secondary Prevention: principal results of a prospective randomized controlled study (MOSES). *Stroke* 36: 1218-26
- Schraen-Maschke S, Sergeant N, Dhaenens CM, Bombois S, Deramecourt V, et al. 2008. Tau as a biomarker of neurodegenerative diseases. *Biomarkers in medicine* 2: 363-84
- Schultz BG, Patten DK, Berlau DJ. 2018. The role of statins in both cognitive impairment and protection against dementia: a tale of two mechanisms. *Translational neurodegeneration* 7: 5
- Schwartz SM, Benditt EP. 1977. Aortic endothelial cell replication. I. Effects of age and hypertension in the rat. *Circ Res* 41: 248-55
- Selkoe DJ. 1991. The molecular pathology of Alzheimer's disease. *Neuron* 6: 487-98
- Selkoe DJ. 2001. Alzheimer's disease: genes, proteins, and therapy. *Physiological reviews* 81: 741-66
- Selkoe DJ. 2002. Alzheimer's disease is a synaptic failure. *Science* 298: 789-91
- Selnes OA, Vinters HV. 2006. Vascular cognitive impairment. *Nature clinical practice. Neurology* 2: 538-47
- Semba RD, Najjar SS, Sun K, Lakatta EG, Ferrucci L. 2009. Serum carboxymethyl-lysine, an advanced glycation end product, is associated with increased aortic pulse wave velocity in adults. *Am J Hypertens* 22: 74-9
- Serrador JM, Wood SJ, Picot PA, Stein F, Kassam MS, et al. 2001. Effect of acute exposure to hypergravity (GX vs. GZ) on dynamic cerebral autoregulation. *Journal of applied physiology (Bethesda, Md. : 1985)* 91: 1986-94
- Shah GN, Mooradian AD. 1997. Age-related changes in the blood-brain barrier. *Exp Gerontol* 32: 501-19
- Shah NS, Vidal JS, Masaki K, Petrovitch H, Ross GW, et al. 2012. Midlife blood pressure, plasma beta-amyloid, and the risk for Alzheimer disease: the Honolulu Asia Aging Study. *Hypertension* 59: 780-6
- Shapiro BP, Owan TE, Mohammed SF, Meyer DM, Mills LD, et al. 2008. Advanced glycation end products accumulate in vascular smooth muscle and modify vascular but not ventricular properties in elderly hypertensive canines. *Circulation* 118: 1002-10
- Sheng M, Lu H, Liu P, Li Y, Ravi H, et al. 2017. Sildenafil Improves Vascular and Metabolic Function in Patients with Alzheimer's Disease. *J Alzheimers Dis* 60: 1351-64
- Sheng Y, Zhu L. 2018. The crosstalk between autonomic nervous system and blood vessels. *International journal of physiology, pathophysiology and pharmacology* 10: 17-28

- Shibata M, Ohtani R, Ihara M, Tomimoto H. 2004. White matter lesions and glial activation in a novel mouse model of chronic cerebral hypoperfusion. *Stroke* 35: 2598-603
- Silva GS, Koroshetz, W.J., González, R.G., Schwamm, L.H. 2011. *Acute Ischemic Stroke*. pp. 25-42. Springer Berlin Heidelberg.
