

Université de Montréal

# **Étude du rôle de l'angiotensine II sur les fonctions cérébrales.**

Par  
Sonia Duchemin

Département de Pharmacologie et de Physiologie  
Faculté de Médecine

Thèse présentée à la Faculté des études supérieures  
en vue de l'obtention du grade de Philosophiae Doctor (Ph.D.)  
en pharmacologie

Août 2016

© Sonia Duchemin, 2016

Université de Montréal

Faculté des études supérieures et postdoctorales

La thèse intitulée :

**Étude du rôle de l'angiotensine II sur les fonctions  
cérébrales**

Présentée par :

Sonia Duchemin

a été évaluée par le jury suivant :

Dre Hélène Girouard : Directrice de recherche  
Dre Guylaine Ferland, représentante du Doyen  
Dr Jonathan Brouillette, président-rapporteur  
Dre Anne Monique-Nuyt, membre du jury  
Dr Patrice Brassard : Examineur externe

## Résumé

Malgré toutes les campagnes de prévention, l'hypertension artérielle touche encore un adulte sur trois à travers le monde et reste la première cause de maladies cardiovasculaires. Les effets de l'hypertension artérielle à également un impact sur les fonctions cérébrales. L'hypertension artérielle est identifiée comme étant un facteur de risque important dans le développement de troubles cognitifs, allant du déficit cognitif léger (DCL), aux démences vasculaires et la maladie d'Alzheimer.

Des études cliniques ont identifiés le système rénine-angiotensine (SRA) comme étant la pièce centrale dans l'incidence des accidents cérébrovasculaires et des maladies neurodégénératives. En effet, des inhibiteurs du SRA présentent des effets bénéfiques sur le risque d'accidents cérébrovasculaire, de dysfonctions cognitives et de maladies neurodégénératives, supérieurs aux autres antihypertenseurs. En utilisant un modèle d'hypertension artérielle, provoquée par la perfusion chronique d'angiotensine II (Ang II), un peptide central dans l'initiation et le maintien de l'hypertension artérielle, nous avons voulu déterminer comment l'hypertension artérielle et cette hormone affecte la réponse cérébrovasculaire et la mémoire. L'hypertension artérielle étant maintenant reconnue comme étant une maladie inflammatoire chronique, nous nous sommes aussi intéressé à l'effet de l'interaction entre le système immunitaire et l'Ang II sur la régulation cérébrovasculaire. Il a été démontré que l'hypertension artérielle, par l'entremise de l'Ang II, augmente le stress oxydatif, les cytokines pro-inflammatoires, et l'infiltration de leucocytes et de macrophages dans les artères, causant ainsi des dysfonctions vasculaires. Plusieurs études sur les artères mésentériques ont démontré que ces effets sont renversés par les cellules CD4+CD25+ Foxp3+ ou lymphocytes T régulateurs (Treg). Cependant, aucune étude n'a été faite sur la manière dont ce traitement affecte le couplage neurovasculaire (CNV), lequel est essentiel au maintien de l'homéostasie cérébrale et donc des fonctions neuronales.

Le CNV est défini comme étant l'augmentation du débit sanguin en réponse à une activité neuronale et dépend de la collaboration entre les composantes de l'unité neurovasculaire : neurones, astrocytes, microglies et cellules vasculaires. Nous avons démontré que les Treg rétablissent la réponse cérébrovasculaire à une stimulation des vibrisses, un modèle

de CNV, chez les souris perfusées à l'Ang II. Sachant que les Treg modulent l'activité des lymphocytes T effectrices (Th) qui sont responsables de la réponse inflammatoire, nous avons également investigué les effets des Th sur la réactivité cérébrovasculaire. Nous avons observé que les Th altèrent la réponse vasculaire à une stimulation des vibrisses. Les Treg ont la possibilité d'agir par contact direct avec les Th ou par la libération de cytokines anti-inflammatoires, tels que l'interleukine-10 (IL-10) ou le facteur de croissance transformant (TGF)- $\beta$ . En utilisant des Treg, provenant de souris, dont le gène codant pour l'IL-10 a été invalidé, nous avons découvert que, sans la possibilité de produire l'IL-10 la réponse cérébrovasculaire est affectée de manière similaire à une augmentation des Th. Ces résultats suggèrent que la réponse des Treg dépend de leur production d'IL-10.

Par la suite, nous avons voulu savoir si les effets de l'Ang II sur les fonctions cérébrovasculaires coïncidaient avec une diminution des fonctions cognitives. Nous avons pu déterminer que l'Ang II cause un déficit d'acquisition de la mémoire spatiale. Ainsi, si les déficits cérébrovasculaires se manifestent une semaine après le début de la perfusion d'Ang II, la mémoire n'est significativement affectée qu'après trois semaines de perfusion. Ce déficit est accompagné d'une diminution du contenu synaptique dans la voie perforante de l'hippocampe, et d'une augmentation des  $\beta$ -amyloïdes dans le cortex. L'accumulation de  $\beta$ -amyloïdes dans le cortex et l'atteinte de la voie perforante, reliée au cortex entorhinal, sont des caractéristiques principalement observés chez les patients atteints de la maladie d'Alzheimer.

Ces études démontrent que 1) les cellules immunitaires et leurs cytokines jouent un rôle crucial dans le maintien du débit sanguin cérébral, en particulier dans un modèle d'hypertension causée par l'Ang II et que 2) l'Ang II altère les connections synaptiques, favorise l'accumulation de protéines amyloïdes et affecte les fonctions cognitives. Le rôle de l'inflammation dans ces altérations cérébrales provoquées par l'Ang II reste à démontrer.

**Mots-clés :** Angiotensine II, Mémoire, Lymphocyte T, couplage neurovasculaire, endothélium.

## **Abstract**

Despite the massive prevention campaign in place, hypertension (HT) still concern one third of the world's population and remains the first risk factor for cardiovascular diseases. HT is also an important risk factor in the development of cognitive dysfunctions from mild cognitive impairment (MCI) to vascular dementias and Alzheimer's disease.

Previous studies have identified the Renin-Angiotensin System (RAS) as the centerpiece in stroke promotion and age-associated neurodegenerative diseases. For example, recent clinical trials provided evidence that RAS inhibitors have beneficial effects on stroke risk, cognitive dysfunctions and neurodegenerative diseases, which are superiors to other anti-hypertensive drugs. Using a model of HT induced by chronic perfusion of Ang II, a peptide involved in the onset and maintenance of HT, we studied the effect of HT and Ang II on the cerebrovascular control and memory in mice. HT, now recognized as a chronic inflammatory disease, we also studied the effect of the interaction between the immune system Ang II on cerebrovascular regulation. The literature showed that HT, through the production of Ang II, increase oxidative stress, pro-inflammatory cytokines, lymphocytes and macrophages infiltration in the artery walls triggering vascular dysfunctions. Previous studies, using mesenteric arteries, demonstrated that CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> Foxp3<sup>+</sup>, also called T regulatory lymphocytes (Treg), reverse the vascular inflammation induced by Ang II. However, the influence of T lymphocytes on neurovascular coupling (NVC), a mechanism essential to brain homeostasis, and thus to neuronal functions had never been investigated.

NVC is defined by the vascular response to a neuronal activity and depends on the collaboration between components of the neurovascular unit composed of the neurons, astrocytes, microglia and arteries. We demonstrated that Treg normalizes the cerebrovascular responses to whisker stimulations, a model of NVC, in mice chronically perfused with Ang II. Treg cells can modulate the activity of T effector cells (Th) which participate in the inflammatory response. We consequently investigated the effect of Th on vascular reactivity. Interestingly, Th alters the vascular response to whisker stimulation. Treg have the possibility to regulate the Th response through direct interaction or through the production of anti-inflammatory cytokines such as interleukin-10 or transforming growth factor (TGF)- $\beta$ . Using Treg from IL-10 knock-out mice, we discovered that, without the ability to produce IL-10, the cerebrovascular response is altered

in the same manner as with Th. We also found that IL-10 restores the NVC without normalizing the endothelial response in Ang II-perfused mice. These data suggest that the Treg effect depends on IL-10 production.

Following these results, we searched to know whether the effect of Ang II in cerebrovascular functions correlated with a decrease in cognitive functions. We showed that a chronic perfusion of Ang II caused a spatial memory impairment. Therefore, even if the Ang II cause cerebrovascular dysfunctions shortly after perfusion, the memory impairment only shows after 3 weeks. This deficit is correlated with a decrease in synaptophysine content in the perforant pathway of the hippocampus and with an increase in  $\beta$ -amyloid in the cortex. The perforant pathway is connected to the entorhinal cortex which is one of the first brain region altered in Alzheimer's disease patients.

This study demonstrates that: 1) immune cells and their cytokines play a key role in the regulation of cerebral blood flow, particularly in a model of hypertension triggered by Ang II; and that Ang II alters synaptic connections, fosters the accumulation of amyloid proteins and is impairs cognitive functions. The role of inflammation in these brain defects induced by Ang II remains to be demonstrated.

**Keywords:** Angiotensin II, Memory, T lymphocyte, neurovascular coupling.

# Table des matières

Résumé.....	i
Abstract.....	iii
Table des matières.....	v
Liste des figures .....	viii
Liste des abréviations.....	ix
Remerciements.....	xi
Première partie : Introduction .....	- 1 -
1. L’hypertension .....	- 1 -
1.1 Histoire.....	- 1 -
1.2 Régulation de la pression artérielle .....	- 2 -
1.3 Anatomie du système cérébrovasculaire.....	- 3 -
1.4 Effets de l’hypertension artérielle sur la structure vasculaire .....	- 5 -
1.5 Régulation du débit sanguin cérébral.....	- 6 -
2. Les fonctions cognitives .....	- 11 -
2.1 Anatomie de la mémoire .....	- 11 -
2.2 Évaluation de la cognition .....	- 17 -
2.3 Le couplage neurovasculaire et les fonctions cognitives .....	- 19 -
2.4 Les dysfonctions cognitives chez les patients hypertendus .....	- 21 -
2.5 L’anxiété chez les patients hypertendus .....	- 22 -
3. Le système rénine-angiotensine II .....	- 23 -
3.1 Régulation de la pression artérielle par le système rénine-angiotensine .....	- 23 -
3.2 Mécanismes d’activation des récepteurs AT1 .....	- 27 -
3.3 Fonctions du système rénine-angiotensine sur la cognition .....	- 33 -
3.4 Maladie d’Alzheimer et angiotensine II .....	- 36 -
4. Le système immunitaire .....	- 40 -
4.1 Généralités .....	- 40 -
4.1 Inflammation vasculaire et hypertension .....	- 42 -

4.3 Le rôle du système immunitaire dans l'hypertension .....	- 44 -
4.4 Les lymphocytes T .....	- 45 -
5. Objectifs .....	- 48 -
Deuxième partie : Publications .....	- 49 -
Résumé de l'étude 1 .....	- 49 -
Étude 1 (Publiée).....	- 51 -
Chronic perfusion of angiotensin II causes cognitive dysfunctions and anxiety in mice-	51
-	
Abstract .....	- 52 -
Introduction.....	- 52 -
Methods.....	- 53 -
Results.....	- 56 -
Discussion .....	- 57 -
References.....	- 60 -
Figure legends .....	- 64 -
Figures.....	- 65 -
Résumé de l'étude 2 (Non-publiée) .....	- 69 -
Étude 2 .....	- 71 -
Chronic subpressive angiotensin II decrease synaptophysin and increase the soluble form of amyloid $\beta$ .....	- 71 -
Abstract.....	- 71 -
Introduction.....	- 72 -
Methods.....	- 74 -
Results.....	- 77 -
Discussion .....	- 78 -
References.....	- 80 -
Figure legends .....	- 96 -
Figures.....	- 97 -
Résumé de l'étude 3 (non-publiée) .....	- 100 -
Étude 3 .....	- 102 -



IL-10 producing T lymphocytes restore angiotensin II induced neurovascular impairment ... -	
102 -	
Abstract.....	- 103 -
Introduction.....	- 104 -
Methods.....	- 105 -
Results.....	- 107 -
Discussion .....	- 109 -
References.....	- 111 -
Figure legends .....	- 127 -
Figures.....	- 129 -
Troisième partie : Discussion.....	- 133 -
Conclusion .....	- 141 -
Bibliographie.....	- 142 -

## Liste des figures

Figure 1.	L'unité neurovasculaire .....	- 7 -
Figure 2.	Projections de l'hippocampe.....	- 15 -
Figure 3.	Anatomie de l'hippocampe .....	- 16 -
Figure 4.	Le système rénine-angiotensine .....	- 25 -
Figure 5.	Mécanisme d'activation des récepteurs AT1 dans les cellules musculaires lisses ...	- 28 -
Figure 6.	Mécanisme d'activation des récepteurs AT1 dans les cellules endothéliales ...	- 29 -
Figure 7.	Mécanisme d'activation des récepteurs AT1 dans les neurones.....	- 31 -
Figure 8.	Mécanisme de formation des $\beta$ -amyloïdes .....	- 36 -
Figure 9.	Mécanismes impliqués dans la relation entre l'inflammation vasculaire et l'hypertension artérielle .....	- 43 -

## Liste des abréviations

Ach: acétylcholine  
Ang II : angiotensine II  
APP: protéine précurseur de l'amyloïde  
AT1 : récepteur de l'angiotensine II de type 1  
AT2 : récepteur de l'angiotensine II de type 2  
CA1 : corne d'ammon 1 de l'hippocampe  
CA3 : corne d'ammon 3 de l'hippocampe  
CMH: complexe majeur d'histocompatibilité  
CNV : couplage neurovasculaire  
COX : cyclo-oxygénase  
CTLA-4 : antigène-4 des lymphocytes T cytotoxiques  
DCL : déficit cognitif léger  
DG : gyrus denté de l'hippocampe  
EET : acide époxyeicosatriénoïque  
eNOS : synthase de monoxyde d'azote endothéliale  
GCs : guanilyl cyclase soluble  
ICAM-1 : molécule d'adhésion intracellulaire 1  
IL-10 : interleukine-10  
iNOS : synthase de monoxyde d'azote inductible  
MCT : mémoire à court terme  
MDT : mémoire de travail  
NADPH: nicotinamide adénine dinucléotide phosphate  
NF- $\kappa$ B : facteur nucléaire- $\kappa$ B  
NO : monoxyde d'azote  
OCV : organe circumventriculaire  
OPV : organe périventriculaire  
PARP : enzyme de réparation de l'ADN  
PGE2 : prostaglandine E2  
PKC : protéine kinase C  
PLC : phospholipase C  
SCID : déficit immunitaire combiné sévère  
SRA : système rénine-angiotensine  
Th : lymphocyte T helper (ou auxiliaire)  
TLR : récepteurs de type Toll  
Treg : lymphocyte T régulateur  
VCAM : molécule d'adhésion vasculaire 1

*À ma famille.*

## Remerciements

*Pendant ce doctorat, j'ai eu la chance de côtoyer de près, ou de loin, un bon nombre de personnes, aussi extraordinaire les unes que les autres, qui m'ont inspiré et auprès desquels j'ai évolué en la personne que je suis aujourd'hui. Pour cela, je tiens à remercier, tout d'abord ma directrice de recherche, Hélène Girouard pour m'avoir accueillie dans son laboratoire et donné l'opportunité de travailler sur tant de projets différents. Je la remercie pour sa patience, son calme légendaire et son aide précieuse tout au long de ces années.*

*Je remercie également, Dre Guylaine Ferland, Dr Jonathan Brouillette, Dre Anne Monique-Nuyt, et Dr Patrice Brassard d'avoir si gentiment accepté d'évaluer ma thèse malgré le temps qu'elle a pris à arriver.*

*Je remercie Dre Ferland, Dre Hamel et Dre Vaucher d'avoir pris le temps de discuter de mes résultats et de m'avoir aidé sur plusieurs techniques.*

*Je remercie Dr Cardinal pour son soutien pour les demandes de bourses, sa gentillesse et sa disponibilité malgré son emploi du temps chargé.*

*Je remercie du fond du cœur tous les membres de mon laboratoire, présent et passé. Gervais, Kelly, Lin, Maryam et Nasr, mais aussi Ada, Michael, Elie-Anna, Anne-Marie et Melissa qui ont commencé avec moi et sans qui la vie au laboratoire n'aurait pas été la même. Je remercie aussi Diane Vallerand pour son aide et ses précieux encouragements.*

*Je remercie Sefika qui a su être là dans les moments stratégiques pour sa gentillesse, son écoute et sa générosité. Je veux remercier aussi Keddy et Fatma qui m'ont encouragée et qui sont à mes côtés depuis toujours.*

*Je remercie particulièrement Marie-Josée, Aurore, Liana, Aurélie et Sabrina qui ont été d'un soutien inestimable, sur qui j'ai pu compter pour emprunter des solutions, mais aussi pour leur amitié, les pauses café et les soirées inoubliables.*

*Je remercie, tout particulièrement, ma mère, Isabelle, mon beau-père, Jean et mon frère, Pierre sans qui je n'aurais pu arriver jusque-là.*

# Première partie : Introduction

## 1. L'hypertension

### 1.1 Histoire

L'hypertension artérielle est un concept relativement nouveau. Même s'il semble que les Égyptiens se soient déjà penchés sur le sujet de la pression artérielle, ce n'est pas avant le milieu du 18<sup>ème</sup> siècle que l'on s'intéresse à la mesure de la pression artérielle, de par les travaux de Stephen Hales, un physiologiste et inventeur Britannique. Hales mesura pour la première fois la pression artérielle en insérant un tube de cuivre dans l'artère fémorale d'une jument, constatant ainsi que le volume changeait à chaque battement cardiaque. Cette méthode plutôt archaïque d'étude ne lui a pas permis de continuer ses recherches sur le sujet et il a fallu attendre l'invention du manomètre par Poiseuille, en 1828 à Paris, pour marquer le début de l'étude de la pression artérielle. Poiseuille reliait le manomètre à une canule qu'il insérait dans l'artère fémorale des animaux étudiés. De cette manière il était capable de mesurer la pression artérielle dans des artères, mesurant jusqu'à 2mm de diamètre. Il a ainsi pu démontrer que la pression restait constante dans les petites artères et qu'elle ne dépendait pas de la pression veineuse. Carl Ludwig relia un stylo attaché à un cylindre à l'appareil de Poiseuille pour former le kymographe en 1847, qui permettait d'enregistrer sur papier les mesures de pression artérielle. Le caractère invasif de ce type de mesure permettait d'imaginer que ces méthodes étaient difficilement applicables en clinique et il a fallu attendre 1855, date à laquelle Dr Vierordt postula qu'il était possible de mesurer la pression artérielle de manière indirecte, en se fiant à la pression nécessaire pour arrêter le pouls radial. Ce principe a été repris par Étienne- Jules Marey, en 1860, qui a relié l'appareil de Poiseuille à un brassard rempli d'eau. La pression du brassard était augmentée jusqu'à ce que le tracé soit linéaire, le chiffre indiqué par le manomètre représentait alors la pression artérielle systolique. Samuel Siegfried Karl Ritter Von Basch a été le premier à utiliser la colonne de mercure pour déterminer la pression artérielle. Cependant, ce n'est pas avant l'ajout du stéthoscope par un chirurgien Russe du nom de Nicolaï Korotkoff et la modification du brassard pour qu'il contienne de l'air et non de l'eau par Pierre Carle Édouard Potain en

1889, que le sphygmomanomètre a pu enfin gagner en popularité auprès du corps médical, démocratisant ainsi son utilisation (Booth, 1977).

A la fin du 19<sup>ème</sup> siècle il est donc possible de mesurer la pression artérielle systématiquement et d'établir une corrélation avec différents états de santé. Ainsi Potain, à Paris, multiplie les mesures et peut, par exemple, associer une faible pression à la fièvre typhoïde et une néphrite à une pression artérielle élevée (Postel-Vinay, 1996). Ce type d'observations se multiplie et c'est au début du 20<sup>ème</sup> siècle, aux États-Unis, que les standards d'hypertension artérielle sont établis. Il a alors été déterminé qu'une pression artérielle au-dessus de 140/90 mmHg, au moins 25% du temps sur une période de 24 heures, était présente chez 5-10% de la population qui souffrait de maladies cardiovasculaires et rénales. Ces chiffres sont alors définis comme étant le seuil à ne pas dépasser et restent, à ce jour, l'étalon de référence dans le diagnostic de l'hypertension artérielle.

S'ensuit le concept d'hypertension artérielle dite secondaire dont la cause est connue. Alors que cette dernière, ne représentent qu'une faible portion des patients souffrant d'hypertension artérielle, les médecins de l'époque pensaient que dans les autres cas, l'augmentation de la pression artérielle était essentielle au maintien de la perfusion périphérique et centrale. Par conséquent, cette idée a donné lieu au nom d'hypertension artérielle essentielle, pour les formes d'hypertension artérielle n'ayant pas de cause apparente (Johnson et al., 2008).

## **1.2 Régulation de la pression artérielle**

Le maintien de la pression artérielle dans l'ensemble du système vasculaire est géré par le débit cardiaque, la résistance périphérique et le volume sanguin. Ces facteurs sont mis en relations dans la formule suivante : la pression artérielle est égale au débit cardiaque multiplié par la résistance périphérique. Le débit cardiaque est le volume de sang éjecté à chaque contraction du cœur ou systole et géré principalement par le retour veineux. La résistance périphérique maintient une pression moyenne adéquate en modifiant le diamètre des vaisseaux sanguins et le volume sanguin qui est modulé par la rétention de sodium dans le rein.

Deux types de mécanismes sont impliqués dans la régulation de la pression artérielle : les mécanismes de régulation à court terme et ceux à long terme.

Les mécanismes de régulation à court terme sont activés lors d'un stress ponctuel, tel qu'une activité physique. Dans ce cas, les centres cardiaques et le centre vasomoteur, formés de neurones sympathiques situés dans le bulbe rachidien, causent une vasoconstriction pour augmenter la pression artérielle. Ces fibres sympathiques passent à travers la moelle épinière (T1 à L2) pour ensuite aller innervier la couche de muscles lisses des vaisseaux sanguins et provoquer une vasoconstriction par la libération de noradrénaline. Toute augmentation de l'activité du système sympathique causera une vasoconstriction et donc une augmentation de la pression artérielle.

L'activité de ce centre vasomoteur est modifiée par l'activation des barorécepteurs et des chimiorécepteurs. Les barorécepteurs sont sensibles à l'étirement des artères par la pression artérielle. Ceux-ci sont situés dans les sinus carotidiens, le sinus de l'aorte et surtout dans la paroi de presque toutes les grosses artères. Les chimiorécepteurs, présents dans la crosse de l'aorte et dans le corpuscule carotidien, sont sensible aux modifications de gaz sanguins et provoquent une vasoconstriction qui favorise le retour veineux vers le cœur et les poumons. L'action de ces récepteurs permet un ajustement rapide de la pression artérielle qui empêche les variations de pression artérielle transitoires, lors du passage de la position couché à debout, par exemple. D'autres substances telles que l'adrénaline et la noradrénaline, l'endothéline, l'angiotensine II (Ang II) et le monoxyde d'azote, agiront directement sur le centre vasomoteur et les cellules musculaires lisses pour moduler la pression artérielle.

Les mécanismes de régulations à longs termes, dépendants du rein, sont mis en place lorsque que les valeurs de pression artérielle se maintiennent à la hausse. Dans ce cas, l'activation du système rénine-angiotensine-aldostérone sera responsable de maintenir une pression artérielle constante par la production d'Ang II, résultant d'une cascade de réaction enzymatiques initiée par le rein. Ce mécanisme de régulation à long terme est également fortement impliqué dans le maintien de l'hypertension artérielle qui sera discuté dans les chapitres suivants (Marieb, 2008).

### **1.3 Anatomie du système cérébrovasculaire**

L'hypertension artérielle touche le réseau vasculaire dans son ensemble et inclus le système cérébrovasculaire. La vascularisation cérébrale possède une organisation particulière et une de ses fonctions est d'isoler, presque complètement, le tissu cérébral des éléments présents dans la circulation sanguine par la formation de la barrière-hématoencéphalique. L'autre est



d'assurer un débit sanguin constant, nécessaire à l'oxygénation et à l'apport en nutriments essentiels aux fonctions du tissu cérébral. Un défaut dans la régulation du débit sanguin cérébral ou une diminution de la perfusion peut avoir des conséquences importantes sur les fonctions cérébrales.

Le réseau d'artères cérébrales est formé à partir des quatre artères principales : les carotides internes et vertébrales, droites et gauche. L'artère carotide gauche a pour origine la crosse aortique, alors que la carotide droite naît du tronc brachio-céphalique. Les artères vertébrales naissent des artères sous-clavières. Les artères vertébrales se rejoignent pour former l'artère basilaire, qui s'anastomose avec les carotides internes par le biais des artères communicantes antérieures et postérieures, pour former le cercle de Willis. Ce dernier constitue une anastomose circulaire qui permet de maintenir une irrigation sur l'ensemble du cerveau en cas d'obstruction d'une des quatre artères principales, permettant ainsi de rééquilibrer l'apport sanguin et de prévenir une ischémie majeure.

Les artères antérieures, postérieures et moyennes naissent du Cercle de Willis pour se diviser et assurer l'irrigation d'une région spécifique du cerveau. Les artères cérébrales antérieures irriguent la partie antérieure des noyaux gris centraux, le corps calleux, les portions médiales et supérieures du lobe frontal et le lobe pariétal antérieur. Les artères cérébrales moyennes donnent les artères lenticulostrées responsables de l'approvisionnement sanguin des noyaux gris centraux et de la majeure partie de la capsule interne, la branche supérieure alimente les lobes frontaux et les parties antérieures du lobe pariétal et la branche inférieure perfuse les lobes temporaux latéral, pariétal postérieur et occipital latéral. Les artères cérébrales postérieures irriguent le mésencéphale, l'hypothalamus, le thalamus, le lobe pariétal médial postérieur, le corps calleux postérieur, le lobe temporal médial et inférieur ainsi que le lobe occipital inférieur.

Le réseau artériel change de structure au fur et à mesure qu'il progresse de la surface du cortex vers le parenchyme, ainsi la nomenclature évolue suivant la taille et la composition de la paroi vasculaire. Les artères piales donnent successivement naissance aux artères pénétrantes, artérioles et capillaires. Les artères piales sont constituées d'une couche de cellules endothéliales, de muscles lisses, avec élastine et collagène dans la média, et d'une couche externe de cellules leptoméningées, appelées adventice, aussi composée de collagène,

fibroblastes et de nerfs périvasculaires. Ces dernières plongent dans le parenchyme perpendiculairement à la surface du cerveau, pour former les artères pénétrantes. Celles-ci évoluent dans l'espace de Virchow-Robin pourvu de liquide céphalo-rachidien. Cette particularité se perd au fur et à mesure que l'artère entre dans le parenchyme pour se convertir en artérioles, puis en capillaires. La couche de cellules musculaires lisses diminue progressivement pour disparaître dans les capillaires, alors uniquement formés d'une couche de cellule endothéliale reliées par des jonctions serrées et adhérentes, des péricytes et des pieds astrocytaires, qui forment la barrière hématoencéphalique. Les jonctions serrées et adhérentes, spécifiques au réseau vasculaire cérébral, sont une particularité de la barrière hématoencéphalique. Elles limitent la diffusion passive de solutés sanguins et contrôlent activement le trafic ionique et moléculaire entre le sang et le tissu cérébral. Les pieds astrocytaires, entourant les capillaires, participent également activement à la fonction de la barrière hématoencéphalique en activant la production des protéines de jonctions serrées (Reinhardt and Gloor, 1997).

#### **1.4 Effets de l'hypertension artérielle sur la structure vasculaire**

L'hypertension artérielle modifie profondément la structure des petites et des grandes artères. Une fois établie, elle augmente la résistance vasculaire en réduisant la densité des capillaires (raréfaction) et le diamètre interne du lumen des artères (remodelage vasculaire) (Sokolova et al., 1985). La raréfaction vasculaire, tant au niveau périphérique que cérébral, mène à une hypoperfusion des tissus, les laissant vulnérables aux ischémies. Le remodelage vasculaire est une forme d'adaptation du système cardiovasculaire, mis en place dans le but d'augmenter leur résistance. Ce mécanisme protège les tissus en amont de la formation d'œdème angiogénique et du bris de la barrière-hématoencéphalique (Iadecola and Davisson, 2008). Ces changements ne sont, cependant, pas immédiats et progressent à partir des grandes artères vers les artères plus petites (Bohlen, 1989).

Ce mécanisme a été, notamment, étudié chez les rats spontanément hypertendus dont la pression artérielle augmente à partir de l'âge de 3 mois. Chez ce modèle, l'élévation de la pression artérielle ne causera pas de remodelage vasculaire avant l'âge de 10-12 mois, soit presque 10 mois plus tard (Baumbach and Heistad, 1989). L'augmentation de la pression artérielle précède,

également, la raréfaction des capillaires. Tel que démontré chez le rat spontanément hypertendus âgé de 12 mois, chez lesquels la densité vasculaire est significativement diminuée dans le parenchyme ainsi que dans les muscles squelettiques (Paiardi et al., 2009). Le remodelage vasculaire apparaît plus tôt dans l'artère cérébrale moyenne que dans les artères piales chez les rats spontanément hypertendus (Bohlen, 1989). Ces changements sont liés aux risques d'ischémies, d'accidents cérébrovasculaires et d'insuffisance cardiaque.

## **1.5 Régulation du débit sanguin cérébral**

Le maintien de la perfusion et des fonctions cérébrales est assuré par l'autorégulation cérébrovasculaire et par la réponse hyperémique, ou couplage neurovasculaire (CNV).

### **1.5.1 L'autorégulation**

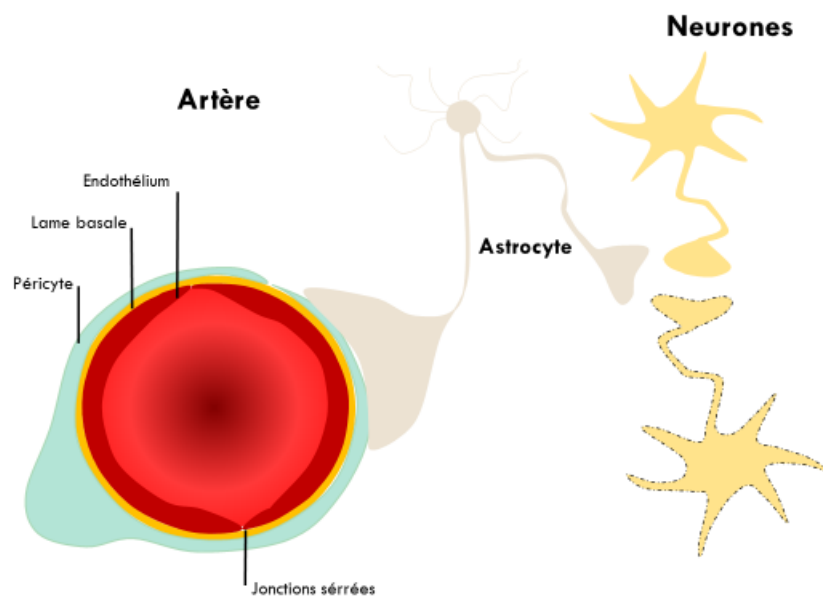
L'autorégulation est la capacité des artères à maintenir un débit régulier malgré les variations de pression ponctuelles. L'autorégulation est régie principalement par la réponse myogénique, qui est la capacité des cellules musculaires lisses à répondre à la pression intravasculaire. Cette réaction fait en sorte que les artères et artérioles se contractent lors d'une augmentation de la pression artérielle et se dilatent lors d'une diminution de celle-ci. Cette réponse, aussi appelée 'Effet Bayliss', peut également être modulée par les facteurs vasoactifs libérés par l'endothélium et le réseau périvasculaire local (Cipolla, 2009). L'autorégulation permet au débit sanguin cérébral d'être maintenu à 50 ml par gramme de tissus par minute, à condition que la pression de perfusion cérébrale se situe entre 60 et 160 mmHg (Phillips and Whisnant, 1992). Au-delà de ces limites, il y a une perte d'autorégulation et le débit sanguin cérébral dépend seulement de la pression artérielle moyenne. Ceci peut entraîner une ischémie cérébrale, dans le cas où la pression deviendrait trop faible, ou une hémorragie cérébrale dans le cas où cette dernière serait trop élevée et ne pourrait être surmontée par la réponse myogénique (Lassen and Agnoli, 1972).

### **1.5.2 Le couplage neurovasculaire**

Le CNV est par définition une augmentation du débit sanguin cérébral en réponse à une activité neuronale. Il dépend de l'interaction coordonnée des neurones, astrocytes, microglie, macrophages, de la lame basale et de l'endothélium composant l'unité neurovasculaire.

L'endothélium, tapissant les capillaires cérébraux, est scellé par des jonctions serrées et entouré par la membrane basale qui enveloppe les péricytes. Les pieds astrocytaires entourent, à leur tour, les capillaires et couvrent la majeure partie de leur surface. Les projections astrocytaires font synapse avec les neurones avoisinantes et complètent le schéma classique de l'unité neurovasculaire. La microglie et les macrophages ont cependant récemment été ajoutés comme faisant partie du CNV due à leur interactions avec la partie luminale de l'endothélium (Neuwelt et al., 2011). Les fonctions de l'unité neurovasculaire sont multiples et incluent la régulation du débit sanguin, le remodelage vasculaire, les réponses neuroimmunes, la perméabilité et la régulation des mécanismes de transports de la barrière hématoencéphalique, en plus de moduler la réponse hémodynamique, requise lors d'une activité des neurones (Stanimirovic and Friedman, 2012). (Figure 1).

**Figure 1. L'unité neurovasculaire**



*Figure 1 : l'unité neurovasculaire comprend les artères (cellules endothéliales, lame basale, péricytes), les astrocytes et les neurones.*

### 1.5.3 Le rôle des astrocytes

Le mécanisme du CNV a pour élément central l'astrocyte par la position qu'il occupe entre les artères et les neurones. Les prolongements astrocytaires entourent les synapses et réagissent à l'augmentation de l'activité synaptique par l'activation de leur récepteurs glutamatergiques (Sun et al., 2013). Ceci leur permet de réagir dès la libération des neurotransmetteurs. Le glutamate, libéré dans la fente synaptique, se lie aux récepteurs post-synaptiques et astrocytaires. L'activation des récepteurs astrocytaires entraîne une activation de la phospholipase C (PLC) qui génère la formation d'IP<sub>3</sub> à partir de la membrane et active la libération de calcium intra-astrocytaire par l'activation des récepteurs IP<sub>3</sub>, situés sur le réticulum endoplasmique. Cependant, la participation de cette voie dans le CNV a été remise en doute. Car chez des souris dont le gène codant pour la l'IP<sub>3</sub>R2 était invalidé, le CNV demeurait normal (Bonder and McCarthy, 2014; Nizar et al., 2013; Takata et al., 2013). Afin de tester cette hypothèse, la voie Gq-GPCR-IP3R, a été sélectivement stimulée dans les astrocytes par la conception du système hM3Dq DREADD (*designer receptors exclusively activated by designer drugs*). Dans ce modèle, aucune vasodilatation n'a été observée au niveau cortical (Bonder and McCarthy, 2014). Plus récemment, une activation spécifique des récepteurs métabotropes glutamatergiques de type 5 sur des souris GCAMP3 (Paukert et al., 2014) sous le contrôle du promoteur de la connexine 30 (Kunzelmann et al., 1999) entraîne une augmentation du Ca<sup>2+</sup> cytosolique astrocytaire qui précède la vasodilatation (Otsu et al., 2015) suggérant un rôle de cette voie dans le CNV.

L'hypothèse est que la vague de Ca<sup>2+</sup> se propage jusqu'aux pieds astrocytaires, faisant face aux artères, et provoque la libération de facteurs vasoactifs, tels que le monoxyde d'azote (NO), les dérivés de l'acide arachidonique, l'acide epoxyeicosatriénoïque (EET), synthétisé par le cytochrome p450 époxygénase, et la prostaglandine E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>), synthétisée par la voie d'activation de la cyclo-oxygénase (COX) (Koehler et al., 2006). Il s'ensuit une vasodilatation proportionnelle à l'augmentation de l'activité synaptique.

L'augmentation de Ca<sup>2+</sup> des astrocytes a été associée à une vasodilatation, mais aussi à une vasoconstriction. En effet, il a été suggéré que la libération d'acide arachidonique, par les pieds astrocytaires, forme du 20-HETE (acide 20-Hydroxyeicosatétraénoïque) au niveau des cellules musculaires lisses des artérioles, causant ainsi une vasoconstriction, alors que la conversion de

ce même acide arachidonique en PGE<sub>2</sub> ou en HETE causerait une vasodilatation (Lange et al., 1997). Un autre mécanisme qui peut avoir un effet biphasique est la concentration de potassium présente dans l'espace entre le pied astrocytaire et les artérioles. Le potassium peut être libéré dans les pieds astrocytaires, qui expriment les canaux potassium à large conductance activés par le calcium (BK<sub>Ca2+</sub>), alors que les muscles lisses vasculaires expriment les canaux potassiques (Kir). L'augmentation de la concentration intracellulaire de calcium dans les astrocytes cause une libération de potassium dans l'espace périvasculaire, par l'activation des BK<sub>Ca2+</sub>, proportionnelle à l'augmentation du Ca<sup>2+</sup>. Toutefois, une augmentation de la concentration de K<sup>+</sup>, inférieure à 20mM, active les canaux Kir dans les cellules musculaires lisses causant une hyperpolarisation de la cellule et donc une vasodilatation. Alors qu'une augmentation de la concentration de potassium périvasculaire de plus de 20mM cause une dépolarisation de la cellule musculaire lisse concernée, menant ainsi à une contraction de la cellule et une vasoconstriction (Girouard et al., 2010).

Les astrocytes jouent aussi un rôle important dans la recapture du glutamate dont l'accumulation extracellulaire peut être toxique. D'après la théorie de la navette glutamate-glutamine (Chiang et al., 2007), après la libération de glutamate dans la fente synaptique, celui-ci est récupéré par les astrocytes, puis converti par la glutamine synthétase en glutamine, une version non-toxique, et relâchée dans la fente synaptique pour être récupérée par le terminal pré-synaptique et reconvertie en glutamate par la glutaminase.

Les astrocytes auraient également une fonction de réserve d'énergie étant les seules cellules capables de synthétiser du glycogène. D'où la théorie de la navette du glucose-lactate, dans laquelle les astrocytes prennent le glucose dans le sang et le convertissent en lactate pour fournir les neurones en énergie (Pellerin L. et al., 2007). Les astrocytes fourniraient suffisamment d'énergie pour amorcer une activité neuronale, la réponse d'augmentation du débit sanguin maximale servirait à maintenir cette réponse dans le but de former une connexion stable et de refaire les réserves utilisées (Brown and Ransom, 2007).

#### **1.5.4 Le monoxyde d'azote**

Le CNV est un mécanisme qui dépend de la libération des dérivés de l'acide arachidonique modulés par le monoxyde d'azote (NO). Celui-ci peut avoir une origine endothéliale, neuronale, astrocytaire, mitochondriale et érythrocytaire (Tarantini et al., 2015). Les isoformes de la

synthase du NO (NOS) peuvent synthétiser le NO à partir de l'acide aminée L-arginine : les formes constitutives endothéliale (eNOS), neuronale (nNOS) érythrocytaire et mitochondriale, et la forme inductible (iNOS). La nNOS dépend de l'augmentation du  $\text{Ca}^{2+}$  intracellulaire suivant une activation neuronale (Weissman et al., 2002). Alors que la iNOS est indépendante du  $\text{Ca}^{2+}$  mais induite par les cytokines lors du processus d'inflammation. Les 3 isoformes principales, malgré leurs noms, sont présentes dans les astrocytes (Buskila et al., 2007).

De par la position anatomique des astrocytes, il serait aussi plausible que la production de NO dans les astrocytes, initiée par la libération de calcium, module la propagation et la régulation du  $\text{Ca}^{2+}$  intra-astrocytaire et pourrait agir ainsi comme modulateur de la réponse vasculaire. A partir des astrocytes ou des neurones, le NO causerait une vasodilatation par diffusion vers les cellules musculaires lisses et l'activation de la guanylyl cyclase soluble (GCs). La GCs transforme la guanine monophosphate cyclique, qui active les protéines kinase G. Cette réaction suscite une relaxation des cellules musculaires lisses, par l'ouverture des canaux potassiques, et par la réduction de la sensibilité des protéines contractiles au calcium (Andresen et al., 2006).

### **1.5.5 Le rôle de l'endothélium**

Une des principales fonctions de l'endothélium dans le CNV serait de contrôler la propagation rétrograde (Chen et al., 2014). L'augmentation du débit sanguin se fait initialement au niveau du lit capillaire. Il s'ensuit une propagation rétrograde de la vasodilatation jusqu'aux artères piales (Duling and Berne, 1970). Si l'activité se maintient, le débit sanguin ne restera élevé que dans le lit capillaire (Hillman, 2014). Celui-ci est arbitré par l'endothélium qui génère une variété de signaux régulant la réponse vasculaire. Cette propagation en deux étapes a été démontrée dans le muscle crémaster par Tallini et al. (Tallini et al., 2007) . La première est l'hyperpolarisation endothéliale, première réponse suite à une stimulation, qui se propage rapidement sur une distance de plus d'un millimètre (Figuroa and Duling, 2009) ; (Wölfle et al., 2011). Ce mécanisme implique l'hyperpolarisation de l'endothélium et ne dépend pas des voies des COX ou du NO. Cette première réaction est rapide, plus importante au moment de l'initiation de la vasodilatation, elle ne dépend pas de la durée de l'activité neuronale.

La deuxième partie de la réaction vasculaire est plus lente et ne dépasse pas 500 microns. Celle-ci est associée à la propagation de la vague de calcium dans l'endothélium. Cette réaction dépend de la production du NO et de  $\text{PG}_{12}$ , dont la production est activée par l'augmentation du calcium

intracellulaire. L'effet plus local de ces facteurs serait dû à leur durée de vie plus courte. En effet la demi-vie du NO est d'environ 2 millisecondes dans le sang, ce qui limite sa capacité à parcourir de longues distances (Tallini et al., 2007), (Liu et al., 1998). Celle du PGI<sub>2</sub> est cependant de plusieurs minutes et pourrait donc contribuer à la stabilité de la réaction (Lucas et al., 1986).

La majorité des études utilisent l'acétylcholine (Ach) pour mesurer la réactivité vasculaire dépendante de l'endothélium, indépendamment de la réponse du CNV. Alors que la réponse indépendante de l'endothélium est déterminée par la réponse au sodium nitroprussiate (SNP), qui est un donneur de NO. Rosenblum et al. a démontré que la destruction de l'endothélium dans les artères de surface, par la combinaison d'un laser et de la fluorescéine, empêchait la vasodilatation en réponse à l'Ach. L'intégrité de la réponse du muscle vasculaire lisse a pu être vérifiée par la superfusion de SNP, qui mesure la réponse vasculaire au NO. Il a ainsi démontré qu'un endothélium endommagé ne peut causer de vasodilatation des artéριοles cérébrales en réponse à l'Ach (Rosenblum, 1986). Cette étude implique donc que la superfusion d'Ach mesure la réponse endothéliale cérébrovasculaire.

Le mécanisme utilisé par l'Ach dépend de la formation du NO et des COX dans l'endothélium, ainsi que de facteur endothélial hyperpolarisant. L'augmentation du calcium, généré par l'activation des récepteurs Ach, active la formation du NO par la eNOS et de la PGI<sub>2</sub> par les COX qui diffusent vers les cellules musculaires lisses. Tous deux iront augmenter l'efflux de potassium causant une vasodilatation (Hecker, 2000). La vasodilatation dite indépendante de l'endothélium, mesurée en réponse au SNP, emprunte sensiblement la même voie. Néanmoins, elle n'agira que sur les cellules musculaires lisses par l'activation du cGMP (Lovren and Triggle, 2000).