- Sjogren M, Folkesson S, Blennow K, Tarkowski E. 2004. Increased intrathecal inflammatory activity in frontotemporal dementia: pathophysiological implications. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry* 75: 1107-11
- Small DH, Mok SS, Bornstein JC. 2001. Alzheimer's disease and Abeta toxicity: from top to bottom. *Nat Rev Neurosci* 2: 595-8
- Smeda JS. 1992. Cerebral vascular changes associated with hemorrhagic stroke in hypertension. *Can J Physiol Pharmacol* 70: 552-64
- Snyder HM, Corriveau RA, Craft S, Faber JE, Greenberg SM, et al. 2015. Vascular contributions to cognitive impairment and dementia including Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement* 11: 710-7
- Sochocka M, Koutsouraki ES, Gasiorowski K, Leszek J. 2013. Vascular oxidative stress and mitochondrial failure in the pathobiology of Alzheimer's disease: a new approach to therapy. *CNS & neurological disorders drug targets* 12: 870-81
- Sorond FA, Kiely DK, Galica A, Moscufo N, Serrador JM, et al. 2011. Neurovascular coupling is impaired in slow walkers: the MOBILIZE Boston Study. *Ann Neurol* 70: 213-20
- Spencer B, Masliah E. 2014. Immunotherapy for Alzheimer's disease: past, present and future. *Front Aging Neurosci* 6: 114
- Springo Z, Toth P, Tarantini S, Ashpole NM, Tucsek Z, et al. 2015. Aging impairs myogenic adaptation to pulsatile pressure in mouse cerebral arteries. *J Cereb Blood Flow Metab* 35: 527-30
- Stergiou GS, Efsthathiou SP, Skeva, II, Baibas NM, Kalkana CB, Mountokalakis TD. 2002. Assessment of drug effects on blood pressure and pulse pressure using clinic, home and ambulatory measurements. *Journal of human hypertension* 16: 729-35
- Stern Y. 2003. The concept of cognitive reserve: a catalyst for research. *Journal of clinical and experimental neuropsychology* 25: 589-93
- Stone J, Johnstone DM, Mitrofanis J, O'Rourke M. 2015. The mechanical cause of age-related dementia (Alzheimer's disease): the brain is destroyed by the pulse. *J Alzheimers Dis* 44: 355-73
- Stragier B, De Bundel D, Sarre S, Smolders I, Vauquelin G, et al. 2008. Involvement of insulin-regulated aminopeptidase in the effects of the renin-angiotensin fragment angiotensin IV: a review. *Heart failure reviews* 13: 321-37
- Sturchler-Pierrat C, Abramowski D, Duke M, Wiederhold KH, Mistl C, et al. 1997. Two amyloid precursor protein transgenic mouse models with Alzheimer disease-like pathology. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 94: 13287-92
- Suo Z, Fang C, Crawford F, Mullan M. 1997. Superoxide free radical and intracellular calcium mediate A beta(1-42) induced endothelial toxicity. *Brain research* 762: 144-52

- Suri S, Mackay CE, Kelly ME, Germuska M, Tunbridge EM, et al. 2015. Reduced cerebrovascular reactivity in young adults carrying the APOE epsilon4 allele. *Alzheimers Dement* 11: 648-57.e1
- Sweeney MD, Kisler K, Montagne A, Toga AW, Zlokovic BV. 2018a. The role of brain vasculature in neurodegenerative disorders. *Nat Neurosci* 21: 1318-31
- Sweeney MD, Montagne A, Sagare AP, Nation DA, Schneider LS, et al. 2019. Vascular dysfunction-The disregarded partner of Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement* 15: 158-67
- Sweeney MD, Sagare AP, Zlokovic BV. 2018b. Blood-brain barrier breakdown in Alzheimer disease and other neurodegenerative disorders. *Nat Rev Neurol* 14: 133-50
- Taccone FS, Su F, Pierrakos C, He X, James S, et al. 2010. Cerebral microcirculation is impaired during sepsis: an experimental study. *Critical care (London, England)* 14: R140