## **2. Les fonctions cognitives**

### **2.1 Anatomie de la mémoire**

#### **2.1.1. Aspect neuropsychologique**

Sur le plan neuropsychologique, la mémoire est la capacité à encoder, emmagasiner et retrouver une information. D'après le modèle d'Atkinson-Shiffrin (Atkinson and Shiffrin,



1971), l'encodage est le processus par lequel les informations sensorielles perçues sont transmises jusqu'à la mémoire de travail (MDT) par l'hippocampe. Le transfert de cette information en mémoire à long terme (MLT) se fait par l'encodage, la consolidation et par l'emmagasinage de l'information. Enfin, le rappel fait référence au processus de remise en mémoire de l'information emmagasinée.

La MDT permet le stockage temporaire (environ 15 secondes) d'une information en relation avec une tâche, tel que la résolution d'un problème ou la lecture. Ce processus est nécessaire à la gestion et à l'organisation des données dans le but d'accomplir une tâche.

La mémoire à long terme (MLT) est sous-divisée en deux catégories : la mémoire déclarative, qui concerne les faits et connaissances, et la mémoire procédurale, qui régit les habiletés sensori-motrices. La mémoire déclarative inclue la mémoire sémantique et épisodique. La mémoire sémantique correspond aux connaissances générales, telles que le vocabulaire ou les mathématiques et est indépendante des expériences personnelles. La mémoire épisodique est chargée émotionnellement et repose sur nos expériences personnelles. Cette dernière se transforme en mémoire sémantique lorsque les expériences sont généralisées en connaissances (Atkinson and Shiffrin, 1971). La mémoire déclarative est encodée dans l'hippocampe, le cortex entorhinal et périrhinal, mais elle est consolidée et stockée dans le cortex temporal. Une fois consolidés, les informations sont emmagasinées dans les différentes aires sensorielle du cortex et reliées entre-elles par l'hippocampe.

Lors de la mise en mémoire d'un souvenir, les informations sensorielles sont morcelées et enregistrées dans leurs aires respectives (visuelle, auditive, motrice...). Lors du rappel, l'hippocampe permet la remise en mémoire simultanée et la synthèse des informations sensorielles. L'hippocampe conserve un mode d'indexation de ces informations pour que leur rappel soit coordonné, et qu'il soit ainsi possible de se souvenir des événements dans l'ordre chronologique et dans le bon contexte (Teyler and DiScenna, 1986). La mémoire procédurale n'implique pas l'hippocampe et est encodée et stockée dans le cervelet, le putamen, le noyau caudé et le cortex moteur, tous impliqués dans le control moteur.

L'encodage nécessite une augmentation du taux de décharge neuronale, dans le but de créer un circuit dans lequel l'information sera stockée. L'encodage permet une diminution du nombre d'erreurs dans une même journée dans les tests de mémoire chez les animaux, tel que la piscine de Morris. Un déficit de la MDT indique une lésion dans la partie médiane du cerveau incluant

le diencéphale (thalamus et hypothalamus) et les lobes temporaux médians dont fait partie l'hippocampe. Ces lésions sont associées à une difficulté à se remémorer les informations récemment acquises. Les sensations perçues requièrent la participation des différentes aires sensorielles qui seront combinées à l'aide de l'hippocampe (Lee and Kesner, 2004).

La consolidation sert à stabiliser une information après l'acquisition initiale. Elle est formée grâce à la consolidation synaptique pendant les heures suivant l'encodage. Le système de consolidation permet aux informations encodées de devenir indépendante de l'hippocampe. Au niveau cellulaire, la consolidation est le résultat de la potentialisation à long terme, un processus pendant lequel les neurones déchargent plus fréquemment pour former et consolider les synapses constituant le circuit neuronal, créant le souvenir. L'enregistrement est le processus par lequel l'information est retenue dans le cerveau. Plus une information est répétée ou associée avec un grand nombre d'autres éléments, plus elle sera susceptible d'être retenue à long terme.

Pour terminer, le rappel fait référence au fait de retrouver une information précédemment encodée et enregistrée. Ce processus est utilisé dans la MDT et dans l'encodage pour associer les nouvelles informations à celles déjà enregistrées (Kesner et al., 2004).

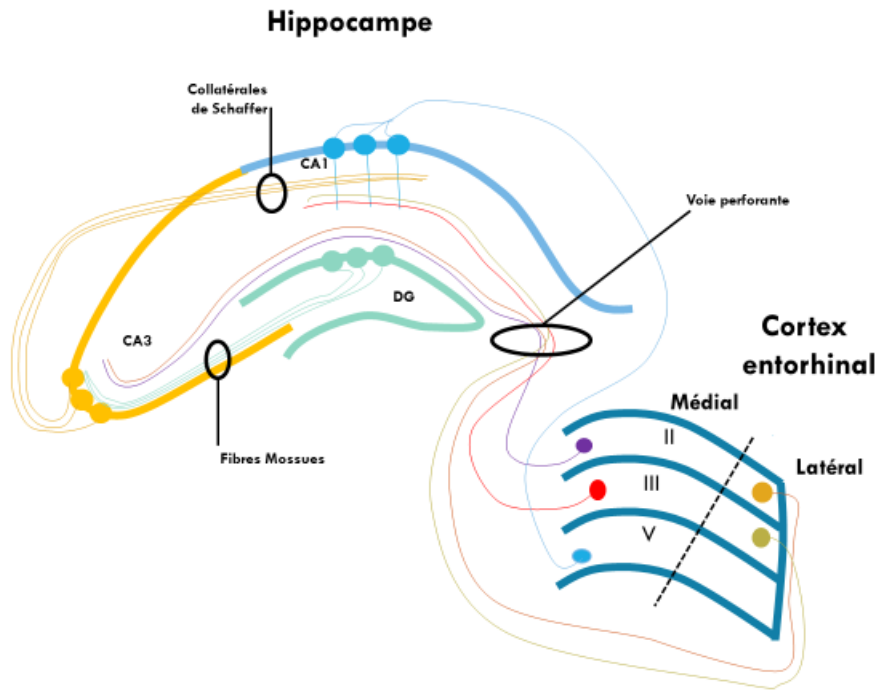
Le test le plus couramment utilisé pour mesurer la mémoire chez les rongeurs est le test de la piscine de Morris. Ce test consiste à faire nager l'animal dans un bassin dans lequel, une plateforme a préalablement été placée sous la surface de l'eau pour qu'elle ne puisse pas être vue par l'animal. Le but du test étant que l'animal arrive à retrouver la plateforme en utilisant les repères placés autour du bassin. L'épreuve dure 5 jours durant lesquels il est possible de mesurer la courbe d'apprentissage de chaque animal, mesurant ainsi la capacité d'encodage de l'information. Le 6<sup>ème</sup> jour, la plateforme est retirée et le temps passé dans le quadrant contenant initialement la plateforme, est mesuré pour évaluer le rappel chez l'animal. Ce test dépend principalement de l'hippocampe, et plus particulièrement de la partie dorsale de cette région. Une lésion de seulement 25% de la partie dorsale de l'hippocampe diminue la capacité d'apprentissage de l'emplacement de la plateforme dans le test de la piscine de Morris, un effet qui n'est pas observé avec une lésion de la partie ventrale de l'hippocampe (Fanselow and Dong, 2010a; Grill and Riddle, 2002); (Moser et al., 1995). Néanmoins, plusieurs autres régions sont mises à contribution, comme les corps mamillaires et l'amygdale (Vorhees and Williams, 2006) (D'Hooge and De Deyn, 2001).

### **2.1.2. Aspect cellulaire**

L'hippocampe participe à l'encodage et à la consolidation de la mémoire épisodique à court terme, incluant la gestion des informations temporelles, spatiales et sensorielles (Kesner 2004). Cette structure traite les afférences sensorielles dans sa région dorsale, alors que la région ventrale reçoit les afférences limbiques reliées aux émotions (Fanselow and Dong, 2010a); (Kheirbek and Hen, 2011).

L'hippocampe est formé de plusieurs régions, elles-mêmes sous-divisées en plusieurs couches. Ces régions sont reliées entre-elles par trois voies principales : la voie perforante ; les projections de Schaffer et les fibres moussues. La voie perforante est formée des projections de la couche II du cortex entorhinal, qui se termine dans la couche polymorphe du gyrus denté (DG), dans les couches moléculaires et dans le stratum radiatum de la corne d'ammon 3 (CA3). Alors que les fibres partant de la couche III du cortex entorhinal se terminent dans la corne d'ammon 1 (CA1), qui est impliquée dans l'association temporelle et le morcellement de l'information. Les projections de la voie perforante vers le CA3 participent au rappel de l'information spatiale et sont donc primordiales dans la réalisation du test de la piscine de Morris. Les projections de Schaffer se situent entre les cellules pyramidales du CA3 et du CA1. Alors que les fibres moussues partent du DG vers le CA3 et sont responsables du codage de l'information spatiale en plusieurs éléments formant ce que l'on appelle un 'patron de séparation'. (Figure 2).

**Figure 2. Projections de l'hippocampe**

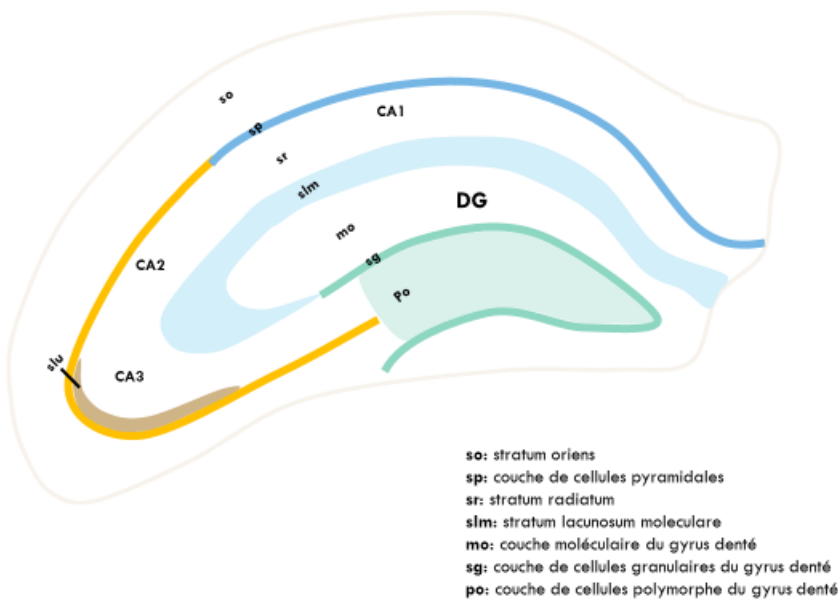


*Figure 2 : la voie perforante de l'hippocampe est formée des projections des couches II et III du cortex entorhinal médial se terminant dans le DG et le CA3. Les projections collatérales de Schaffer se trouvent entre les cellules pyramidales du CA3 et du CA1. Les fibres moussues partent du DG pour finir dans le CA3.*

Chaque partie de l'hippocampe possède une fonction particulière dans le stockage et le rappel de l'information. Si on isole les fonctions de chaque partie de l'hippocampe, le CA3 se chargerait de rassembler les informations, précédemment morcelées et stockées dans les régions du néocortex correspondant, pour rassembler tous les éléments sensoriels formant un souvenir et en faire une histoire cohérente. La lésion d'une voie peut affecter les régions impliquées en aval. Par exemple, une lésion du CA3 ou du cortex entorhinal inhibe la transmission synaptique entre le cortex entorhinal, le CA3 et CA1 et, par conséquent, les fonctions associées à ces régions (O'Reilly et al., 2015). Dans la MCT, le cortex entorhinal est nécessaire pour obtenir une représentation spatiale de l'environnement et identifier si l'endroit est familier ou non. Une lésion du cortex entorhinal altère la plasticité synaptique à long terme et le stockage permanent

de l'information, cette région est essentielle pour compléter le patron spatial (Miwa et al., 2001). Chez les rats âgés, ayant un déficit d'apprentissage dans le test de la piscine de Morris, la synaptophysine est diminuée, dans la couche moléculaire du CA3 (CA3-lmol) et dans le DG, contrairement aux sujets jeunes ou âgés n'ayant pas de déficit d'apprentissage (Smith et al., 2000). (Figure 3).

**Figure 3. Anatomie de l'hippocampe**



*Figure 3 : le CA1, CA2 et CA3 possèdent différentes couches de cellules : so, sp, sr et slm. Le Gyrus denté a trois différentes couches de cellules qui sont la mo, sg et po.*

La synaptophysine, étant la molécule la plus abondante dans les vésicules synaptiques, sert de marqueur indirect de la plasticité neuronale. Lors d'une augmentation de l'activité synaptique dans une région, le nombre de vésicules synaptiques, dans le bouton présynaptique, augmente pour fournir la synapse en neurotransmetteurs. La potentialisation à long terme maintient la libération de neurotransmetteurs et participe à la formation et à la stabilisation de nouvelles synapses. Cette protéine, localisée exclusivement dans les terminaux présynaptiques, régule la recapture des vésicules synaptiques pendant et après une activité neuronale. Un défaut d'endocytose, suite à la perte de synaptophysine, mène à une dépression synaptique et retarde le remplissage des vésicules synaptiques libérables. Ceci diminue donc la quantité de

neurotransmetteurs qui affaiblit la formation et la stabilité de la synapse (Kwon and Chapman, 2011). Ce pourquoi, les souris n'exprimant pas la synaptophysine ont un déficit de mémoire spatiale et d'apprentissage (Schmitt et al., 2009).

Le DG est impliqué dans la séparation de patrons de la mémoire spatiale. Pour cette raison, une lésion spécifique du DG, chez le rat, diminue la capacité d'encodage, car il n'est plus possible de séparer les différents éléments sensoriels qui forment un souvenir. Cependant, le rappel ne sera pas affecté par une lésion du DG seul. Alors qu'une lésion du CA3, nécessaire au rassemblement des informations constituant un souvenir, touchera la capacité de rappel mais pas d'encodage d'une tâche (Lee and Kesner, 2004). Le CA1 est impliqué dans la reconnaissance d'objets et dans le rappel contextuel d'une information. L'interruption de la partie de la voie perforante liée au CA1 ne cause pas de déficit de mémoire (Ji and Maren, 2008; Nakazawa et al., 2002, 2004).

Le cerveau des patients atteints de la MA, par exemple, ont en début de maladie, une perte de l'activité synaptique, qui évolue vers une perte neuronale, touchant principalement le cortex entorhinal, mais aussi le CA1 et le CA3 (Padurariu et al., 2012); (Brouillette, 2014). La maladie d'Alzheimer est corrélée avec une diminution de taille du CE, du CA1 et du subiculum, mais pas du DG ou du CA3. Alors qu'il n'y a pas de changements dans le cortex entorhinal avec le vieillissement, mais plutôt dans le DG (Grill and Riddle, 2002).

## **2.2 Évaluation de la cognition**

### **2.2.1 Échelles de mesure**

Le déficit cognitif englobe un large spectre de symptômes allant du plus léger au plus grave et se trouve à être évalué selon l'échelle de détérioration globale développée, par Barry Reisberg, en 1982. Cette échelle comprend 7 étapes classant l'évolution de la maladie allant du déficit cognitif très léger dans lequel le patient a du mal à trouver ses mots et commence à perdre des objets, au déficit cognitif très sévère, où le patient a un vocabulaire très limité et perd la capacité de marcher et manger sans assistance. Au début de cette échelle se trouve donc les déficits cognitifs légers (DCL), caractérisés par un déclin dans un domaine cognitif, avec ou sans perte de mémoire, qui n'interfère pas avec la vie quotidienne des patients. Ce déficit ne touche pas la capacité de raisonnement ou de jugement, mais affecte la capacité d'une personne

à retrouver des objets, à suivre une conversation ou à se souvenir du nom de personnes récemment rencontrées. Les DCL ne sont pas handicapants par définition, cependant leur évolution dans 50% des cas vers des déficits cognitifs sévères ou très sévères font de ces derniers une étape cible importante dans la prévention des démences qui se trouve à l'autre extrémité de l'échelle de Reisberg (Rountree et al., 2007). Cette échelle comprend 7 étapes classant l'évolution de la maladie comme suit :

- 1- Aucun déficit cognitif décelable
- 2- Déficit cognitif très léger : souvent associé avec l'âge, le patient a du mal à trouver des mots et perd souvent des objets.
- 3- Déficit cognitif léger : des difficultés à s'orienter dans des endroits inconnus et à gérer les difficultés au travail.
- 4- Déficit cognitif modéré : la gestion de tâches complexes tel que la gestion des finances ou préparer un diner pour des amis devient difficile.
- 5- Déficit cognitif modérément sévère : à besoin d'assistance pour choisir ses vêtements et se laver.
- 6- Déficit cognitif sévère : perte de conscience des événements récents et incontinence.
- 7- Déficit cognitif très sévère : le vocabulaire devient très limité, pers la capacité de marcher et manger sans assistance (Reisberg et al., 1982).

Les démences rassemblent les maladies neurodégénératives, les démences vasculaires et les démences dites mixtes telles que la MA. La démences vasculaires est la 2<sup>ème</sup> forme de démence la plus commune et représente 17 à 29 % des démences, alors que la maladie d'Alzheimer représente 10 à 23% des sujets autopsiés (O'Brien, 1988) et le taux de conversion des DCL en démence de type Alzheimer est de 10-15% par année (Petersen et al., 1999).

### **2.2.2 Les démences**

La maladie d'Alzheimer est définie comme étant une démence mixte, c'est-à-dire, une association de maladie d'Alzheimer et d'une démences vasculaires et représente la forme de démence la plus commune avec 65% des cas (Hendrie et al., 2015).

Le terme de démence vasculaire regroupe les démences ayant pour cause, soit une atteinte diffuse de la substance blanche dues à des lésions lacunaires d'origine artériolopathique, soit

une accumulation d'infarctus corticaux ou sous-corticaux multiples. La démence vasculaire est premièrement caractérisée par un déficit fonctionnel tel qu'une aphasie, une agnosie, une apraxie ou une altération des fonctions exécutives. Deuxièmement, le diagnostic requière la présence d'infarctus ou d'une maladie vasculaire ayant un impact sur les fonctions cognitives (Erkinjuntti et al., 1997). Ce dernier repose sur l'observation de marqueurs neuropathologiques par imagerie médicale où l'on peut voir des hyperintensités de la substance blanche. Celles-ci sont causées par des modifications de la microvasculature résultant de la détérioration de la paroi des vaisseaux, l'épaississement de la membrane basale et la dégradation des péricytes (Farkas et al., 2000). Les démences vasculaires sont ainsi quantifiées en utilisant l'échelle de pointage des ischémies d'Hachinski. Le score ischémique de Hachinski établi un score de 0-4 pour la maladie d'Alzheimer et de 8-18 pour les démences vasculaires. Ce score permet de différencier les démences dégénératives des démences vasculaires, mais ne différencie pas les démences mixtes. Pour qu'une lésion soit suffisante pour causer une démence vasculaire elle doit être située dans une aire stratégique et doit être bilatérale ou située dans l'hémisphère dominant (Raz et al., 2016).

### **2.3 Le couplage neurovasculaire et les fonctions cognitives**

Le cerveau consomme environ 20% de l'oxygène et du glucose dont le corps dispose. N'ayant que de faibles réserves de ces deux éléments pourtant nécessaires à la survie du tissu, les neurones sont très sensibles au bon fonctionnement du CNV. Ce principe est vastement utilisé en imagerie médicale avec l'utilisation de l'imagerie par résonance magnétique fonctionnelle. Cette méthode a été développée pour détecter l'activité neuronale de manière indirecte en mesurant l'augmentation du taux d'hémoglobine désoxygénée. Cette augmentation reflète l'activité des régions du cerveau lors de l'exécution d'une tâche. Une autre méthode de mesure hémodynamique offrant une meilleure résolution temporelle est la spectroscopie proche infrarouge. Cette technique permis de démontrer par exemple que chez les patients ayant un DCL, une tâche impliquant la mémoire de travail n'augmente pas autant la réponse hémodynamique que chez les patients sains, et cette réponse est directement corrélée avec la quantité d'informations retenue (Vermeij et al., 2016).

Une diminution du CNV est associée à de plus faibles résultats au MMSE (Mini-Mental State Examination) chez les patients avec un DCL ou la maladie d'Alzheimer. Le MMSE est le test



le plus répandu pour mesurer la diminution de la mémoire à court terme, un symptôme de démence. Il comprend l'évaluation de 5 différents domaines comprenant les habiletés visuospatiales, la mémoire immédiate, le langage, le rappel et l'attention. Ce test est d'une durée de 5 à 10 minutes, comprenant 11 questions dont le score maximum est de 30, un score en-dessous de 23 indiquant une dysfonction cognitive. Plusieurs études ont tenté de démontrer les changements hémodynamiques cérébraux chez les patients souffrant de la maladie d'Alzheimer. Ces changements incluent une augmentation de l'indice de pulsatilité, une diminution de la vitesse du débit sanguin ainsi qu'une diminution de la réactivité cérébrovasculaire au niveau de l'artère cérébrale moyenne chez ces patients (Franceschi et al., 2000; Ruitenberg et al., 2005; Stefani et al., 2009; Vicenzini et al., 2007). Une étude plus récente utilisant l'ultrasonographie transcranienne Doppler n'a démontré aucune différence pour l'indice de pulsatilité, la vitesse moyenne du débit sanguin et l'indice de résistance ne variait pas entre les sujets sains, DCL ou maladie d'Alzheimer (Shim et al., 2015). Cependant, la réactivité cérébrovasculaire était affectée chez les patients avec la maladie d'Alzheimer et l'importance de l'écart de la réduction de la réponse hémodynamique reflétait la diminution des performances dans le test du MMSE (Shim et al., 2015). De même, il y a une diminution de la réponse cérébrovasculaire chez les personnes souffrant de leucoaraïose, une démence d'origine vasculaire. Ce déficit étant plus marqué lorsque la gravité de la démence avance (Kuwabara et al., 1996).

La cause des DCL provoqués par l'hypertension artérielle n'est pas encore clairement définie. Cependant, la diminution de la réponse hémodynamique serait associée à l'apparition des déficits cognitifs, tant chez les personnes hypertendues que chez ceux présentant des DCL et la maladie d'Alzheimer. Les études rapportant que le CNV est significativement diminué dans certaines régions du cerveau de patients hypertendus, souffrant de DCL et de la maladie d'Alzheimer par rapport aux sujets sains (Shim et al., 2015) (Stroobant et al., 2004; Traub et al., 1982). Cette réponse est corrélée avec la diminution de l'efficacité des fonctions cérébrales chez les patients hypertendus à mi-vie (Haight et al., 2015). Ce qui laisse penser que les maladies neurodégénératives, telles que la maladie d'Alzheimer et les démences vasculaires puissent avoir pour origine une dysfonction du CNV.

## 2.4 Les dysfonctions cognitives chez les patients hypertendus

La mémoire déclarative est le plus souvent affectée chez les patients souffrant de DCL qui tendent à progresser vers la maladie d'Alzheimer (Albert et al., 2011). Plus spécifiquement, l'hypertension artérielle atteint la capacité d'attention, de calcul et de manipulation du langage (Kuusisto et al., 1993). Gottesma et al a observé 13 476 personnes, âgées de 48 à 67 ans, entre les années 1990 et 2013. Cette étude comprenait l'évaluation de la mémoire à court terme et de la MDT chez des patients normotendus et hypertendus, traités ou non. Ces derniers ont conclu que les personnes hypertendues, évaluées à 20 ans d'intervalle, avaient une diminution de leurs performances dans les tests cognitifs en comparaisons aux patients normotendus. Les dysfonctions cognitives étaient plus importantes chez les sujets hypertendus s'ils ne recevaient pas de traitements, alors que les patients recevant un traitement montraient une nette amélioration (Gottesman et al., 2014).

L'étude 'Stroke-free Framingham Study', effectuée entre 1956 et 1964, sur 1702 patients, âgés entre 55 et 88 ans, a démontré une diminution des fonctions cognitives 20 ans plus tard lorsque la pression artérielle n'était pas contrôlée à mi-vie, soit vers l'âge de 50 ans. Les fonctions touchées étaient l'attention, la MDT, la mémoire visuelle et verbale (Elias et al., 1993).

Saxby et al. ont comparés 223 individus hypertendus et normotendus, âgés entre 70-89 ans. Ils ont trouvé que les sujets hypertendus avaient de plus faibles résultats dans la rapidité de la mémoire, les fonctions exécutives et la MDT, mais pas dans la continuité de l'attention, lorsque comparés aux sujets normotendus. D'après cette étude, l'hypertension artérielle toucherait la capacité d'attention lors de l'exécution d'une tâche (Saxby et al., 2003). L'étude EVA (epidemiology of vascular aging) a également démontré que les patients, âgés entre 60 et 70 ans, obtenaient un résultat plus faible au MMSE, si leur pression artérielle n'était pas contrôlée sur une période de 4 ans, alors que la prise d'antihypertenseur diminuait ce risque (Tzourio et al., 1999). A la mi-vie, l'hypertension artérielle touche principalement les hommes, car les femmes sont normalement protégées jusqu'à la ménopause. Cependant, Chen et al. ont démontrés que, même chez les femmes, la pré-hypertension (120-139 / 80-89 mmHg) détectée à 50 ans annonce une diminution de la rapidité de la mémoire épisodique et de la vitesse de traitement mesurées 10 ans plus tard (Chen et al., 2015).

Ces études montrent que l'hypertension artérielle à la mi-vie atteint les fonctions cognitives quelques décennies plus tard. Cependant, ces effets pourraient être causés par le nombre d'années durant lesquels les individus souffrent d'hypertension artérielle, sans recevoir de traitement, et non par l'âge. Comme le démontre l'étude CARDIA (Coronary Artery Risk Development in Young Adults) faite chez des individus, âgés de 18 à 30 ans, avec une hypertension artérielle non-contrôlée. Ces personnes présentaient des dysfonctions cognitives une fois arrivées à l'âge de 50 ans, soit 25 ans plus tard. Ils ont établi que l'hypertension artérielle en début de vie adulte atteint la mémoire verbale et la vitesse de traitement, mais ne touche pas les fonctions exécutives (Yano et al., 2014).

L'hypertension artérielle serait donc un facteur de risque réversible impliqué dans le développement des dysfonctions cognitives. Cependant, si plusieurs traitements sont disponibles pour contrôler l'hypertension artérielle, tous n'ont pas le même effet sur les fonctions cognitives et c'est pourquoi il est important de connaître les mécanismes d'actions engagés dans l'évolution de cette maladie vers les déficits cognitifs.

## **2.5 L'anxiété chez les patients hypertendus**

L'anxiété est également souvent présente chez les personnes hypertendues. Une étude menée par MC Laughlin et al. chez plus de 6600 patients, recevant un traitement contre l'anxiété, a démontré que 22% d'entre eux étaient également hypertendus (McLaughlin et al., 2003). Une étude de plus petite envergure, impliquant 891 patients, a démontré que 12% des patients hypertendus évaluaient leur niveau d'anxiété à la hausse sur une échelle d'autoévaluation du niveau d'anxiété (Wei and Wang, 2006) ce qui ne diffère pas du pourcentage observé dans la population générale. Néanmoins, les traitements antihypertenseurs, tel que le captopril, un inhibiteur de l'enzyme de conversion de l'Ang II, ont démontrés des effets anxiolytiques significatifs, en plus de leur effet sur la pression artérielle. Chez des patients admis aux urgences, ayant une pression artérielle de plus de 160 mmHg et ne présentant pas d'autres symptômes, le captopril diminue la pression artérielle et l'anxiété de manière équivalente à l'alprazolam ou le diazepam, un anxiolytique de la classe des benzodiazépines (Grossman et al., 2005 ; Yilmaz et al., 2011). L'anxiété peut augmenter la pression artérielle à court terme. Cette condition est présente chez un certain pourcentage de patients souffrant

d'hypertension artérielle, il n'y a cependant pas d'étude à ce jour qui démontre que l'anxiété soit une cause de l'hypertension artérielle.

Un stress ponctuel peut toutefois augmenter la pression artérielle et avoir un effet sur les fonctions cognitives. Chez des personnes exposées à un stress ponctuel induit par un choc électrique, l'anxiété affecte les capacités de concentration et d'attention. Les mécanismes d'attention visuospatiales de la mémoire à court terme sont principalement affectés, sans toutefois toucher la mémoire verbale (Lavric et al., 2003; Shackman et al., 2006). Les effets sur la mémoire de travail augmente lorsque le nombre de tâches à effectuer simultanément augmente (Vytal et al., 2013).

Cependant, cet effet n'est pas présent chez les personnes souffrant d'un trouble anxieux généralisé, une condition définie dans le DSM-IV. Une étude, faite sur 3999 anciens combattants, a démontré que les personnes qui souffraient d'anxiété seule n'avaient pas de déficits cognitifs. Cependant, ceux souffrant simultanément d'anxiété et de dépression avaient un déficit de mémoire à court terme et des difficultés de remise en mémoire et de rappel de l'information (Kizilbash et al., 2002).

L'anxiété n'aurait pas non plus pour effet d'aggraver ou d'augmenter la vitesse d'évolution des démences à corps de Lewis ou de type Alzheimer. Lors d'une étude faite chez 122 patients atteints de la maladie d'Alzheimer et 72 avec une démence à corps de Lewis suivis sur une période de 4 ans, l'anxiété n'a pas été un facteur significatif dans la vitesse d'évolution ou la gravité des démences à corps de Lewis ou de la maladie d'Alzheimer (Breitve et al., 2016).

### **3. Le système rénine-angiotensine II**

#### **3.1 Régulation de la pression artérielle par le système rénine-angiotensine**

La pression artérielle est régulée principalement par le système rénine-angiotensine (SRA). Un système responsable de produire des facteurs vasoactifs, dont l'Ang II, qui causeront une constriction des artères et une augmentation du débit sanguin, dans le but d'augmenter la pression artérielle et de maintenir une perfusion sanguine adéquate. Deux types de SRA sont disponibles pour augmenter l'Ang II : la voie classique dans la circulation sanguine et la voie

locale dans les tissus. La voie classique est activée lors d'une diminution de la pression artérielle dans les glomérules du rein. Les cellules glomérulaires sécrètent alors de la rénine qui servira à convertir l'angiotensinogène, sécrété par le foie, en angiotensine I dans la circulation sanguine. L'angiotensine I sera convertie en Ang II, par l'enzyme de conversion de l'angiotensine, lors de son passage dans la circulation pulmonaire. L'Ang II, ainsi formée, active les récepteurs AT1 et AT2. Les récepteur AT2 antagonisent les effets du récepteur AT1, qui sont d'augmenter la résistance vasculaire par le biais de la vasoconstriction et de la prolifération des cellules musculaires lisses (Castrop, 2015). Les récepteurs AT2 sont impliqués dans la vasodilatation par la production de bradykinine et de NO en plus de l'augmentation du débit sanguin rénale (Matavelli and Siragy, 2015). D'autres produits sont formés par cette cascade, notamment l'angiotensine 1-7, l'angiotensine 3-7, l'angiotensine A et l'alamandine. L'angiotensine 1-7 est formée à partir de l'angiotensine I qui est convertie en angiotensine 1-9 et en angiotensine 1-7 par l'enzyme de conversion de l'angiotensine II. L'angiotensine 1-7 active les récepteurs Mas qui antagonisent les effets des récepteurs AT1 en inhibant la vasoconstriction et la prolifération cellulaire (Simões e Silva et al., 2013). L'angiotensine 3-7 est un fragment dérivé de l'Ang II ou de l'angiotensine 1-7. L'angiotensine IV est un dérivé de l'angiotensine II convertie par les aminopeptidases A, N, B et M. L'angiotensine IV et 3-7 activent tout deux le récepteur AT4 qui augmente le débit sanguin du cortex rénal et diminue le transport du sodium dans les tubules rénaux proximaux. Ce récepteur serait aussi impliqué dans les dysfonctions cognitives (Chai et al., 2004). L'angiotensine A est un dérivé de l'Ang II et peut activer le récepteur AT1 ou se convertir en alamandine qui active le récepteur MrgD, un dérivé du récepteur Mas. L'activation du récepteur MrgD aurait un effet similaire au récepteur Mas de l'angiotensine 1-7 et agirait comme cardioprotecteur (Villela et al., 2014). (Figure 4).

**Figure 4. Le système rénine-angiotensine**

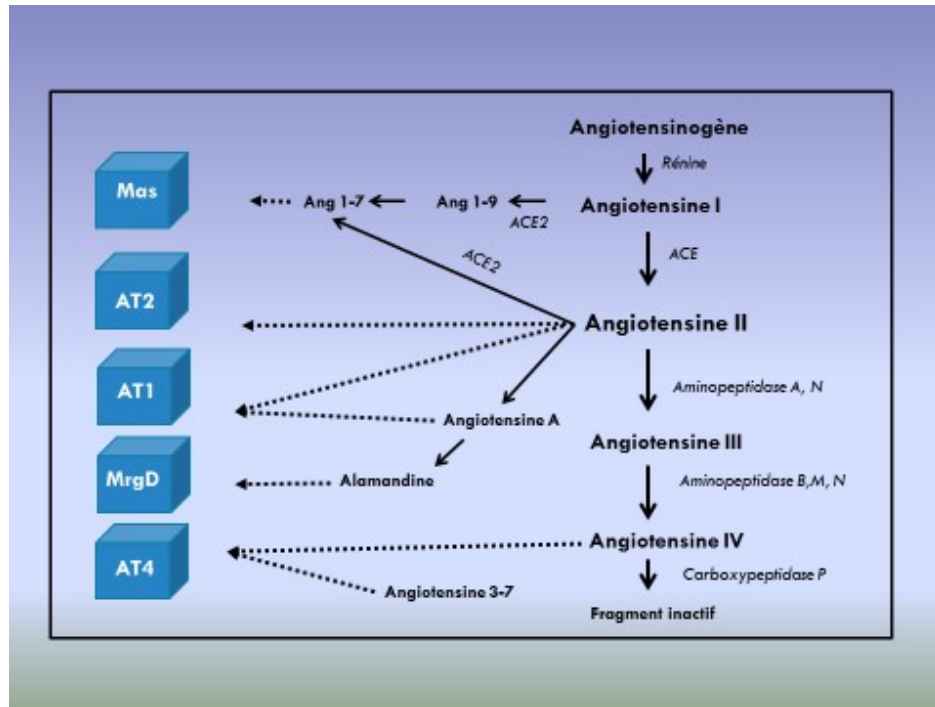


Figure 4 : l'angiotensine II est produite à partir de l'angiotensinogène, provenant du foie, qui est convertie en angiotensine I par la rénine, sécrétée par le rein. L'angiotensine I est par la suite convertie en angiotensine II par l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ACE), provenant du poumon. L'angiotensine II peut être convertie en angiotensine III et IV par les aminopeptidases A, B, M, N et la carboxypeptidase convertie l'angiotensine IV en fragments inactifs. Les divers produits de l'angiotensine I et II activent les récepteurs Mas, AT2, AT1, MrgD et AT4.

Une voie locale est présente dans certains tissus, dont le cerveau, dans lesquels l'Ang II est produite indépendamment du SRA circulant. Tous les composants (rénine, angiotensinogène, angiotensine I, l'enzyme de conversion de l'angiotensine et l'angiotensine II) se retrouvent dans le cerveau et ne peuvent pas provenir de la circulation périphérique car ils ne passent pas la barrière hématoencéphalique librement. Dans ce système, l'angiotensinogène, produit majoritairement par les astrocytes, serait la principale source de substrat pour l'Ang II, ainsi que l'étape limitante de la formation d'Ang II (Deschepper et al., 1986); (Ben-Ari and Garrison,

1988). L'angiotensinogène se retrouve aussi dans les neurones, et particulièrement dans les centres impliqués dans la régulation cardiovasculaire, tels que les organes subfonicaux, le nucléus paraventriculaire, et la médulla rostroventrolatérale (Diz, 2006). La rénine est présente dans les neurones des cellules pituitaires, du plexus choroïde, de la médulla oblongata et de l'hypothalamus. Elle a aussi été détectée dans la glie de la médulla oblongata et des organes subfonicaux (Dzau et al., 1986). L'enzyme de conversion de l'angiotensine, chargée de convertir l'angiotensine I en Ang II est présente dans le plexus choroïde, le putamen caudé, le cervelet, le tronc cérébral, l'hippocampe et les glandes pinéales (Paul et al., 1985).

Le mécanisme par lequel l'Ang II est généré par les neurones reste inconnu. Néanmoins, l'expression d'Ang II locale a été détectée dans le noyau hypothalamique paraventriculaire, le noyau supraoptique, les organes circumventriculaires (OCV) et dans les noyaux du tractus solitaire (Lind et al., 2004). Aucun type de cellule présent dans le cerveau ne possédant tous les composants du SRA, l'hypothèse est que celui-ci utilise un mécanisme enzymatique différent de celui du SRA périphérique (Saavedra, 2005).

L'Ang II circulante peut également agir sur le cerveau en passant par les organes péri-ventriculaires et les cellules endothéliales (Saavedra et al., 1992). L'Ang II peut activer les récepteurs AT1 sur les organes péri-ventriculaires, où la barrière-hématoencéphalique est plus perméable aux peptides de gros poids moléculaire. La concentration élevée de récepteurs AT1 dans les organes péri-ventriculaires, impliquée dans le contrôle hormonal et l'élévation de la pression artérielle, laisse à penser que l'Ang II circulant a une activité importante dans ces régions (Peterson et al., 2006). L'Ang II ne passe pas la barrière hématoencéphalique, cependant elle peut atteindre le système nerveux central, par transport actif, en se liant aux récepteurs AT1 situés sur l'endothélium. Ces derniers seraient capables de transloquer l'Ang II de manière apico-basale pour exposer le système nerveux central à l'Ang II circulante (Rose and Audus, 1998) ; (Bodiga and Bodiga, 2013).

## 3.2 Mécanismes d'activation des récepteurs AT1

### 3.2.1 Les récepteurs AT1 dans cellules musculaires lisses

Le récepteur AT1 est un récepteur transmembranaire couplé aux protéines Gq et Gi. Son activation est responsable d'une variété de mécanismes tels que la vasoconstriction, le remodelage et l'inflammation vasculaire. Dans les cellules musculaires lisses, ce récepteur engendre la production de seconds messagers tels que l'inositol triphosphate (IP3), le diacylglycerol (DAG) et les espèces réactives de l'oxygène. Il active aussi des protéines kinases telles que la tyrosine kinase, la sérine/thréonine kinase, les MAPK, ERK, JNK, P38MAPK, Akt/PKB et les formes de PKC (protéine kinase C) (Suzuki et al., 2005).

L'activation de la protéine Gq active la PLC de type  $\beta$ , une enzyme qui hydrolyse le phosphatidylinositol-4,5-biphosphate en IP3 et en DAG (Griendling 1986). L'IP3 active un récepteur canal sur le réticulum endoplasmique et provoque une libération de calcium intracellulaire vers le cytoplasme. Le DAG, en présence de calcium, active la PKC qui, à son tour, phosphoryle divers substrats. Cette voie de signalisation est responsable de plusieurs effets de l'Ang II tels que la contraction des muscles lisses vasculaires ainsi que la sécrétion d'aldostérone (Mulrow 1999). L'activation de la protéine Gi par le récepteur AT1 inhibe l'adénylyl cyclase, ce qui entraîne une diminution de l'AMPc et de la vasodilatation. L'Ang II active aussi les protéines se liant au GTP telles que les Ras, Rho et Rac qui jouent un rôle important dans le remodelage cardiovasculaire provoqué par l'Ang II. (Figure 5).



**Figure 5. Mécanisme d'activation des récepteurs AT1 dans les cellules musculaires lisses**

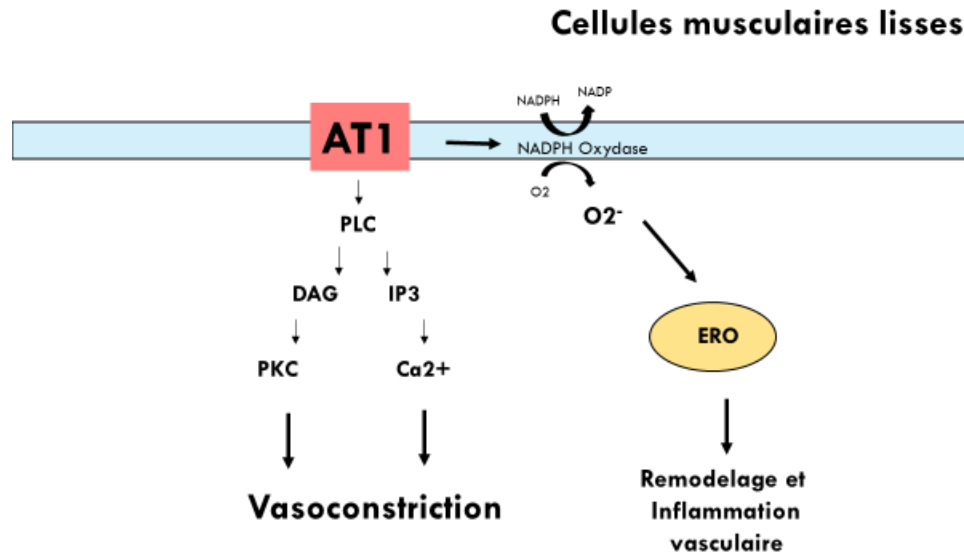


Figure 5 : l'activation du récepteur AT1 par l'angiotensine II, dans les cellules musculaires lisses, active la phospholipase C (PLC) qui entraîne la formation de l'inositol triphosphate (IP3) et de diacylglycérol (DAG). Le DAG, en présence de calcium, active la protéine kinase C (PKC). L'IP3 provoque la libération du calcium contenu dans le réticulum endoplasmique. Le PKC et l'IP3 entraîne une vasoconstriction. Les récepteurs AT1, activant la NADPH oxydase, forment l'anion superoxyde (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) et participent à la formation des espèces réactives de l'oxygène (ERO) qui sont responsables du remodelage et de l'inflammation vasculaire.

### 3.2.2 Les récepteurs AT1 dans cellules endothéliales

La voie d'activation des récepteurs AT1 dans l'endothélium est moins connue mais semble être impliquée dans la régulation de l'équilibre entre les espèces réactives de l'oxygène et le NO (Watanabe et al., 2005). Une dysfonction de l'endothélium est associée à une diminution du NO. Une faible concentration de NO dans l'endothélium entraîne une

augmentation de la vasoconstriction, de la prolifération des cellules musculaires lisses et de l'inflammation vasculaire. Cette diminution de NO peut être causé par un découplage ou une réduction de l'expression de l'eNOS (Cai and Harrison, 2000). Le découplage de l'eNOS est causé par le peroxyde produit par la NADPH oxydase et engendre une augmentation de la production d'anions superoxyde. Le peroxyde produit par l'interaction du NO et de l'anion superoxyde, à une haute affinité pour les résidus de nitrate tyrosine formant le nitrotyrosine-3 qui inhibe la vasodilatation dépendante de l'endothélium (Wattanapitayakul et al., 2000). L'Ang II active également les PARP (poly(ADP-ribose) polymérase) à travers l'activité de la NADPH oxydase. Le PARP est une enzyme qui consomme beaucoup d'énergie, ce processus diminue le taux d'ATP et de NAD<sup>+</sup> causant une dysfonction de l'endothélium. Dans l'endothélium également, l'Ang II cause une augmentation de l'expression des ICAM et VCAM-1 par l'activation de NFκB. (Figure 6).