- Tai MH, Wang LL, Wu KL, Chan JY. 2005. Increased superoxide anion in rostral ventrolateral medulla contributes to hypertension in spontaneously hypertensive rats via interactions with nitric oxide. *Free radical biology & medicine* 38: 450-62
- Takano T, Tian GF, Peng W, Lou N, Libionka W, et al. 2006. Astrocyte-mediated control of cerebral blood flow. *Nat Neurosci* 9: 260-7
- Takata F, Dohgu S, Nishioku T, Takahashi H, Harada E, et al. 2009. Adrenomedullin-induced relaxation of rat brain pericytes is related to the reduced phosphorylation of myosin light chain through the cAMP/PKA signaling pathway. *Neuroscience letters* 449: 71-5
- Tanaka H, Dinunno FA, Monahan KD, Clevenger CM, DeSouza CA, Seals DR. 2000. Aging, habitual exercise, and dynamic arterial compliance. *Circulation* 102: 1270-5
- Tao-Cheng JH, Brightman MW. 1988. Development of membrane interactions between brain endothelial cells and astrocytes in vitro. *International journal of developmental neuroscience : the official journal of the International Society for Developmental Neuroscience* 6: 25-37
- Tarantini S, Tucsek Z, Valcarcel-Ares MN, Toth P, Gautam T, et al. 2016. Circulating IGF-1 deficiency exacerbates hypertension-induced microvascular rarefaction in the mouse hippocampus and retrosplenial cortex: implications for cerebrovascular and brain aging. *Age (Dordrecht, Netherlands)* 38: 273-89
- Tarasov KV, Sanna S, Scuteri A, Strait JB, Orru M, et al. 2009. COL4A1 is associated with arterial stiffness by genome-wide association scan. *Circulation. Cardiovascular genetics* 2: 151-8
- Tarumi T, Ayaz Khan M, Liu J, Tseng BY, Parker R, et al. 2014. Cerebral hemodynamics in normal aging: central artery stiffness, wave reflection, and pressure pulsatility. *J Cereb Blood Flow Metab* 34: 971-8
- Tarumi T, Shah F, Tanaka H, Haley AP. 2011. Association between central elastic artery stiffness and cerebral perfusion in deep subcortical gray and white matter. *Am J Hypertens* 24: 1108-13

- Tarumi T, Zhang R. 2018. Cerebral blood flow in normal aging adults: cardiovascular determinants, clinical implications, and aerobic fitness. *J Neurochem* 144: 595-608
- Teich AF, Arancio O. 2012. Is the amyloid hypothesis of Alzheimer's disease therapeutically relevant? *The Biochemical journal* 446: 165-77
- Terry RD. 2000. Cell death or synaptic loss in Alzheimer disease. *Journal of neuropathology and experimental neurology* 59: 1118-9
- Thacher TN, Silacci P, Stergiopoulos N, da Silva RF. 2010. Autonomous effects of shear stress and cyclic circumferential stretch regarding endothelial dysfunction and oxidative stress: an ex vivo arterial model. *Journal of vascular research* 47: 336-45
- Thal DR, Beach TG, Zanette M, Heurling K, Chakrabarty A, et al. 2015. [(18)F]flutemetamol amyloid positron emission tomography in preclinical and symptomatic Alzheimer's disease: specific detection of advanced phases of amyloid-beta pathology. *Alzheimers Dement* 11: 975-85
- Thal DR, Grinberg LT, Attems J. 2012. Vascular dementia: different forms of vessel disorders contribute to the development of dementia in the elderly brain. *Exp Gerontol* 47: 816-24
- Thomas WE. 1999. Brain macrophages: on the role of pericytes and perivascular cells. *Brain research. Brain research reviews* 31: 42-57
- Thorin-Trescases N, Bartolotta T, Hyman N, Penar PL, Walters CL, et al. 1997. Diameter dependence of myogenic tone of human pial arteries. Possible relation to distensibility. *Stroke* 28: 2486-92