**Figure 6. Mécanisme d'activation des récepteurs AT1 dans les cellules endothéliales**

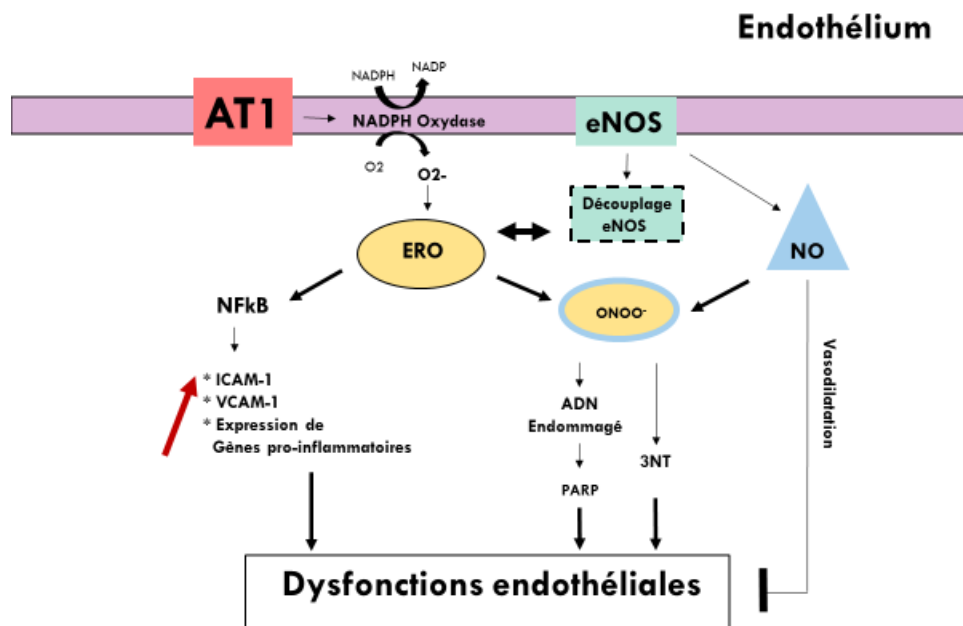


Figure 6 : l'activation de la NADPH oxydase, par les récepteurs AT1 de l'endothélium, forme les espèces réactives de l'oxygène (ERO) qui entraînent un découplage de la synthèse de

*monoxyde d'azote endothélial (eNOS) et l'activation du facteur nucléaire  $\kappa B$  (NF $\kappa B$ ). Le NF $\kappa B$  augmente l'expression des protéines d'adhésion vasculaires (ICAM-1 et VCAM-1) ainsi que l'expression de gènes pro-inflammatoires. Le monoxyde d'azote (NO) formé par le eNOS s'associe à l'anion superoxyde ( $O_2^-$ ) pour former du peroxytrite ( $ONOO^-$ ) qui forme du nitrotyrosine-3, qui endommage l'ADN et forme des poly(ADP-ribose) polymérase (PARP). L'activation des PARP, du nitrotyrosine-3 et l'augmentation de l'expression des protéines d'adhésion vasculaires participent aux dysfonctions endothéliales.*

### **3.2.3 Mécanismes du récepteur AT1 dans l'inflammation vasculaire**

L'activation du récepteur AT1 est également impliqué dans l'inflammation vasculaire résultant de la production de stress oxydant et de l'infiltration de cellules immunitaires. Dans les cellules musculaires lisses, l'activation des récepteurs AT1 entraîne une infiltration de leucocytes, un remodelage vasculaire et l'augmentation de la production de chémokines et de cytokines pro-inflammatoires (Ruiz-Ortega et al., 2000). La cascade cellulaire, initiée par les AT1, déclenche la production d'espèces réactives de l'oxygène par l'entremise de l'activation de la NADPH (Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate) oxydase. Les espèces réactives de l'oxygène, ainsi disponible, augmentent l'expression du NF- $\kappa B$  (Facteur nucléaire- $\kappa B$ ) qui régit la majorité de la réponse inflammatoire. L'association de l'anion superoxyde, obtenue par la NADPH oxydase, avec le NO diminue la biodisponibilité du NO endogène et forme du peroxytrite, un puissant oxydant lié à l'apoptose et à la mort cellulaire. L'élévation des espèces réactives de l'oxygène augmente aussi l'activation du NF- $\kappa B$  soit par l'activation des MAP kinases, soit par la phosphorylation de l'I $\kappa B$  responsable de l'inhibition du NF- $\kappa B$ . Le NF- $\kappa B$  ainsi activé augmente l'expression des molécules d'adhésion ICAM-1 (molécule d'adhésion intracellulaire-1), VCAM et P-sélectine (Pueyo et al., 2000), en plus des cytokines pro-inflammatoires, des chemokines, et de l'iNOS (synthase du monoxyde d'azote inducible) (Tham et al., 2002). (Figure 6).

### **3.2.4 Mécanismes du récepteur AT1 dans les neurones**

Il a été démontré que l'activation des récepteurs AT1 joue un rôle dans la modulation du potentiel d'action neuronal par leur action sur les courant ioniques membranaires. Les mécanismes intracellulaires impliqués sont l'inhibition des courants calciques et potassiques

( $I_{kv}$ ) par l'activation de la voie des PLC. L'Ang II augmente le taux de décharge neuronal par l'activation des récepteurs AT1 qui mène à la formation de PLC qui, à son tour, forme du DAG et de l'IP3. L'IP3 active la libération de calcium des réserves du réticulum endoplasmique. L'augmentation du calcium intracellulaire, associée au DAG, activent la PKC. Le calcium s'associe à la calmoduline (CAM) pour former la calmoduline kinase II (CAMKII). La PKC et la CAMKII inhibent les canaux potassiques  $I_{kv}$  par des mécanismes qui sont, à ce jour, indéfinis. L'Ang II augmenterait également la production de noradrénaline neuronale dont la voie d'activation reste controversée (Sumners et al., 2002). (Figure 7).

**Figure 7. Mécanisme d'activation des récepteurs AT1 dans les neurones**

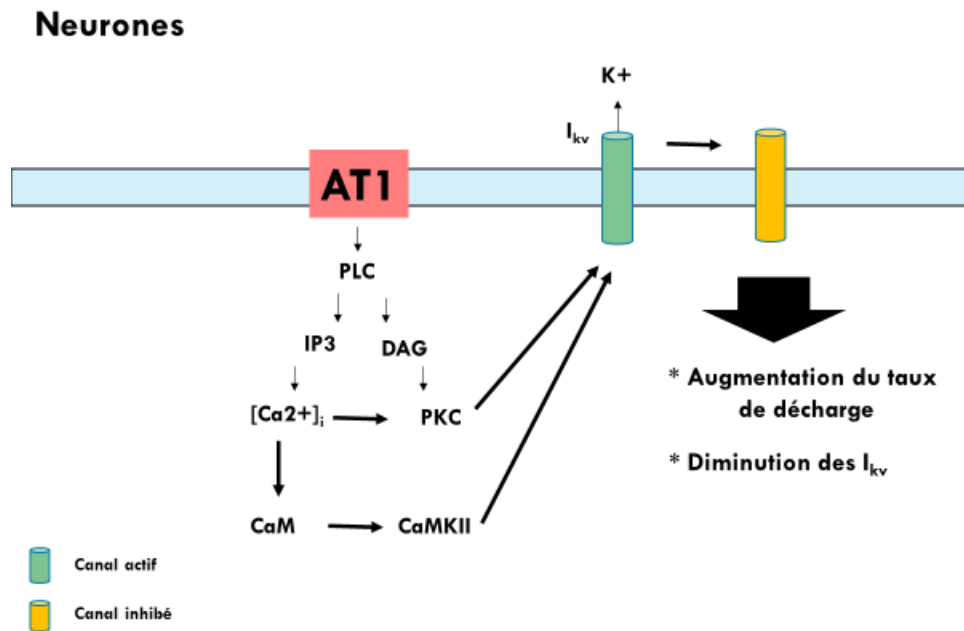


Figure 7 : l'activation des récepteurs AT1 dans les neurones active la phospholipase C (PLC) qui entraîne la formation de l'inositol triphosphate (IP3) et de diacylglycérol (DAG). Le DAG, en présence de calcium, active la protéine kinase C (PKC). L'IP3 provoque la libération du calcium contenu dans le réticulum endoplasmique. Le calcium s'associe à la calmoduline (CAM) pour former la calmoduline kinase II (CAMKII). L'activation des PKC et de la

*CAMKII a pour effet d'inhiber les canaux potassiques  $I_{kv}$  et de causer une augmentation du taux de décharge neuronale et une diminution de l'activité des canaux  $I_{kv}$ .*

### **3.2.5 Mécanismes du récepteur AT1 et couplage neurovasculaire**

Les recherches actuelles sur l'implication des récepteurs AT1 dans les dysfonctions du CNV laissent à penser que celles-ci seraient causées par le stress oxydant. Notamment, par les espèces réactives de l'oxygène générés par la NADPH oxydase, suite à l'activation des récepteurs AT1 de l'endothélium. Cette hypothèse a été explorée chez les souris perfusées à l'Ang II, chez lesquelles le CNV est restauré et la production d'espèces réactives de l'oxygène diminuée par l'inhibition de la NADPH oxydase ou par le losartan (Kazama et al., 2004); (Girouard et al., 2006).

Les espèces réactives de l'oxygène produits dans les cellules endothéliales altèrent la vasodilatation de plusieurs manières. La production de superoxyde par la NADPH oxydase, en association avec le NO, forme du peroxy-nitrite dans les cellules endothéliales qui peut diffuser par la suite vers les cellules gliales. Cette réaction diminue la concentration de NO qui est un puissant vasodilatateur. De plus, le peroxy-nitrite inhibe la synthèse de PGI<sub>2</sub>, également un vasodilatateur, ainsi que la probabilité d'ouverture des canaux potassiques. Il participe également au bris de l'ADN donnant lieux à l'activation de l'enzyme de réparation de l'ADN (PARP) qui altère le CNV par son importante consommation d'énergie (Bloch et al., 2015). Les effets délétères de l'Ang II sur le CNV peuvent aussi passer directement par leur action sur les neurones et les astrocytes. Une étude, effectuée sur des cultures cellulaires de neurones de ganglions spinaux, a démontré que la stimulation de ces neurones par l'Ang II engendrait des dommages à l'ADN neuronal. Cet effet, inhibé par le valsartan, est rétablit lors d'une co-culture avec des astrocytes (Min et al., 2011). Cependant, des travaux supplémentaires sont nécessaires pour éclaircir le rôle de l'Ang II sur la réponse cérébrovasculaire et sur les différents éléments composant l'unité neurovasculaire.

### **3.3 Fonctions du système rénine-angiotensine sur la cognition**

#### **3.3.1 Chez l'homme**

Si un des facteurs de risque majeur dans le développement des DCL, des démences vasculaires et de la maladie d'Alzheimer semble être l'hypertension artérielle, les mécanismes sous-jacents ne sont pas encore élucidés. Les principaux traitements utilisés, seuls ou combinés, pour contrôler l'hypertension artérielle sont : les diurétiques, les bloqueurs de canaux calciques, les inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine et les inhibiteurs des récepteurs à l'angiotensine de type I (sartans). Ceux-ci sont efficaces pour contrôler la pression artérielle dans la majorité des cas. Cependant, plusieurs études démontrent que certains d'entre eux seraient aussi impliqués dans le ralentissement des dysfonctions cognitives chez les personnes hypertendues (Forette et al., 2002).

L'étude Syst-Eur (Systolic Hypertension in Europe) comparait la nitrendipine, un bloqueur de canaux calciques, à un placebo, chez des patients hypertendus. Un suivi de 2 ans a démontré que la nitrendipine diminuait l'incidence de démence de 50% mesurée par le MMSE (Forette et al., 1998). L'étude PROGRESS (PeRindopril prOtection aGainst Recurrent Stroke Study) a été faite en double-aveugle chez 6105 patients ayant souffert d'ischémie cardiaque transitoire ou aiguë. Le groupe traité a reçu du perindopril, un inhibiteur de l'enzyme de conversion de l'angiotensine associé, ou non, à de l'indapamide, un diurétique. Cette étude a démontré une diminution du déclin cognitif de 19% par rapport au groupe témoin, lors d'un suivi sur une période de 4 ans ("Randomised trial of a perindopril-based blood-pressure-lowering regimen among 6105 individuals with previous stroke or transient ischaemic attack," 2001). L'étude OSCAR (Observational Study on Cognitive Function and SBP Reduction) faite avec 10 000 patients, sur une durée de 6 mois, a démontré que l'eposartan, un inhibiteur du récepteur AT1, augmente le pointage au MMSE en plus de diminuer la pression artérielle chez les patients hypertendus. L'effet du traitement sur les fonctions cognitives était plus marqué chez les patients âgés, avec une pression artérielle initiale élevée ou un indice de masse corporel compris entre 25-30, correspondant à un surpoids sans être qualifié d'obésité (Petrella et al., 2012).

Les sartans auraient cependant une réponse supérieure aux enzymes de conversion de l'angiotensine sur la cognition, chez les personnes âgées hypertendues, particulièrement sur la mémoire épisodique et les capacités visuospatiales (Fogari et al., 2006). En comparant l'effet

du losartan à l'aténolol, un inhibiteur des récepteurs  $\beta$ -adrénergiques, Fogari et al. ont pu voir que les deux traitements diminuent la pression artérielle de manière similaire, à l'exception que le losartan a aussi un effet sur la mémoire, et améliore les résultats aux tests de rappels de mots qui mesurent la mémoire à court terme, ce qui n'est pas le cas de l'aténolol (Fogari et al., 2004). L'amélioration des fonctions cognitives par les inhibiteurs des récepteurs AT1 serait liée au rétablissement des fonctions hémodynamiques. Hajjar et al ont démontré que les patients hypertendus souffrant de la maladie d'Alzheimer ou de DCL amnésique, recevant un traitement de candesartan sur une période d'un an, ont vu une amélioration de leurs fonctions exécutives associées à une augmentation de la réponse hémodynamique (Hajjar et al., 2013).

Cependant, toutes les études sur les antihypertenseurs n'ont pas démontré d'effets bénéfiques sur la mémoire. Lors de l'étude SCOPE (Study on Cognition and Prognosis in the Elderly), le candesartan a été comparé à d'autres antihypertenseurs chez 4964 patients âgés de 70-89 ans sur 4 ans. Les autres antihypertenseurs étaient principalement des bêtas bloquants, des diurétiques ou des inhibiteurs de canaux calciques. Dans les deux groupes, la diminution de la pression artérielle et le pointage au MMSE étaient équivalents entre les différents antihypertenseurs utilisés. Cette étude n'a pas démontré de différences entre les antihypertenseurs sur le pointage du MMSE qui est resté stable dans les deux groupes (Lithell et al., 2003). L'étude SHEP (SYstolic Hypertension in the Elderly Program) faite sur 4736 patients âgés de plus de 60 ans sur une durée de 5 ans a comparé la chlorthalidone (un diurétique), la réserpine (un bloqueur du transporteur de monoamine vésiculaire) ou l'aténolol (un bêta bloquant) contre placebo sur une durée d'environ 5 ans. Cette étude ne démontrait également aucune différence entre les groupes dans le test short-CARE (The short-Comprehensive Assessment and Referral Evaluation) (Di Bari et al., 2001).

Le fait que les effets bénéfiques des antihypertenseurs sur la mémoire ne soient pas unanimes est probablement causé par la variabilité des protocoles. Plusieurs autres études seront donc nécessaires pour savoir quel traitement est le plus efficace pour ralentir les déficits cognitifs chez ces patients.

### 3.3.2 Chez l'animal

Les fonctions du SRA dans le cerveau s'étudient soit en observant les effets d'une augmentation du SRA ou de l'Ang II systémique, par l'injection d'Ang II dans le parenchyme ou dans les ventricules cérébraux. Une des premières études sur le rôle du SRA systémique, sur les fonctions cérébrales et sur la mémoire, a été faite chez des souris ayant une surexpression génétique de la rénine et de l'angiotensinogène. Ces souris démontraient une diminution de leur capacité d'apprentissage à l'âge de 14 semaines. Ce déficit était précédé par une augmentation du stress oxydant marqué par une suractivité de la NADPH oxydase générant une augmentation de l'anion superoxyde (Inaba et al., 2009). Dans les modèles de rats Dahl sensibles au sel et de souris avec néphrectomie partielle, l'augmentation du taux plasmatique de l'Ang II était associée à une diminution des capacités cognitives. Ces modèles présentent aussi une augmentation de la peroxydation des lipides et des dommages liés à l'oxydation de l'ADN dans le cerveau. L'olmesartan et de telmisartan, deux inhibiteurs du récepteur AT1, rétablissaient les fonctions cognitives et les dommages liés au stress oxydant et normalisaient le taux plasmatique d'ang II (Pelisch et al., 2011) (Haruyama et al., 2014). L'Ang II administrée dans les ventricules cérébraux cause également un déficit d'apprentissage lors d'une injection ponctuelle avant l'apprentissage. Plus précisément, ce modèle cause un déficit d'acquisition, de consolidation et de rappel dans le test de la piscine de Morris et ralentit l'apprentissage chez le rat dans le Y-maze. Pareil à un traitement chronique, ce régime d'Ang II injecté de manière aiguë augmente la peroxydation des lipides et diminue les enzymes anti-oxydantes (superoxyde dismutase et la glutathion peroxydase). Dans ce cas de figure la mémoire et les dommages oxydatifs sont restaurés avec un traitement de losartan (Tota et al., 2013)(Bild et al., 2013).

Les résultats de ces études démontrent que l'augmentation aiguë d'Ang II ou la manipulation génétique de l'activité du SRA mènent à des troubles de mémoire et d'apprentissage, corrélés avec une augmentation du stress oxydant. Cependant, aucune étude n'a été faite sur la relation entre une augmentation chronique de l'Ang II systémique et les fonctions cognitives. Dans ce projet nous avons cherché à connaître l'effet d'une augmentation systémique et chronique du taux d'Ang II sur les fonctions cognitives dans le but de mimer l'hypertension artérielle vue chez l'homme.



## 3.4 Maladie d'Alzheimer et angiotensine II

### 3.4.1 Les bêta-amyloïdes

Une des caractéristiques de la maladie d'Alzheimer est l'accumulation extracellulaire des  $\beta$ -amyloïdes. Ces derniers sont des peptides, d'environ 4kD, formés de 36 à 43 acides aminés et dont on ne connaît pas encore la structure *in vivo*. Les  $\beta$ -amyloïdes sont formés à partir de la protéine précurseur de l'amyloïde (APP). L'APP est une protéine transmembranaire qui peut être clivée selon la voie amyloïdogénique ou non-amyloïdogénique. La voie non-amyloïdogénique utilise l' $\alpha$ -sécrétase et le  $\gamma$ -sécrétase pour former successivement l'APP- $\alpha$ , puis la protéine soluble P3 et le domaine intracellulaire cytoplasmique de l'APP (AICD). Alors que la voie amyloïdogénique utilise la  $\beta$ -sécrétase (BACE) pour former l'APP- $\beta$ , puis les  $\beta$ -amyloïdes 1-40 et 1-42 (Voir Figure 8).

Figure 8. Mécanisme de formation des  $\beta$ -amyloïdes

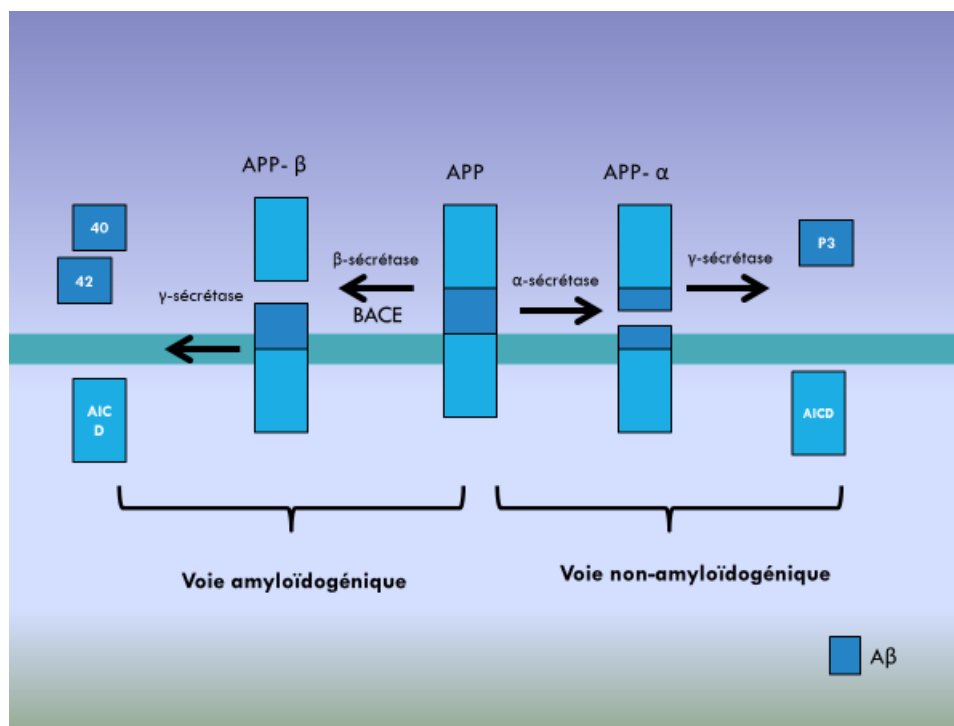


Figure 8 : Les  $\beta$ -amyloïdes sont formés à partir de la protéine précurseur de l'amyloïde (APP). L'APP est clivée selon la voie amyloïdogénique ou non-amyloïdogénique. La voie non-amyloïdogénique forme l'APP- $\alpha$ , puis la protéine soluble P3 et le domaine intracellulaire

*cytoplasmique de l'APP (AICD) par l' $\alpha$ -sécrétase et le  $\gamma$ -sécrétase. La voie amylogénique utilise la  $\beta$ -sécrétase (BACE) pour former l'APP- $\beta$ , puis les  $\beta$ -amyloïdes 1-40 et 1-42.*

Les  $\beta$ -amyloïdes font partie de la classe de protéines connues sous le nom de 'protéines intrinsèquement désordonnées', c'est-à-dire, que ce sont des protéines qui ne possèdent pas de structure tertiaire dans des conditions physiologiques. Cette flexibilité conformationnelle augmente leur capacité à se lier à plusieurs types de protéines (Uversky and Dunker, 2013).

Les  $\beta$ -amyloïdes 1-40 et 1-42 ont un comportement très différent malgré le fait que seulement 2 acides aminés les séparent. Les  $\beta$ -amyloïdes 1-40 existent principalement en tant que monomères, contrairement aux  $\beta$ -amyloïdes 1-42 qui se trouvent le plus souvent sous forme de trimères et de tétramères. Les  $\beta$ -amyloïdes 1-40 et 1-42 forment tout deux des fibrilles, mais n'adoptent pas les mêmes mécanismes de configuration. Les  $\beta$ -amyloïdes 1-42 forment des fibrilles en forme de pentamères ou d'hexamères, alors que les  $\beta$ -amyloïdes 1-40 forment des fibrilles par addition de monomères (Bitan et al., 2003). Les  $\beta$ -amyloïde 1-40 existent plus facilement sous forme d'oligomères, alors que les  $\beta$ -amyloïde 1-42, ont plus de facilité à former des agrégats due à la structure de leur c-terminal, et participent donc activement à la formation de plaques séniles.

Dans sa forme libre et à de très faibles concentrations, la fonction physiologique des  $\beta$ -amyloïdes endogènes est de participer à la consolidation de la mémoire (Garcia-Osta and Alberini, 2009). Elle régule notamment la formation des synapses, en modulant la libération des vésicules présynaptiques, et augmente l'activité synaptique dans l'hippocampe (Abramov et al., 2009). Cependant, dans le cas de la maladie d'Alzheimer, les  $\beta$ -amyloïdes ne sont plus recyclés et dégradés par les lysosomes après leur utilisation. Par conséquent, la diminution de l'élimination des  $\beta$ -amyloïdes, dont le taux de production est très élevé, cause une accumulation dans l'espace extracellulaire et forme des plaques séniles, composées principalement de neurofibrilles Tau et de  $\beta$ -amyloïdes. (Bateman et al., 2006). Ces plaques neurotoxiques peuvent causer rapidement une apoptose neuronale de par leur effet oxydant (Deshpande et al., 2006). Cependant, de plus en plus d'études suggèrent que les  $\beta$ -amyloïdes sous forme d'oligomères seraient les plus neurotoxiques et ce bien avant l'apparition de plaques  $\beta$ -amyloïdes composées

de fibres de  $\beta$ -amyloïdes et de protéines Tau (Hsia et al., 1999); (Lue et al., 1999); (Tampellini et al., 2010).

### 3.4.2 Théories

La maladie d'Alzheimer est définie comme étant une maladie neurodégénérative progressive, dont les emprunts histopathologiques incluent la présence de plaques séniles formées d'accumulation de protéines  $\beta$ -amyloïdes, d'enchevêtrements neurofibrillaires de la protéine tau et d'une angiopathie amyloïde cérébrale (Love, 2005). L'origine de la maladie d'Alzheimer a donné lieu à plusieurs hypothèses. Parmi lesquelles, les hypothèses  $\beta$ -amyloïde, de la cascade des oligomères, Tau, inflammatoire et vasculaire.

L'hypothèse des  $\beta$ -amyloïdes met en cause l'accumulation d'oligomères  $\beta$ -amyloïdes générées par le clivage amylogénique d'APP par la  $\beta$  et gamma sécrétase. Ce clivage donne naissance à des résidus protéiques, dont les 1-40 sont les plus nombreux et les 1-42 sont les plus aptes à former des amalgames fibreux extracellulaires et seraient associé à l'apparition de la maladie d'Alzheimer (Hardy and Selkoe, 2002). Une version plus récente de l'hypothèse des  $\beta$ -amyloïdes est celle de la cascade des oligomères  $\beta$ -amyloïdes. Cette théorie met directement en cause l'augmentation des oligomères  $\beta$ -amyloïdes dans l'altération des fonctions cognitives dans la maladie d'Alzheimer (Hayden and Teplow, 2013).

L'hypothèse Tau aurait pour origine l'hyperphosphorylation des protéines tau et leur accumulation sous forme d'enchevêtrements neurofibrillaires intracellulaires. La cause de la neurodégénérescence de l'hypothèse inflammatoire serait la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires, générée par l'activation des astrocytes et de la microglie lors de leur activation par les  $\beta$ -amyloïdes.

Pour finir, l'hypothèse vasculaire stipule qu'une hypoperfusion cérébrale, associée à une pathologie microvasculaire, serait responsable d'une réduction de l'apport en oxygène et en nutriments résultant en une accumulation de plaques  $\beta$ -amyloïde, une inflammation et une diminution du nombre de synapses. Le laboratoire de Zlokovic a développé l'hypothèse vasculaire selon laquelle la maladie d'Alzheimer serait causée par une élimination défectueuse des  $\beta$ -amyloïdes. Il parle alors de trois théories. La première est l'hypothèse amyloïde, selon

laquelle les  $\beta$ -amyloïdes initient une chaîne d'événements menant à une neurodégénérescence et aux dysfonctions cognitives, vues dans la maladie d'Alzheimer. La deuxième, est l'hypothèse vasculaire en deux étapes. Dans ce cas, l'accumulation de  $\beta$ -amyloïdes serait un effet secondaire aux dommages vasculaires. La troisième est l'hypothèse vasculaire en une étape. Celle-ci met en cause la diminution du débit sanguin cérébral qui engendrerait une hypoxie et un bris de la barrière-hématoencéphalique, en plus de l'accumulation de macromolécules neurotoxiques. Dans ce cas de figure, l'accumulation de  $\beta$ -amyloïdes arriveraient avant ou après la diminution du débit sanguin (Sagare et al., 2013).

### **3.4.3 Le rôle de l'angiotensine II dans la maladie d'Alzheimer**

L'étude post-mortem de cerveaux de patients touchés par la maladie d'Alzheimer, montre une augmentation de la présence d'Ang II et de récepteurs AT1, dans le parenchyme de ces patients. Les neurones immunopositives pour l'Ang II sont associées avec la présence de plaques  $\beta$ -amyloïdes (Savaskan et al., 2001).

Dans les modèles transgéniques de la maladie d'Alzheimer, l'Ang II accélère le processus de la maladie d'Alzheimer, et augmente les dépôts de  $\beta$ -amyloïdes corticaux, en même temps que les  $\beta$ -amyloïdes solubles. Ces effets sont liés à la diminution des performances dans les tests de la piscine de Morris (Cifuentes et al., 2015a). Premièrement, l'Ang II augmente les  $\beta$ -amyloïdes par l'augmentation de l'activité des sécrétases, impliqué dans la voie amyloïdogénique lors du clivage de l'APP (Zhu et al., 2011). La perfusion intracérébroventriculaire d'ang II, augmente les  $\beta$ -amyloïdes 1-40 et 1-42 par l'augmentation de l'activité des  $\gamma$ -, et  $\beta$ -sécrétase, effet qui est aboli par le losartan (Zhu et al., 2011).

D'autre part, la production d'espèces réactives de l'oxygène, suite à l'activation des récepteurs AT1 par l'Ang II, augmente la formation de peroxyde d'hydrogène. Le peroxyde d'hydrogène active la  $\gamma$ -sécrétase qui augmente le clivage amylogénique des APP (Shen et al., 2008). Dans un modèle de coarctation trans-aortique, l'hypertension artérielle subséquente induit une augmentation des  $\beta$ -amyloïdes solubles (Carnevale et al., 2012a). Dans le modèle de souris surexprimant l'APP, l'inhibition des récepteurs AT1 par les sartans rétablit l'élimination des  $\beta$ -amyloïdes en plus de diminuer l'activité de la NADPH oxydase et le taux des espèces réactives de l'oxygène, qui sont tous les deux augmentés dans la maladie d'Alzheimer (Ongali et al.,

2014). Cet effet serait la conséquence du rétablissement de la perfusion cérébrale et de la réponse cérébrovasculaire par l'inhibition des AT1.

## **4. Le système immunitaire**

### **4.1 Généralités**

La première ligne de défense contre les pathogènes est le système immunitaire inné, comprenant les phagocytes, neutrophiles et macrophages, qui sont capable de reconnaître les signaux danger (DAMPs) ou les récepteurs de reconnaissance de motifs propres aux pathogènes, les PAMP (pathogen-associated molecular patterns) tel que les TLR (récepteur Toll-like). Ce système agit rapidement et de manière non-spécifique pour combattre les infections. Alors que le système immunitaire acquis est plus spécifique et fournit une réponse en fonction des pathogènes précédemment rencontrés. Il est basé sur la réponse des protéines capable de reconnaître les antigènes produits par les lymphocytes B ou présentés par les récepteurs de lymphocytes T (TCR). Ce système met en œuvre la reconnaissance du soi et du non-soi par le complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) de type I et de type II. Le CMH I est une molécule exprimée à la surface des cellules nucléées et identifie les cellules du soi. Pour monter une réponse immunitaire, les cellules présentatrices d'antigène (CPA) désintègrent les pathogènes, pour les exprimer à leur surface de manière à activer les lymphocytes et constituer le CMH II.

L'activation des lymphocytes T se fait à l'aide des cellules dendritiques qui présentent les antigènes dans le CMH II. Elles migrent ensuite dans les organes lymphoïdes secondaires pour les présenter aux lymphocytes T. Ce processus requiert la participation de co-stimulateurs tels que le CD80 et le CD86 sur les CPA et le CD28 sur les lymphocytes T (Marvar et al., 2012). La réponse adaptative repose sur la maturation et la prolifération des cellules en sous-types effecteurs, produisant des cytokines, et en cellules mémoires qui favorisent une réponse plus rapide lors d'une nouvelle infection.

### 4.1.1 Les lymphocytes T

Les lymphocytes T se divisent en trois catégories : les CD8+, les CD4+ et les CD4+ CD25+. Les CD8+ sont des cellules cytotoxiques qui répondent au CMH I et dont le rôle est de lyser les cellules cibles. Les CD4+, aussi appelé lymphocytes T helper (Th) ont pour fonction d'aider les autres cellules à monter une réponse immunitaire. Cette catégorie comprend les Th1, les Th2 et les Th17. Les CD4+ CD25+ aussi appelé lymphocytes T régulatrices (Treg), ont pour rôle de moduler la réponse immunitaire.

La maturation des lymphocytes T se fait classiquement dans le thymus. Une fois exposées à un antigène, ces cellules se multiplient pour monter une réponse immunitaire contre un pathogène spécifique. Les cellules T naïves (CD4+) ont besoin de trois types de signaux pour être activés : un antigène spécifique se liant au CMH II ; un co-stimulateur (CD80 ou CD86) et des cytokines pour promouvoir l'expansion et la différenciation des cellules.

Il y a trois types de CPA : les macrophages, les cellules B et les cellules dendritiques. Les cellules dendritiques sont les principales cellules présentatrices d'antigène. Elles capturent, traitent et présentent l'antigène aux cellules T pour provoquer une réponse immunitaire contre un antigène spécifique. Les cellules dendritiques acquièrent les antigènes avant leur migration vers les organes lymphoïdes secondaires, tels que les nœuds lymphatiques et la rate. Une fois arrivés dans les organes lymphoïdes secondaires, les antigènes sont présentés aux cellules T naïves (CD4+) qui seront différenciées en Th1, Th2, Th 17 et Treg.

Les CD4+ se différencient en Th1 sous l'influence de l'interleukine-12 et de l'INF-gamma pour monter une réponse immunitaire contre les virus et bactéries. Ce processus se fait par le biais des cellules dendritiques, des macrophages et de leur sécrétion d'INF gamma qui active le TNF $\alpha$ . La différenciation des CD4+, en présence de l'IL-4, forme des Th2 qui éliminent les parasites par l'intermédiaire de l'IL-4, l'IL-5 et de l'IL-13. En présence du TGF- $\beta$ , de l'IL-6 et de l'IL-1, les CD4+ se différencient en Th17 et produisent les cytokines IL17A, IL17F, IL21 et IL22. Ces dernières sont impliquées dans les réactions auto-immunes en plus de leur effet sur les bactéries.

Sous l'influence du TGF- $\beta$ , les CD4+ se différencient en Treg (CD4+ CD25+ Foxp3+) qui sont impliqués dans la prévention des réactions et maladies auto-immunes. Ceux-ci peuvent être naturels, lorsqu'ils sont produits dans le thymus, ou inductible, lorsqu'ils sont le résultat d'une

réponse immunitaire. Toutes deux sont associées au facteur de transcription Forkhead p3 (Foxp3) nécessaire à leur maturation. Une fois que les Treg ont atteint leur maturité, ils se retrouvent principalement dans les nœuds lymphatiques et dans la rate (Fontenot et al., 2005).

#### **4.1 Inflammation vasculaire et hypertension**

Les modifications de la structure vasculaire sont le résultat de l'interaction entre les neutrophiles, les lymphocytes, les monocytes-macrophages et les cellules vasculaires, dont l'interaction se fait à travers l'expression de molécules d'adhésion, de facteurs de croissance cytokine et chémokines (Schiffrin, 2010). L'inflammation vasculaire serait responsable du développement et du maintien de l'hypertension artérielle.

Deux théories sont mises en évidence pour expliquer l'effet de l'hypertension artérielle sur l'inflammation vasculaire. La première stipule que l'augmentation de la pression artérielle cause des lésions intravasculaires qui favorisent l'infiltration des Th dans les artères. La libération de cytokines par les cellules infiltrées provoquerait une augmentation des espèces réactives de l'oxygène, qui envoient un signal dans les OCV et dans le noyau paraventriculaire de l'hypothalamus. Cette chaîne d'événements déclencherait l'augmentation pathologique de la pression artérielle (Kang et al., 2008).

La deuxième théorie, développée par Harrison et al., est que l'hypertension artérielle se développerait en deux temps et aurait pour origine les OCV. Dans un premier temps, certains stimuli, tels qu'un stress chronique, une augmentation de sodium et/ou d'Ang II, causeraient une pré-hypertension (135-140 mm Hg) en activant les systèmes centraux régissant la pression artérielle, ainsi qu'une augmentation de cytokines pro-inflammatoires dans les OCV. Pendant cette phase, l'Ang II faciliterait l'infiltration de macrophages et de lymphocytes T dans les artères, le rein et le tissu adipeux périvasculaire. L'augmentation de la pression artérielle et de la norépinéphrine, en plus des dommages oxydatifs causés par l'augmentation de l'Ang II, mènent à la formation de néoantigènes et de cytokines pro-inflammatoires (IL-6) dans les artères et les reins. Les néoantigènes, possiblement formés par les espèces réactives de l'oxygène, sont présentés aux cellules T par les macrophages et les cellules présentatrices d'antigènes (CPA). Une fois activés, les lymphocytes T libèrent des chémokines et des cytokines pro-inflammatoires telles, que l'L-17. Ceux-ci qui agiraient de concert avec l'Ang II, le sodium et

les catécholamines pour faciliter le recrutement et l'infiltration de T et causer des dysfonctions vasculaires, une vasoconstriction et un remodelage vasculaire qui mène à une augmentation de la rétention du sodium et de la pression artérielle (Harrison et al., 2012). (Figure 9).

**Figure 9. Mécanismes impliqués dans la relation entre l'inflammation vasculaire et l'hypertension artérielle**

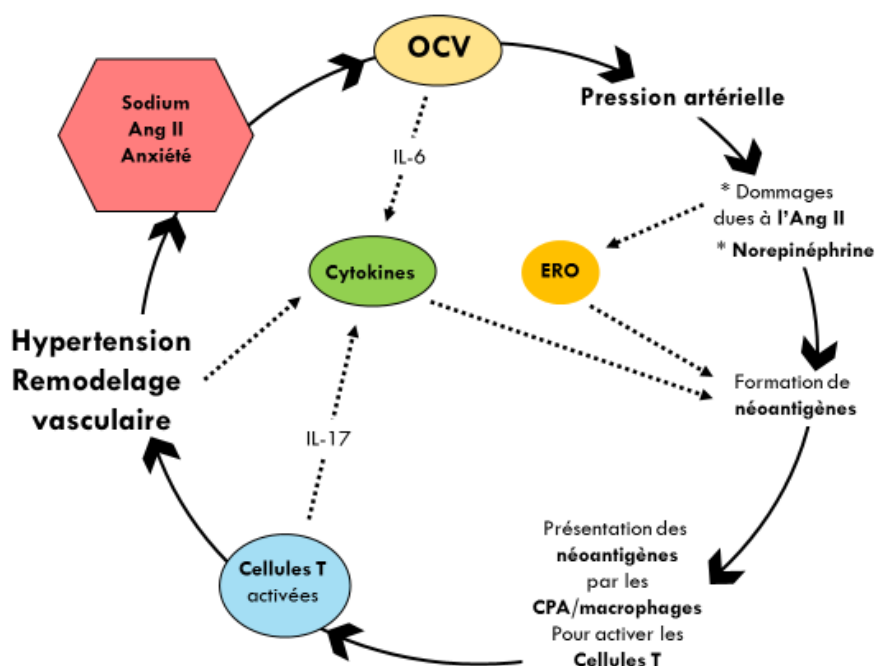


Figure 9 : le sodium, l'angiotensine II (Ang II) et l'anxiété sont des facteurs qui participent à l'augmentation de la pression artérielle et à la formation de cytokines pro-inflammatoires (IL-6) par les organes circumventriculaires (OCV). L'augmentation de la pression artérielle en plus des dommages causés par l'Ang II, qui forment des espèces réactives de l'oxygène (ERO), forment des néoantigènes qui sont présentés aux cellules T par les cellules présentatrices d'antigènes (CPA) et les macrophages. Les cellules T activées produisent de l'IL-17 et participent au maintien de l'hypertension artérielle et au remodelage vasculaire. Ces derniers augmentent la rétention de sodium par le rein et la production d'Ang II.

Ces mécanismes contribuent à l'augmentation de la rigidité artérielle par l'augmentation de la prolifération des cellules musculaires lisses, mais aussi par l'infiltration de cellules immunitaires



résultant en une inflammation vasculaire qui précède et/ou accompagne l'hypertension artérielle.

### **4.3 Le rôle du système immunitaire dans l'hypertension**

Les macrophages, les lymphocytes B et T expriment aussi plusieurs éléments du SRA tel que le récepteur AT1, l'angiotensinogène et l'enzyme de conversion de l'angiotensine (Nataraj et al., 1999). Leur SRA endogène est essentiel à l'activation et la transmigration des lymphocytes T à travers l'endothélium. Dans un modèle cellulaire, la transmigration et l'adhésion des cellules T sont inhibées par l'ajout de losartan (Silva-Filho et al., 2011).

De ce fait, il a été découvert que les lymphocytes T pourraient interagir avec l'Ang II et auraient éventuellement un rôle à jouer dans le développement de l'hypertension artérielle. Une des premières études à attirer l'attention sur le rôle des lymphocytes T, dans le développement de l'hypertension artérielle, était faite par Guzik et al, chez des souris RAG-1<sup>-/-</sup>, qui n'expriment ni les lymphocytes T ni les lymphocytes B (Guzik et al., 2007). Cette étude révèle que, chez ces souris, la perfusion de 400 ng/kg/mn d'ang II, pendant 14 jours, ne cause pas d'augmentation de la pression artérielle ni de dysfonctions vasculaires. Toutefois, les effets de l'Ang II sont rétablis par un transfert de lymphocytes T, mais pas par les lymphocytes B. Plus particulièrement, ce rétablissement dépendrait de l'activation des récepteurs de la NADPH oxydase, car le transfert de cellules T qui n'exprimaient pas la NADPH oxydase, ou le récepteur AT1, n'ont pas rétablis les effets délétères de l'Ang II. Cette étude suggère donc que l'activation des récepteurs AT1 et de la NADPH oxydase, présents sur les lymphocytes T, est nécessaire au développement de l'hypertension artérielle provoqué par l'Ang II.

Cette réaction est également présente dans plusieurs modèles animaux ayant un système immunitaire déficient. Un traitement immunosuppresseur, chez le rat 'Dalt-salt sensitive', prévient les dysfonctions rénales et l'augmentation de la pression artérielle, normalement causée par un régime élevé en sel (Tian et al., 2007) (Muller et al., 2002). De même, les souris SCID, n'ayant pas de lymphocytes T activés, ne développent pas d'augmentation de la pression artérielle avec une perfusion d'Ang II (Crowley et al., 2010). Une autre étude a démontré que le transfert de Treg diminue également le pourcentage de lymphocytes T activés, et que cet effet est corrélé avec une diminution de l'hypertrophie et la fibrose cardiaque induite par l'Ang II (Kvakan et al., 2009).

Dans le but de préciser le type de lymphocytes impliqués dans ce phénomène, une étude menée par le laboratoire du Dr Schiffrin a démontré l'effet des cellules Treg sur l'hypertension artérielle. En effet, en utilisant un modèle de souris adultes, perfusés d'ang II 1000ng/kg/mn pendant 14 jours, ils ont démontré que l'injection de cellules Treg chez des souris prévenait l'hypertension artérielle et les dysfonctions endothéliales chez ces souris (Barhoumi et al., 2011). Dans cette étude, l'Ang II augmentait de 150% l'activité de la NADPH oxydase, en plus de l'infiltration des macrophages et des cellules T dans l'aorte. Dans les artères mésentériques, l'expression des molécules d'adhésions était multipliée par deux et la vasodilatation dépendante de l'endothélium, mesurée par stimulation avec l'Ach, diminuée de 70%. L'Ang II causait aussi une rigidité artérielle et une augmentation de la pression artérielle de 43%. L'injection de cellules Treg prévenait toute les dysfonctions vasculaires causées par l'Ang II, alors que l'injection de cellules Th n'avait aucun effet.

La manière dont l'Ang II interagit avec les lymphocytes T reste à préciser. Cependant, Matrougui et al. indiquent que l'Ang II affaiblit les réserves de Treg en causant une apoptose de celles-ci. Cet effet pouvait être empêché par un prétraitement des Treg avec du candesartan. L'activation des récepteurs AT1 par l'Ang II serait donc directement impliquée. Leur rôle de régulateur de l'activité du système immunitaire serait conséquemment compromis en présence d'une augmentation du taux d'Ang II (Matrougui et al., 2011).

#### **4.4 Les lymphocytes T**

Les Treg agiraient principalement par la modulation de la réponse des Th (Sakaguchi et al., 1995). Ces cellules Treg sont un sous-type de lymphocyte T CD4+ qui expriment la chaîne CD25 et le facteur de transcription FoxP3 (Sakaguchi et al., 1995). Les souris n'exprimant pas le Foxp3, ne peuvent produire de Treg CD4+CD25+, et meurent rapidement d'un syndrome lymphoprolifératif auto-immun (Fontenot et al., 2003).