- Thorin-Trescases N, de Montgolfier O, Pincon A, Raignault A, Caland L, et al. 2018. Impact of pulse pressure on cerebrovascular events leading to age-related cognitive decline. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 314: H1214-h24
- Thorin-Trescases N, Thorin E. 2016. Lifelong Cyclic Mechanical Strain Promotes Large Elastic Artery Stiffening: Increased Pulse Pressure and Old Age-Related Organ Failure. *The Canadian journal of cardiology* 32: 624-33
- Ting CT, Chou CY, Chang MS, Wang SP, Chiang BN, Yin FC. 1991. Arterial hemodynamics in human hypertension. Effects of adrenergic blockade. *Circulation* 84: 1049-57
- Ting CT, Yang TM, Chen JW, Chang MS, Yin FC. 1993. Arterial hemodynamics in human hypertension. Effects of angiotensin converting enzyme inhibition. *Hypertension* 22: 839-46
- Tiraboschi P, Hansen LA, Masliah E, Alford M, Thal LJ, Corey-Bloom J. 2004. Impact of APOE genotype on neuropathologic and neurochemical markers of Alzheimer disease. *Neurology* 62: 1977-83
- Toda M, Yamamoto K, Shimizu N, Obi S, Kumagaya S, et al. 2008. Differential gene responses in endothelial cells exposed to a combination of shear stress and cyclic stretch. *Journal of biotechnology* 133: 239-44
- Tokuda T, Calero M, Matsubara E, Vidal R, Kumar A, et al. 2000. Lipidation of apolipoprotein E influences its isoform-specific interaction with Alzheimer's amyloid beta peptides. *The Biochemical journal* 348 Pt 2: 359-65

- Topouchian J, Brisac AM, Pannier B, Vicaut E, Safar M, Asmar R. 1998. Assessment of the acute arterial effects of converting enzyme inhibition in essential hypertension: a double-blind, comparative and crossover study. *Journal of human hypertension* 12: 181-7
- Toth P, Csiszar A, Tucsek Z, Sosnowska D, Gautam T, et al. 2013. Role of 20-HETE, TRPC channels, and BKCa in dysregulation of pressure-induced Ca²⁺ signaling and myogenic constriction of cerebral arteries in aged hypertensive mice. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 305: H1698-708
- Toth P, Tarantini S, Csiszar A, Ungvari Z. 2017. Functional vascular contributions to cognitive impairment and dementia: mechanisms and consequences of cerebral autoregulatory dysfunction, endothelial impairment, and neurovascular uncoupling in aging. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 312: H1-h20
- Toth P, Tarantini S, Springo Z, Tucsek Z, Gautam T, et al. 2015. Aging exacerbates hypertension-induced cerebral microhemorrhages in mice: role of resveratrol treatment in vasoprotection. *Aging cell* 14: 400-8
- Toth P, Tarantini S, Tucsek Z, Ashpole NM, Sosnowska D, et al. 2014. Resveratrol treatment rescues neurovascular coupling in aged mice: role of improved cerebromicrovascular endothelial function and downregulation of NADPH oxidase. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 306: H299-308
- Traub O, Berk BC. 1998. Laminar shear stress: mechanisms by which endothelial cells transduce an atheroprotective force. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 18: 677-85
- Tsao N, Hsu HP, Wu CM, Liu CC, Lei HY. 2001. Tumour necrosis factor-alpha causes an increase in blood-brain barrier permeability during sepsis. *Journal of medical microbiology* 50: 812-21
- Tublin JM, Adelstein JM, Del Monte F, Combs CK, Wold LE. 2019. Getting to the Heart of Alzheimer Disease. *Circ Res* 124: 142-49
- Tucsek Z, Noa Valcarcel-Ares M, Tarantini S, Yabluchanskiy A, Fulop G, et al. 2017. Hypertension-induced synapse loss and impairment in synaptic plasticity in the mouse hippocampus mimics the aging phenotype: implications for the pathogenesis of vascular cognitive impairment. *GeroScience*