Le Foxp3 se retrouve également dans plusieurs autres types de cellules tel que les CD4+ CD25-, les CD8+, les lymphocytes B, les macrophages et les cellules dendritiques, mais à de très faibles proportions. Alors que dans les cellules CD25+, seules celles qui expriment un taux élevé de Foxp3 ont un taux de suppression adéquat (Hori et al., 2003). La fonction exacte de Foxp3 n'est pas clairement définie. Une analyse de son génome indique qu'il se lie à une région de 770 à 1000 gènes associés à la régulation des récepteurs de cellules T. Les gènes associés

aux Foxp3 dans les Treg étant soit augmentés soit diminués, il est possible que le Foxp3 agisse en tant qu'activateur et/ou répresseur de la transcription dans ces cellules (Zheng and Rudensky, 2007).

#### 4.4.1 Mécanismes d'inhibition des Treg

Les cellules Treg peuvent exercer leur fonction via différents mécanismes. Les Treg peuvent inhiber les Th par l'expression d'un antigène spécifique en assurant la discrimination du soi et du non-soi. Ce modèle requiert la participation de trois types de cellules : les Treg, les Th et cellules présentatrices d'antigènes (CPA) (León et al., 2000). L'inhibition par contact direct se fait par l'agrégation des Treg autour des Th pour limiter leur accès aux cellules dendritiques. Une étude *in vitro*, dans les nœuds lymphatiques de souris, a démontrée par microscopie 2-photons, que les Treg s'agrègent autour des Th et inhibent ainsi leur activation et leur prolifération en empêchant les cellules dendritiques d'y accéder. *In vitro*, les Treg peuvent agir directement sur les cellules dendritiques en modifiant leurs protéines de surface pour qu'elles diminuent l'expression du CMH de type II et l'IL-12 (Tang and Bluestone, 2006). Cette agrégation diminue l'expression des CD80 et CD86 sur les cellules dendritiques, deux molécules de surface qui se lient en temps normal aux cellules Th pour les activer (Sakaguchi et al., 2009). Les Treg suppriment également les Th dont le récepteur de cellules T présente une affinité trop faible. Plus le signal du récepteurs de cellules T est fort et plus les Th deviennent réfractaires à une suppression de la part des Treg (Baecher-Allan et al., 2002). Les cellules Treg peuvent aussi inhiber l'activation et la prolifération des Th par le CTLA-4 (cytotoxic T lymphocyte antigen 4), par leur absorption de cytokines pro-inflammatoires ou par leur production de cytokines anti-inflammatoire (IL-10 et IL-35) (Fontenot et al., 2003).

Les cytokines anti-inflammatoires peuvent avoir une action indirecte sur le système immunitaire et agir notamment sur la différenciation des cellules pro-inflammatoires. La production d'IL-10 par les Treg empêche les CD4<sup>+</sup> naïves de se différencier en Th17, favorisant plutôt la formation de Treg (Niedbala et al., 2007, 2013). L'activation des récepteurs à l'IL-10, présent sur les Th17, peuvent avoir le même effet et inhiber leur différenciation et leur prolifération (Huber et al., 2011). L'IL-10 peut aussi directement influencer la différenciation des CD4<sup>+</sup> naïves en Treg produisant de l'IL-10 (Groux et al., 1997). Alors que la présence de cytokines pro-

inflammatoires (IL-6 et IL-1) inhibe le développement des Treg et oriente la différenciation des CD4<sup>+</sup> en Th17. Les Th17 participent aux réactions et aux maladies auto-immunes contrairement aux Treg qui sont associées à la suppression des réponses immunes innées et adaptatives (Akdis, 2009).

L'implication des Treg dans l'hypertension artérielle pourrait ainsi se faire à plusieurs niveaux. Tout d'abord, par contacte directe avec les Th, empêchant leur activation et leur prolifération. Ce mécanisme empêcherait également leur migration dans les cellules endothéliales, et leur libération de facteurs pro-inflammatoires qui entretiennent l'inflammation vasculaire. Ensuite, les Treg pourraient agir par leur libération de cytokines anti-inflammatoires, parmi lesquels la production d'IL-10 serait un mécanisme possible pour expliquer leurs effets sur les fonctions vasculaires lors d'une l'hypertension artérielle.

#### **4.4.2 Fonctions de l'interleukine-10**

L'IL-10 est une cytokine anti-inflammatoire produite par les Treg, mais aussi par les Th1, Th2 et les Th17 (Del Prete et al., 1993 ; Jankovic et al., 2007). Dans le cadre de l'hypertension artérielle, il y a une augmentation de l'apoptose des Treg par l'Ang II. Cette réduction du nombre de Treg s'accompagnant d'un appauvrissement du taux d'IL-10 plasmatique (Matrougui et al., 2011). Ces résultats suggèrent que la production d'IL-10, en condition d'hypertension artérielle provoqué par l'Ang II, serait dépendante des Treg. De plus, si l'IL-10, produit par les Treg, est inhibé par un antagoniste, l'injection de ces Treg chez des souris perfusées à l'Ang II, n'a pas l'effet escompté. C'est-à-dire que ce traitement ne rétablit pas la réponse endothéliale et l'activité de la NADPH oxydase dans les artères. De même, l'injection de Treg provenant de souris IL-10 KO (Treg IL-10 KO), et donc ne produisant pas d'IL-10, ne peut rétablir la réponse endothéliale chez ces mêmes souris, contrairement à l'injection de Treg provenant de souris type sauvage (Kassan et al., 2011).

Plusieurs mécanismes d'action sont impliqués dans l'effet de l'IL-10 sur les fonctions vasculaires. Premièrement, l'IL-10 peut agir sur les artères en favorisant la vasodilatation. L'IL-10 seul est un faible vasodilatateur et ne participe qu'à 20% de la vasodilatation, si l'eNOS est inhibée. Par contre, l'IL-10 stimule la phosphorylation de la eNOS, et peut ainsi augmenter la biodisponibilité du NO dans les cellules endothéliales et favoriser la dilatation des artères. L'IL-10 réduit également l'activation de la NADPH oxydase, participant ainsi à la diminution de la

production d'anion superoxyde (Kassan et al., 2011). La diminution du stress oxydant ayant un effet double sur le NO et participe à l'augmentation de sa biodisponibilité en réduisant la possibilité de former du peroxyde nitrite avec l'anion superoxyde.

L'IL-10 a également un impact sur l'activation et la prolifération des macrophages (O'Farrell et al., 1998) et des Th17 qui expriment le récepteur à l'IL-10. La différenciation des cellules CD4+ naïves peut être influencée par l'IL-10 pour que celles-ci forment des cellules sécrétant de l'IL-10 (Groux et al., 1997). Pour finir, l'IL-10 renverse l'inflammation en inhibant l'activité de l'I $\kappa$ B et, par conséquent, inhibe le NF- $\kappa$ B ainsi que l'activation de la transcription des facteurs pro-inflammatoires, tel que le TNF $\alpha$  et l'IL-6 (Wang et al., 1995).

L'IL-10 joue un rôle important dans la modulation de l'immunité dans plusieurs maladies et a la possibilité d'agir sur plusieurs voies d'activation de la réponse immunitaire. L'IL-10 serait donc un élément clé dans l'effet des cellules Treg sur l'inflammation.

## **5. Objectifs**

L'objectif de cette thèse était tout d'abord de déterminer si l'Ang II avait un rôle dans le développement des dysfonctions cognitives et de l'anxiété, observés chez les patients hypertendus. Ensuite, nous avons cherché à évaluer si ces dysfonctions cognitives étaient reliées des défauts fonctionnels au niveau du cortex et de l'hippocampe, tous deux impliqués dans la mémoire spatiale, et s'il y avait également une corrélation avec l'augmentation des  $\beta$ -amyloïdes dans ces régions.

Pour finir, sachant que l'hypertension artérielle à une importante composante inflammatoire, étant considéré comme une inflammation chronique des artères, nous avons cherché à savoir comment le système immunitaire, et plus particulièrement les lymphocytes T et l'IL-10, influencent la réponse cérébrovasculaire chez les sujets sains et hypertendus par perfusion d'Ang II.

## **Deuxième partie : Publications**

### **Résumé de l'étude 1**

**La perfusion d'angiotensine II chronique cause une dysfonction cognitive et de l'anxiété chez la souris.**

**Par**

S. Duchemin, E. Belanger, R. Wu, G. Ferland and H. Girouard

Une pression artérielle élevée est un facteur de risque important dans le développement des maladies cardiovasculaires et des dysfonctions cognitives. Cependant, les mécanismes impliqués ne sont pas encore élucidés et les traitements antihypertenseurs restent inefficaces dans la prévention des déclin cognitifs associés aux maladies cardiovasculaires. L'angiotensine II (ang II) est un peptide impliqué dans le maintien de l'hypertension artérielle dont l'effet aigu a souvent été étudié, contrairement à son effet chronique. L'objectif de cette étude est d'évaluer si une hypertension, causée par un taux chroniquement élevé d'ang II, modifie les fonctions cognitives chez les souris C57BL6. Pour cela, nous avons administré une perfusion de 1900 ng/kg/min d'ang II, une concentration qui augmente rapidement la pression artérielle et la maintient élevée pendant toute la durée de l'étude. Nous avons comparé ce groupe à un groupe contrôle recevant une solution de salin. La pression artérielle, mesurée à l'aide d'une technique non-invasive de brassard placé au niveau de la queue, était contrôlée chaque semaine pendant toute la durée de l'étude. Nous avons évalué la mémoire spatiale, à l'aide du test de la piscine

de Morris, et l'anxiété, par le test de la croix surélevée et du champs ouvert, après 14 et 21 jours de perfusion d'ang II. Les résultats indiquent que la perfusion d'ang II cause un déficit d'apprentissage associé à une augmentation d'un comportement anxieux, à partir de 21 jours de perfusion. L'ang II n'a modifié ni la motricité ni l'acuité visuelle chez ces souris car les résultats de ces tests étaient équivalents aux contrôles. Ces données suggèrent une forte corrélation entre la perfusion d'ang II et le développement de dysfonctions cognitives et d'anxiété.

### **Contributions**

L'implantation des pompes a été effectuée par Rong Wu, Mélissa Beauvillier, Sonia Duchemin. Les tests de la piscine de Morris et de la croix surélevée ont été réalisés par Elisabeth Belanger, du laboratoire de la Dre Ferland, et par Sonia Duchemin. Les pressions ont été prise par Rong Wu, Melissa Beauvillier et Sonia Duchemin. Les statistiques, graphiques et la rédaction de l'article ont été réalisés par Sonia Duchemin. La correction de l'article a été faite par Dre Girouard.

## Étude 1 (Publiée)

[Physiol Behav.](#) 2013 Jan 17;109:63-8. doi: 10.1016/j.physbeh.2012.10.005.

### **Chronic perfusion of angiotensin II causes cognitive dysfunctions and anxiety in mice**

S. Duchemin <sup>a</sup>, E. Belanger <sup>b</sup>, M. Beauvillier <sup>a</sup>, R. Wu <sup>a</sup>, G. Ferland <sup>b</sup> and H. Girouard <sup>a</sup>

Duchemin *et al*: Angiotensin II, cognitive dysfunction and anxiety

<sup>a</sup>Department of Pharmacology, Université de Montréal, Montréal, Canada

<sup>b</sup>Department of Nutrition, Université de Montréal, Montréal, Canada

**Conflicts of Interest / Disclosures:** None

**Keywords:** hypertension, angiotensin II, memory, learning, anxiety

**Corresponding Author:**

Helene Girouard, PhD,

Assistant Professor,

Department of pharmacology, Faculty of medicine,

Université de Montréal

Pavilion Roger-Gaudry, 2900 Edouard Montpetit,

Montréal (Québec) H3T 1J4 Canada

Tel: +1 514 343-6111 ext: 32786

Fax: +1 514 343-2291

E-mail: [helene.girouard@umontreal.ca](mailto:helene.girouard@umontreal.ca)



## **Abstract**

High blood pressure is a major risk factor in the onset of cerebrovascular diseases and cognitive impairment. However, mechanisms by which these occur remain unclear and treatments are, therefore, ineffective to prevent cognitive decline related to cardiovascular diseases. Angiotensin II is a peptide involved in the onset and the maintenance of hypertension and its effect on cognition was studied acutely but never chronically. Hence, the aim of this study is to evaluate whether chronic hypertensive levels of angiotensin II infusion alter cognitive functions in C57BL6 mice. In this study, we used subcutaneous mini-pumps containing a concentration of angiotensin II (1900 ng/kg/min) that induces malignant hypertension or a saline solution for 14 and 21 days. Blood pressure was carefully monitored by a non-invasive tail-cuff method every week throughout the experiment. Spatial memory was assessed using the Morris water maze test and anxiety was measured by the elevated plus maze and the open field tests. The results indicate learning and spatial memory deficit as well as an anxious behavior induced by angiotensin II, in comparison to the vehicle group, starting at the 3rd week of perfusion. The motricity and visual acuity were equivalent in angiotensin II perfused mice compared to their respective control. These results suggest a strong relationship between angiotensin II and the development of cognitive dysfunctions and anxiety along with sustained high blood pressure.

## **Introduction**

On a worldwide scale, one out of three adults are affected by hypertension [1]. This condition is a major risk factor for mild cognitive impairment (MCI) and vascular dementia [2] [3] [4], both involved in a poor quality of life in the aging population. Unfortunately, preventive treatments are not yet available and the underlying pathways remain unknown.

Clinical studies on patients suffering from hypertension revealed that they experience MCI symptoms, especially more difficulties in attention, calculation and language tasks than non-hypertensive controls [5]. Although MCI is a condition which does not interfere with patient's autonomy, it is important to note that in 50% of the cases this condition leads to vascular dementia [6]. Inhibitors of the renin-angiotensin system have been of interest for a few decades and have successfully been used to lower blood pressure in clinical studies. However, the

possible effect of antagonists of type 1 angiotensin II receptor (AT1) or angiotensin converting enzyme inhibitors (ACEi) on cognition and dementia are still widely debated [7-11].

High blood pressure is also correlated with mood changes. Anxiety is the most prevalent (33%) co-morbid condition of hypertension [12] [13]. This condition alone can cause transient high blood pressure but is not responsible for continuous hypertension. Nevertheless, captopril, an ACEi, have been proven to be as efficient as alprazolam, an anxiolytic, to acutely lower blood pressure [14] [15]. In rodents, candesartan lowers anxiety in the elevated plus maze [16] and is also known to improve memory decline induced by streptozotocin [17].

Early studies in rodents demonstrated different influence of angiotensin II (ang) on cognition. In 1985, Georgiev *et al* [18] showed that ang II injected directly in the cerebral ventricles 15 minutes before training improved memory in active avoidance task and in shuttle box trained rats. In contrast, ang II blocked memory consolidation in step-down inhibitory avoidance task, when injected in the dorsal hippocampus CA1 region up to 30 minutes after training [19]. These studies focused on the local effect of ang II on brain tissue and did not look upon the role of circulating ang II on the brain's functions. The most recent study linking ang II and cognition was conducted on transgenic renin/angiotensinogen mice. This study revealed that a continuous activation of the RAS (renin-angiotensin system) in transgenic mice decreased the avoidance rate in shuttle avoidance tests [20]. An increase in reactive oxygen species (ROS) production through NADPH oxidase activity and lower cerebral blood flow both correlated with the reported cognitive impairment. Although transgenic mice are very useful to understand mechanical pathways, we can never exclude developmental adaptation from the genetic modification.

We chose to work on a wild type mouse model of malignant hypertension by a continuous perfusion of a high dose of ang II to verify whether it could induce cognitive dysfunction and anxiety over time.

## **Methods**

### ***2.1. Animals***

All procedures were approved by the committee on the Ethics of Animal Experiments of the Université de Montréal and were performed in accordance with the principles outlined by the Canadian Council on Animal Care. Eight-week-old C57BL/6 (Charles River Canada) male mice

were used for this study. They were housed in individual home cages, followed a 12/12 light/dark cycle and had access to food and water *ad libitum*. The animals were divided into four groups (n=10): 14 days, 21 days ang II (1900 ng/kg/min; ang II acetate; Sigma) infusion and matching controls receiving 0.9% saline solution. This model of malignant hypertension created by perfusion of ang II at a rate of 1900 ng/kg/min shows stable rise in blood pressure, increased cerebral reactive oxygen species production and neurovascular coupling impairment [21]. The first group started the behavioral studies on the 14<sup>th</sup> day of ang II perfusion and the second group started on the 21<sup>st</sup> day of ang II perfusion. A subcutaneous 28 day treatment with osmotic mini-pumps can cause necrosis of the skin directly above the pump and cause the pump to fall off. All animals who lost their pumps were excluded from the study.

### ***2.3. Osmotic pumps implantation for sustained delivery of ang II***

The surgery was performed under isoflurane anesthesia. After induction (5% isoflurane + oxygen), the anesthesia was maintained with 1.5% isoflurane through a face mask. The skin was cleaned with 70% ethanol between the ears and a small skin incision was made to insert an osmotic pump under the skin in the lower back region. The wound was closed with surgical staples and covered with Marcaine solution. Each osmotic pump (Alzet model 1004) delivered 0.11 ul/hour for a 28-day period and was filled with either 1900 ng/kg/min of ang II or a 0,9 % saline solution.

### ***2.4. Blood pressure measurement***

Blood pressure was taken by non-invasive tail-cuff plethysmography (Kent scientific Co.). The measurements were taken twice a week before surgery to accustom the mice to the procedure. Afterwards, blood pressure was measured once a week until the end of the experiment. The animals were displaced in the blood pressure measurement room at least one hour before measurements. All measurements were taken between 8AM and noon. For each animal, 10 acclimation cycles were done, followed by ten measurements for each time point. Ten measurements were performed to ensure to get at least 3 valid blood pressures. Data were not considered valid by the software in the following situations: 1) blood flow was insufficient in the tail; 2) the overall shape of the trace did not fit the expected profile; 3) the diastolic and systolic readings occurred too far apart or too close together.

### ***2.5. Morris water maze***

The MWM is used to measure spatial learning and memory in rodents. It is mainly a hippocampus-dependant task, but many other brain regions are involved, like mammillary bodies and amygdala also involved in memory [22]. The apparatus consists of a circular pool (160 cm in diameter and 45 cm high) filled with water and skim milk powder for contrast. This pool is virtually divided into four quadrants. A clear Plexiglas escape platform (10 cm diameter) is placed 1.5 cm beneath the surface in the northeast quadrant. Visual cues of different shapes were placed on the walls of the pool. The light was dimmed and the water temperature kept at  $20 \pm 1^\circ\text{C}$  degree. Trials were recorded using an overhead camera (HVS 2020 tracker) placed in the center point above the pool. Data was acquired and analysed by the Water 2020 software (HVS Image, Hampton, UK). The training phase lasted 4 days during which the mouse was allowed three 60 second trials per day to find the escape platform. Each trial was 20 minutes apart. The cue and probe tests were administered on the 5<sup>th</sup> day. During the cue test, some water was removed so that the escape platform became visible. Two trials were given to evaluate sight and motricity. Sight was measured by the latency finding the escape platform and motricity was assessed by the speed of the mice during the trial. The platform was then removed and two 30 second trials were given to measure memory. The time spent in the platform quadrant was taken as a memory indicator.

### ***2.6. Elevated plus maze***

This anxiety test is a cross shaped maze made of two open and two closed arms ( $90 \times 8$  cm) 70 cm above ground level. Mice are placed in the junction of the four arms of the maze and are observed as they explore the maze freely for 300 seconds. Elevated open spaces are a strong anxiety source for rodents who will seek refuge in closed spaces. The time spent in open arms as well as the total number of entries in open and closed arms were used as a measure of anxiety.

### ***2.7. Open field***

The open field is made of an open  $50 \times 50$  cm square box subdivided into 16 squares  $25 \times 10$  cm<sup>2</sup>. The mouse was given one single trial of 300 seconds. The total path length and time spent in the four center squares are taken as an anxiety measurement. Trials were recorded using a camera (HVS 2020 tracker) and the data was acquired and analysed by the Water 2020 software (HVS Image, Hampton, UK).

## **2.8. Statistics**

Results are expressed as mean  $\pm$  SD. Two-way ANOVA was used for paired data with Bonferroni analysis for multiple comparisons. Unpaired Student's t-test was used for unpaired data. The p-value  $< 0.05$  was used as statistical significant level.

## **Results**

### **3.1. Blood pressure**

Ang II significantly raised the mean systolic blood pressure (SBP) by  $50 \text{ mmHg} \pm 7 \text{ mmHg}$ , during the first week of infusion compared to the control group (Two-way Anova;  $p < 0.001$ ). The SBP remained constant throughout the experiment. (Fig. 1)

### **3.2. Spatial learning and memory assessment**

During the training days, the mean latency for finding the escape platform was measured to assess spatial learning abilities. The first group tested after 14 days of ang II infusion did not show differences in learning abilities. However, the group tested after 21 days (Fig. 2) showed significant learning impairment (Two-way Anova;  $p < 0.05$ ).

Memory impairment was confirmed by the probe test (Fig. 3), where the escape platform was removed and the latency in the correct quadrant was taken as a memory measure. The time spent in the correct quadrant after 21 days of ang II administration was less compared to the control group. The probe in the 14-day group did not show any difference in the time spent in the platform quadrant compared to controls.

The cue test, where the latency is used to measure sight and speed to evaluate motricity, showed no significant difference between ang II-perfused mice compared to their controls (Fig. 5).

### **3.3. Anxiety measurement**

Anxiety was assessed by the elevated plus maze and the open field tests (Fig. 4). In the elevated plus maze the time spent in open arms by the ang II infused mice was significantly different from control in the 21-day group (Unpaired Student's t-test;  $p < 0.05$ ) and no significant difference in anxiety was noted in the 14 day groups. The number of total arms entries was not different from control. The time spent in the center square and the distance traveled was significantly different from control (Unpaired Student's t-test;  $p < 0.05$ ). In the open field, the

21-days group spent less time in the four center squares and travelled a shorter distance than the control group.

## **Discussion**

The present study demonstrates for the first time that a chronic subcutaneous delivery of ang II changes the animal's behaviour after three weeks of perfusion. In this model, we found that learning abilities and spatial memory are impaired and anxiety levels are higher compared to the control group. Interestingly, ang II caused steady blood pressure rise after a few days but no memory or anxiety differences were found before three weeks of perfusion.