- Tufekci KU, Meuwissen R, Genc S, Genc K. 2012. Inflammation in Parkinson's disease. *Advances in protein chemistry and structural biology* 88: 69-132
- Undar A, Eichstaedt HC, Bigley JE, Deady BA, Porter AE, et al. 2002. Effects of pulsatile and nonpulsatile perfusion on cerebral hemodynamics investigated with a new pediatric pump. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery* 124: 413-6
- Upala S, Wirunsawanya K, Jaruvongvanich V, Sanguankeo A. 2017. Effects of statin therapy on arterial stiffness: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trial. *International journal of cardiology* 227: 338-41
- Urrutia PJ, Mena NP, Nunez MT. 2014. The interplay between iron accumulation, mitochondrial dysfunction, and inflammation during the execution step of neurodegenerative disorders. *Frontiers in pharmacology* 5: 38
- Uttara B, Singh AV, Zamboni P, Mahajan RT. 2009. Oxidative stress and neurodegenerative diseases: a review of upstream and downstream antioxidant therapeutic options. *Current neuropharmacology* 7: 65-74

- Vacek TP, Rehman S, Neamtu D, Yu S, Givimani S, Tyagi SC. 2015. Matrix metalloproteinases in atherosclerosis: role of nitric oxide, hydrogen sulfide, homocysteine, and polymorphisms. *Vascular health and risk management* 11: 173-83
- van de Haar HJ, Burgmans S, Jansen JF, van Osch MJ, van Buchem MA, et al. 2016. Blood-Brain Barrier Leakage in Patients with Early Alzheimer Disease. *Radiology* 281: 527-35
- van Exel E, Gussekloo J, Houx P, de Craen AJ, Macfarlane PW, et al. 2002. Atherosclerosis and cognitive impairment are linked in the elderly. The Leiden 85-plus Study. *Atherosclerosis* 165: 353-9
- Venkat P, Chopp M, Zacharek A, Cui C, Landschoot-Ward J, et al. 2018. Sildenafil treatment of vascular dementia in aged rats. *Neurochem Int*
- Verbeek MM, de Waal RM, Schipper JJ, Van Nostrand WE. 1997. Rapid degeneration of cultured human brain pericytes by amyloid beta protein. *J Neurochem* 68: 1135-41
- Vergheze J, LeValley A, Derby C, Kuslansky G, Katz M, et al. 2006. Leisure activities and the risk of amnesic mild cognitive impairment in the elderly. *Neurology* 66: 821-7
- Vinters HV, Ellis WG, Zarow C, Zaias BW, Jagust WJ, et al. 2000. Neuropathologic substrates of ischemic vascular dementia. *Journal of neuropathology and experimental neurology* 59: 931-45
- Viswanathan A, Rocca WA, Tzourio C. 2009. Vascular risk factors and dementia: how to move forward? *Neurology* 72: 368-74
- Vital SA, Terao S, Nagai M, Granger DN. 2010. Mechanisms underlying the cerebral microvascular responses to angiotensin II-induced hypertension. *Microcirculation (New York, N.Y. : 1994)* 17: 641-9
- Vlachopoulos C, Hirata K, O'Rourke MF. 2003. Effect of sildenafil on arterial stiffness and wave reflection. *Vascular medicine (London, England)* 8: 243-8
- Vlachopoulos C, O'Rourke, M., Nichols, W. . 2011. *McDonald's Blood Flow in Arteries*. .
- Voghel G, Thorin-Trescases N, Farhat N, Nguyen A, Villeneuve L, et al. 2007. Cellular senescence in endothelial cells from atherosclerotic patients is accelerated by oxidative stress associated with cardiovascular risk factors. *Mechanisms of ageing and development* 128: 662-71
- Volterra A, Meldolesi J. 2005. Astrocytes, from brain glue to communication elements: the revolution continues. *Nat Rev Neurosci* 6: 626-40
- von Tell D, Armulik A, Betsholtz C. 2006. Pericytes and vascular stability. *Experimental cell research* 312: 623-9
- Wagenseil JE, Mecham RP. 2009. Vascular extracellular matrix and arterial mechanics. *Physiological reviews* 89: 957-89
- Wagenseil JE, Mecham RP. 2012. Elastin in large artery stiffness and hypertension. *Journal of cardiovascular translational research* 5: 264-73
- Wakabayashi T, De Strooper B. 2008. Presenilins: members of the gamma-secretase quartets, but part-time soloists too. *Physiology (Bethesda)* 23: 194-204

- Waldstein SR, Rice SC, Thayer JF, Najjar SS, Scuteri A, Zonderman AB. 2008. Pulse pressure and pulse wave velocity are related to cognitive decline in the Baltimore Longitudinal Study of Aging. *Hypertension* 51: 99-104
- Walker AE, Henson GD, Reihl KD, Morgan RG, Dobson PS, et al. 2015. Greater impairments in cerebral artery compared with skeletal muscle feed artery endothelial function in a mouse model of increased large artery stiffness. *The Journal of physiology* 593: 1931-43
- Wallays G, Nuyens D, Silasi-Mansat R, Souffreau J, Callaerts-Vegh Z, et al. 2011. Notch3 Arg170Cys knock-in mice display pathologic and clinical features of the neurovascular disorder cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 31: 2881-8
- Wang BW, Lu E, Mackenzie IR, Assaly M, Jacova C, et al. 2012. Multiple pathologies are common in Alzheimer patients in clinical trials. *The Canadian journal of neurological sciences. Le journal canadien des sciences neurologiques* 39: 592-9
- Wang JC, Bennett M. 2012. Aging and atherosclerosis: mechanisms, functional consequences, and potential therapeutics for cellular senescence. *Circ Res* 111: 245-59
- Webb AJ, Simoni M, Mazzucco S, Kuker W, Schulz U, Rothwell PM. 2012. Increased cerebral arterial pulsatility in patients with leukoaraiosis: arterial stiffness enhances transmission of aortic pulsatility. *Stroke* 43: 2631-6
- Wei HS, Kang H, Rasheed ID, Zhou S, Lou N, et al. 2016. Erythrocytes Are Oxygen-Sensing Regulators of the Cerebral Microcirculation. *Neuron* 91: 851-62
- Weinachter SN, Blavet N, O'Donnell RA, MacKenzie ET, Rapin JR. 1990. Models of hypoxia and cerebral ischemia. *Pharmacopsychiatry* 23 Suppl 2: 94-7; discussion 98
- Weng NP. 2006. Aging of the immune system: how much can the adaptive immune system adapt? *Immunity* 24: 495-9
- Westerhof N, Lankhaar JW, Westerhof BE. 2009. The arterial Windkessel. *Medical & biological engineering & computing* 47: 131-41
- Widlansky ME, Gokce N, Keaney JF, Jr., Vita JA. 2003. The clinical implications of endothelial dysfunction. *J Am Coll Cardiol* 42: 1149-60
- Williamson JD, Pajewski NM, Auchus AP, Bryan RN, Chelune G, et al. 2019. Effect of Intensive vs Standard Blood Pressure Control on Probable Dementia: A Randomized Clinical Trial. *Jama* 321: 553-61
- Winocur G, Greenwood CE. 2005. Studies of the effects of high fat diets on cognitive function in a rat model. *Neurobiol Aging* 26 Suppl 1: 46-9
- Wirth M, Madison CM, Rabinovici GD, Oh H, Landau SM, Jagust WJ. 2013. Alzheimer's disease neurodegenerative biomarkers are associated with decreased cognitive function but not beta-amyloid in cognitively normal older individuals. *J Neurosci* 33: 5553-63
- Wolters FJ, Zonneveld HI, Hofman A, van der Lugt A, Koudstaal PJ, et al. 2017. Cerebral Perfusion and the Risk of Dementia: A Population-Based Study. *Circulation* 136: 719-28

- Wright JW, Harding JW. 2008. The angiotensin AT4 receptor subtype as a target for the treatment of memory dysfunction associated with Alzheimer's disease. *Journal of the renin-angiotensin-aldosterone system : JRAAS* 9: 226-37
- Wright JW, Yamamoto BJ, Harding JW. 2008. Angiotensin receptor subtype mediated physiologies and behaviors: new discoveries and clinical targets. *Prog Neurobiol* 84: 157-81
- Yamazaki Y, Kanekiyo T. 2017. Blood-Brain Barrier Dysfunction and the Pathogenesis of Alzheimer's Disease. *International journal of molecular sciences* 18
- Yamori Y, Horie R, Handa H, Sato M, Fukase M. 1976. Pathogenetic similarity of strokes in stroke-prone spontaneously hypertensive rats and humans. *Stroke* 7: 46-53
- Yan P, Zhu A, Liao F, Xiao Q, Kraft A, et al. 2015. Minocycline reduces spontaneous hemorrhage in mouse models of cerebral amyloid angiopathy. *Stroke* 46: 1633-40
- Yaneva-Sirakova T, Tarnovska-Kadreva R, Traykov L. 2012. Pulse pressure and mild cognitive impairment. *Journal of cardiovascular medicine (Hagerstown, Md.)* 13: 735-40
- Yang CaC-J, Eduardo 2017. Role of Matrix Metalloproteinases in Brain Edema In *Brain edema From Molecular Mechanisms to Clinical Practice*, pp. 199-215: Elsevier
- Yang G, Chen G, Ebner TJ, Iadecola C. 1999. Nitric oxide is the predominant mediator of cerebellar hyperemia during somatosensory activation in rats. *The American journal of physiology* 277: R1760-70
- Yang Y, Zhang J, Liu H, Wang J, Xin J, Deng M. 2013. Changes in levels of hypoxia-induced mediators in rat hippocampus during chronic cerebral hypoperfusion. *Neurochemical research* 38: 2433-9
- Yankner BA, Lu T, Loerch P. 2008. The aging brain. *Annual review of pathology* 3: 41-66
- Yew B, Nation DA. 2017. Cerebrovascular resistance: effects on cognitive decline, cortical atrophy, and progression to dementia. *Brain : a journal of neurology* 140: 1987-2001
- Yuede CM, Zimmerman SD, Dong H, Kling MJ, Bero AW, et al. 2009. Effects of voluntary and forced exercise on plaque deposition, hippocampal volume, and behavior in the Tg2576 mouse model of Alzheimer's disease. *Neurobiol Dis* 35: 426-32
- Yusuf S, Teo KK, Pogue J, Dyal L, Copland I, et al. 2008. Telmisartan, ramipril, or both in patients at high risk for vascular events. *The New England journal of medicine* 358: 1547-59
- Zannis VI, Breslow JL. 1981. Human very low density lipoprotein apolipoprotein E isoprotein polymorphism is explained by genetic variation and posttranslational modification. *Biochemistry* 20: 1033-41
- Zarrinkoob L, Ambarki K, Wahlin A, Birgander R, Carlberg B, et al. 2016. Aging alters the dampening of pulsatile blood flow in cerebral arteries. *J Cereb Blood Flow Metab* 36: 1519-27
- Zheng W, Christensen LP, Tomanek RJ. 2008. Differential effects of cyclic and static stretch on coronary microvascular endothelial cell receptors and vasculogenic/angiogenic responses. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 295: H794-800

- Zlokovic BV. 2002. Vascular disorder in Alzheimer's disease: role in pathogenesis of dementia and therapeutic targets. *Advanced drug delivery reviews* 54: 1553-9
- Zlokovic BV. 2005. Neurovascular mechanisms of Alzheimer's neurodegeneration. *Trends in neurosciences* 28: 202-8
- Zlokovic BV. 2008. The blood-brain barrier in health and chronic neurodegenerative disorders. *Neuron* 57: 178-201
- Zlokovic BV. 2011. Neurovascular pathways to neurodegeneration in Alzheimer's disease and other disorders. *Nat Rev Neurosci* 12: 723-38
- Zonneveld HI, Loehrer EA, Hofman A, Niessen WJ, van der Lugt A, et al. 2015. The bidirectional association between reduced cerebral blood flow and brain atrophy in the general population. *J Cereb Blood Flow Metab* 35: 1882-7
- Zou K, Yamaguchi H, Akatsu H, Sakamoto T, Ko M, et al. 2007. Angiotensin-converting enzyme converts amyloid beta-protein 1-42 (Abeta(1-42)) to Abeta(1-40), and its inhibition enhances brain Abeta deposition. *J Neurosci* 27: 8628-35