In this experiment, we have limited the learning phase to 4 days since previous experiments showed that mice reached a plateau in their learning abilities after the 4<sup>th</sup> day. Our results show that chronic ang II-induced hypertension in adult mice impairs the rate of memory acquisition. In the 2<sup>nd</sup> and 3<sup>rd</sup> day of the learning phase the performance of the ang II group were lower than control. Although, in the Morris water maze, the task is learned by the 4<sup>th</sup> day of trial in the ang II group, their performance at the memory task on the 5<sup>th</sup> day was poor compared to the saline group.

We acknowledge that mice from the 21 days group in both condition performed better than the 14 days group. We do not have obvious physiological explanation however, latencies in the MWM have been observed to vary among animals in a given group of a given strain. Given that both experiments were conducted in identical conditions differences in latencies may simply be due to random selection of the animals. This difference is also reflected in the cue phase (fig. 5) of the MWM showing shorter latency for the 21-days group compared to the 14 days group even with a visible target. Nevertheless, at the time the experiment was conducted, mice from the ang-II group did not perform as well as the controls. In fact, it could be argued that the group difference observed in the 21-days experiments is all the more convincing as the "overall" group latencies were lower hence offering a narrower margin to show a difference.

This result suggests that learning abilities are impaired, as the task takes longer to be processed, and that memory storage is affected.

Studies previously tested the effect of ang II on cognition using acute intracerebroventricular, intrahippocampal injections of ang II or transgenic RAS mice. These methods have different repercussions. Acute ICV injections of ang II increase blood pressure and heart rate are

anxiogenic and induce dog shake behaviour [23]. Injection in the hippocampus targets a restricted area and operates inside the blood-brain barrier. Continuous RAS activation in transgenic mice may cause developmental adaptation. These may interfere with the interpretation of the results. The present study has the advantage of chronically inducing stable blood pressure elevations in the adult life.

Hypertension is an important risk factor for small and large vessel diseases and both forms are involved in brain tissue lesions and dementia. Ang II does not pass the blood-brain barrier (BBB) but can access AT1 receptors through the circumventricular organs (CVO) and/or AT1 receptors in the endothelium [21]. The ROS production through the activation of ang II receptor in the CVOs is thought to be responsible for neurovascular coupling impairment [24]. However, because of the short distance (10 $\mu$ m) between endothelial cell containing AT1 receptors and the closest neuron, ROS may also act directly on neurons through its endothelial receptor. The delay between vascular dysfunctions, ROS production and spatial memory impairment could then be explained either by the supplementary time needed to decrease cerebral blood flow to a level that could impair cognition or by the evolution of neurotoxicity in response to ang II. This delay could implicate that cerebrovascular impairments and/or ROS production are precursors to cognitive impairment but do not acutely impair memory.

In humans, anxiety or stress will often elevate blood pressure but has not been proven to directly contribute to hypertension. Cognitive impairment is also a major symptom of anxiety disorder. According to a recent theory, the intentional control theory, when anxious persons have an attention deficit, they are not able to organise and store information in a proper way for it to be remembered correctly and efficiently. This hampers cognitive performance [25].

In our study, learning impairment is linked to higher anxiety in the elevated plus maze and in the open field challenges. Nevertheless, in rodents, the relationship between anxiety and cognition is not clearly established. For example, spontaneous hypertensive rats (SHR), which have lower anxiety level than other strains, also have poorer cognitive performance in the elevated plus maze discriminative avoidance task [26]. In the same task, SHR with the same level of anxiety performed better than non-hypertensive controls [27]. Also, C57BL/6 mice were also less anxious and less performant compared to Dilute Brown non-Agouti (DBA) mice that were more anxious and performed better in the modified hole board [28]. However, for mice in a plus maze discriminative avoidance paradigm chlordiazepoxide lowered anxiety and caffeine

raised anxiety level. Both drugs had amnesic effects [29]. In most studies, active avoidance tasks, step down inhibitory avoidance tasks or the shuttle box were used to assess learning behaviour. In our study, we chose to work with the Morris water maze to differentiate learning and memory. All of the above are fear motivated paradigms and are known to be anxiogenic in rodents. It is obvious that some level of anxiety is necessary for maximum performance and that excessive stress conditions will have the opposite outcome. However, anxiety tests currently available do not allow differentiation between positive and negative anxiety in rodents.

Cognitive dysfunctions and anxiety may be induced independently by ang II as a consequence of various physiological dysfunctions. Ang II and hypertension alike induce ROS production. The presence of ROS in the brain tissue causes neuronal apoptosis and neurodegeneration by lipid peroxidation [30]. Interestingly, in rat, oxidative stress induced by xanthine/xanthine oxidase, in drinking water, induced hypertension and anxiety [31]. The inhibition of ROS producing enzymes improves cognitive performance in various models such as the ischemic rats [32] and in a rat model of Alzheimer disease [33]. In addition, tocopherol reduces anxiety and cognitive impairments in the Ts65Dn mouse model of Down syndrome [34]. Cognitive impairment is also a major symptom of anxiety disorder.

Consequently, ang II may induce cognitive dysfunctions and anxiety independently of its effect on blood pressure. In experimental models and clinical studies, there are evidences that ACE inhibitors or AT1 receptor antagonists present supplemental beneficial effects over blood pressure lowering. For example, telmisartan at non-hypotensive dose attenuates cognitive impairment in mice with chronic cerebral hypoperfusion [35]. Similarly, AT1 receptor antagonist, E4177 or olmesartan, at doses that do not decrease blood pressure, significantly improves memory functions in Dahl salt-sensitive hypertensive rats [36] [37]. The present study is the first one to show that chronic ang II perfusion alters cognitive functions and induces anxiety. However, further studies with subpressive doses of Ang II will be necessary to tease apart the effects of high blood pressure on dementia risks.

In conclusion, our study provides evidence that chronic ang II perfusion leads to cognitive impairment and higher levels of anxiety in wild type mice. This study underlines the importance of angiotensin II on cerebral functions and suggests that cognitive impairment can be prevented if precursor markers are identified on time.



## Acknowledgments

This study was supported by funds from the Canadian Institutes in Health Research (CIHR), the 'Fonds de Recherche en Santé du Québec' (FRSQ) and the Canada Foundation for Innovation (CFI) to Hélène Girouard. Hélène Girouard was the holder of an operating grant from and a new investigator award from the FRSQ and the Heat and Stroke Foundation of Canada (HSFC). Guylaine Ferland receives funding from the Canadian Institutes of Health Research.

## References

- [1] Pereira M, Lunet N, Azevedo A, Barros H. Differences in prevalence, awareness, treatment and control of hypertension between developing and developed countries. *J Hypertens*. 2009; 27(5):963-75.
- [2] Padurariu M, Bild W, Stefanescu C. Cardiovascular risk factors as potential markers for mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Psychiatr Danub*. 2011;23(4):340-6.
- [3] Israeli-Korn SD, Masarwa M, Schechtman E, Abuful A, Strugatsky R, Avni S, Farrer LA, Friedland RP, Inzelberg R. Hypertension increases the probability of Alzheimer's disease and of mild cognitive impairment in an Arab community in northern Israel. *Neuroepidemiology*. 2010; 34(2):99-105.
- [4] Razay G, Williams J, King E, Smith AD, Wilcock G. Blood pressure, dementia and Alzheimer's disease: the OPTImaladie d'Alzheimer longitudinal study. *Dement Geriatr Cogn Disord*. 2009; 28(1):70-4.
- [5] Kuusisto J, Koivisto K, Mykkanen L, Helkala EL, Vanhanen M, Hanninen T, Pyorala K, Riekkinen P and Laakso M. Essential hypertension and cognitive function: The role of hyperinsulinemia. *Hypertension*. 1993; 22, 771-779
- [6] Rountree SD, Waring SC, Chan WC, Lupo PJ, Darby EJ, Doody RS. Importance of subtle amnesic and nonamnesic deficits in mild cognitive impairment: prognosis and conversion to dementia. *Dement Geriatr Cogn Disord*. 2007; 24(6):476-82.
- [7] The ONTARGET Investigators. Telmisartan, ramipril, or both in patients at high risk for vascular events. *The New England Journal of Medicine*. 2008; 358(15):1547–1559.

- [8] The Telmisartan Randomised Assessment Study in Acortex entorhinal intolerant subjects with cardiovascular Disease (TRANSCEND) Investigators. Effects of the angiotensin-receptor blocker telmisartan on cardiovascular events in high-risk patients intolerant to angiotensin-converting enzyme inhibitors: a randomised controlled trial. *The Lancet*. 2008; 372(9644):1174–1183.
- [9] Diener HC, Sacco RL, Yusuf S. 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*. 2008; 7(10):875–884.
- [10] Fogari R, Mugellini A, Zoppi A. Effect of telmisartan/hydrochlorothiazide vs lisinopril/hydrochlorothiazide combination on ambulatory blood pressure and cognitive function in elderly hypertensive patients. *Journal of Human Hypertension*. 2006; 20(3):177–185.
- [11] Li NC, Lee A, Whitmer RA, et al. Use of angiotensin receptor blockers and risk of dementia in a predominantly male population: prospective cohort analysis. *British Medical Journal*. 2010; 340:p. b5465.
- [12] Cheung BM, Au T, Chan S, Lam C, Lau Sh, Lee R, Lee S, Lo W, Sin E, Tang M, Tsang H. The relationship between hypertension and anxiety or depression in Hong Kong Chinese. *Exp Clin Cardiol*. 2005; 10(1): 21–24.
- [13] McLaughlin T, Geissler EC, Wan GJ. Comorbidities and associated treatment charges in patients with anxiety disorders. *Pharmacotherapy*. 2003; 23(10):1251-6.
- [14] Yilmaz S, Pekdemir M, Tural U, Uygun M. Comparison of alprazolam versus captopril in high blood pressure: a randomized controlled trial. 2011; 20(4):239-43.
- [15] Grossman E, Nadler M, Sharabi Y, Thaler M, Shachar A, Shamiss A. Antianxiety treatment in patients with excessive hypertension. *Am J Hypertens*. 2005; 18(9 Pt 1):1174-7.
- [16] Pavel J., Benicky J, Iarrayoz-roldan I, Murakami Y, Sanchez-lemus E, Zhou J, and Saavedra J. M. Peripherally administered Angiotensin II AT<sub>1</sub> receptor antagonists are anti-stress compounds in vivo. *Acad Sci*. 2008; 1148: 360–366.

- [17] Tota S, Kamat PK, Awasthi H, Singh N, Raghubir R, Nath C, Hanif K. Candesartan improves memory decline in mice: involvement of AT1 receptors in memory deficit induced by intracerebral streptozotocin. *Behav Brain Res.* 2009; 199(2):235-40.
- [18] Georgiev V, Yonkov D. Participation of angiotensin II in learning and memory. I. Interaction of angiotensin II with saralasin. *Methods Find Exp Clin Pharmacol.* 1985; 7(8):415-8.
- [19] Kerr DS, Bevilacqua LR, Bonini JS, Rossato JJ, Köhler CA, Medina JH, Izquierdo I, Cammarota M. Angiotensin II blocks memory consolidation through an AT2 receptor-dependent mechanism. *Psychopharmacology (Berl).* 2005; 179(3):529-35.
- [20] Inaba S, Iwai M, Furuno M, Tomono Y, Kanno H, Senba I, Okayama H, Mogi M, Higaki J, Horiuchi M. Continuous activation of renin-angiotensin system impairs cognitive function in renin/angiotensinogen transgenic mice. *Hypertension.* 2009; 53(2):356-62
- [21] Kazama K, Anrather J, Zhou P, Girouard H, Frys K, Milner TA, Iadecola C. Angiotensin II impairs neurovascular coupling in neocortex through NADPH oxidase-derived radicals. *Circ Res.* 2004; 12;95(10):1019-26.
- [22] D'Hooge R, De Deyn Peter P. Applications of the Morris water maze in the study of learning and memory. *Brain Research Reviews.* 2001; 36:60–90
- [23] Picard P, Chretien L, Couture R. Functional interaction between losartan and central tachykinin NK3 receptors in the conscious rat. *Br J Pharmacol.* 1995; 114(8): 1563-1570.
- [24] Capone C., Faraco G., Peterson J., Coleman C, Anrather J., Milner T, Pickel V., Davisson R., and Costantino Iadecola. Central Cardiovascular Circuits Contribute to the Neurovascular Dysfunction in Angiotensin II Hypertension. *The Journal of Neuroscience.* 2012; 32(14):4878–4886
- [25] Eysenck MW, Derakshan N, Santos R, Calvo MG. Anxiety and cognitive performance: attentional control theory. *Emotion.* 2007; 7(2):336-53.
- [26] Calzavara MB, Lopez GB, Abílio VC, Silva RH, Frussa-Filho R. Role of anxiety levels in memory performance of spontaneously hypertensive rats. *Behav Pharmacol.* 2004; 15(8):545-53.
- [27] Ferguson SA, Cada AM. Spatial learning/memory and social and nonsocial behaviors in the spontaneously hypertensive, Wistar-Kyoto and Sprague-Dawley rat strains. *Pharmacol Biochem Behav.* 2004; 77(3):583-94.

- [28] Frauke Ohl, Angelika Roedel, Elke Binder, Florian Holsboer. Impact of high and low anxiety on cognitive performance in a modified hole board test in C57BL/6 and DBA/2 mice. *European Journal of Neuroscience*, 2003; Vol. 17, pp. 128–136,
- [29] Silva RH, Frussa-Filho R. The plus-maze discriminative avoidance task: a new model to study memory-anxiety interactions. Effects of chlordiazepoxide and caffeine. *J. Neurosci Methods*. 2000; 102(2):117-25.
- [30] Reed T. T. Lipid peroxidation and neurodegenerative disease. *Free Radical Biology & Medicine* 51. 2011; 1302–1319
- [31] Salim S, Asghar M, Chugh G, Taneja M, Xia Z, Saha K. Oxidative stress: a potential recipe for anxiety, hypertension and insulin resistance. *Brain Res*. 2010; 1359:178-85.
- [32] Raz L, Zhang QG, Zhou CF, Han D, Gulati P, Yang LC, Yang F, Wang RM, Brann DW. Role of Rac1 GTPase in NADPH oxidase activation and cognitive impairment following cerebral ischemia in the rat. *PLoS One*. 2010; 5(9):e12606.
- [33] Pinnen F, Sozio P, Cacciatore I, Cornacchia C, Mollica A, Iannitelli A, D Aurizio E, Cataldi A, Zara S, Nasuti C, Di Stefano A. Ibuprofen and glutathione conjugate as a potential therapeutic agent for treating Alzheimer's disease. *Arch Pharm*. 2010; 344(3):139-48.
- [34] Shichiri M, Yoshida Y, Ishida N, Hagihara Y, Iwahashi H, Tamai H, Niki E.  $\alpha$ -Tocopherol suppresses lipid peroxidation and behavioral and cognitive impairments in the Ts65Dn mouse model of Down syndrome. *Free Radic Biol Med*. 2011; 50(12):1801-11.
- [35] Washida K, Ihara M, Nishio K, Fujita Y, Maki T, Yamada M, Takahashi J, Wu X, Kihara T, Ito H, Tomimoto H, Takahashi R. Nonhypotensive dose of telmisartan attenuates cognitive impairment partially due to peroxisome proliferator-activated receptor-gamma activation in mice with chronic cerebral hypoperfusion. *Stroke*. 2010; 41(8):1798-806.
- [36] Pelisch N, Hosomi N, Ueno M, Nakano D, Hitomi H, Mogi M, Shimada K, Kobori H, Horiuchi M, Sakamoto H, Matsumoto M, Kohno M, Nishiyama A. Blockade of AT1 receptors protects the blood-brain barrier and improves cognition in Dahl salt-sensitive hypertensive rats. *Am J Hypertens*. 2011; 24(3):362-8.

[37] Hirawa N, Uehara Y, Kawabata Y, Numabe A, Gomi T, Ikeda T, Suzuki T, Goto A, Toyo-oka T, Omata M. Long-term inhibition of renin-angiotensin system sustains memory function in aged Dahl rats. *Hypertension*. 1999; 34(3):496-502.

## Figure legends

**Fig. 1.** Mean systolic blood pressure (bars show mean  $\pm$ SD), n = 6-10. Two way Anova; \*p<0.05 vs week 0; Bonferroni, # p<0.05 vs Ctrl

**Fig. 2.** Training phase in the MWM (bars show mean  $\pm$ SD), n = 6-10. Time taken to find the platform during the four training days after 21 and 14 days of chronic angiotensin II administration compared to their controls. One way Anova, \*p<0.05 vs day 1; Two way Anova, Bonferroni, # p<0.05 vs Ctrl

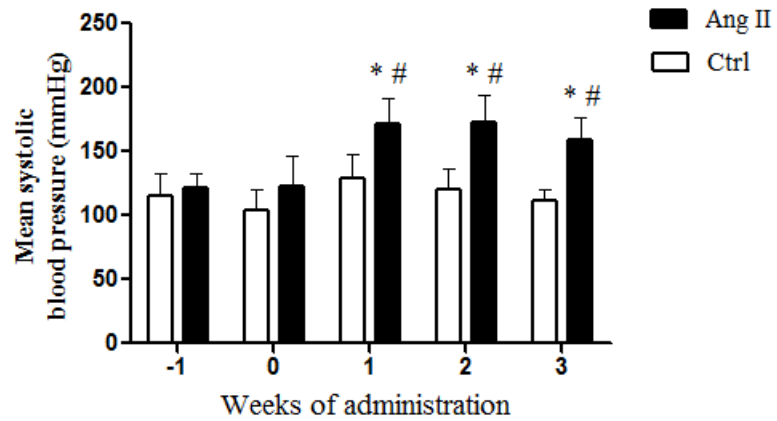
**Fig. 3.** Recall phase in the MWM (bars shows mean  $\pm$ SD), n = 6-10. Percentage of time spent in the target quadrant upon platform removal after 21 and 14 days of chronic angiotensin II administration compared to their controls (Unpaired student's t-test; \*p<0.05).

**Fig. 4.** Anxiety measurement after 21 days of angiotensin II administration (bars show mean  $\pm$ SD), n = 6-10. Open field: c) Percentage of time spent in the center square of the open field and d) distance moved during the test. Elevated plus maze: a) time spent in open arms and b) total entries in open and closed arms. (Unpaired student's t-test; \*p<0.05).

**Fig. 5.** Cue phase in the MWM (SD): mean speed and latency during the cue phase when the platform is visible by the mouse after a) b) 14 days and c) d) 21 days.

# Figures

## Figure 1



## Figure 2

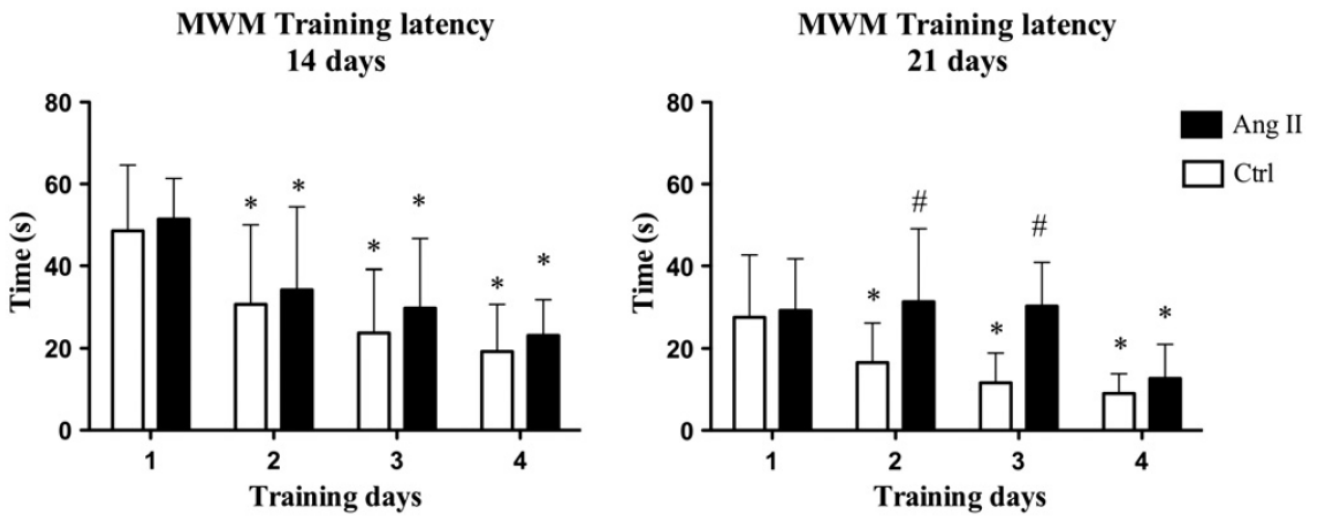


Figure 3

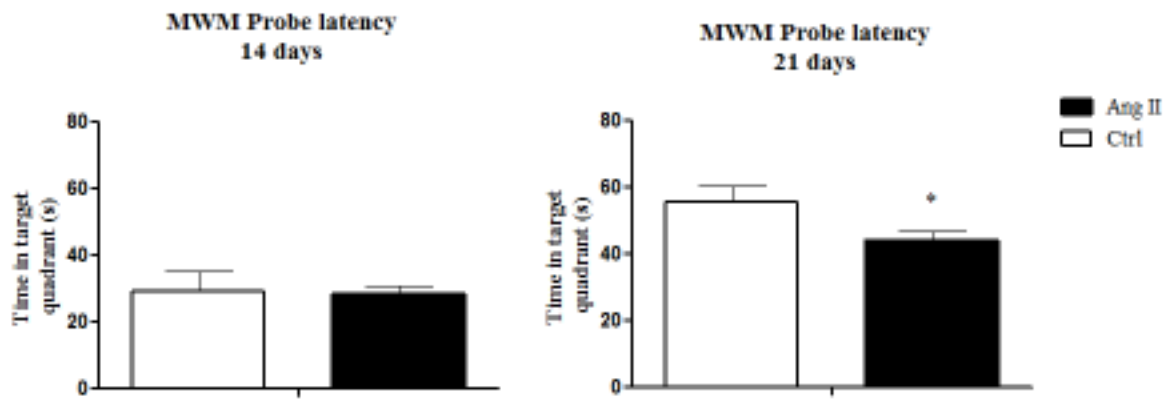
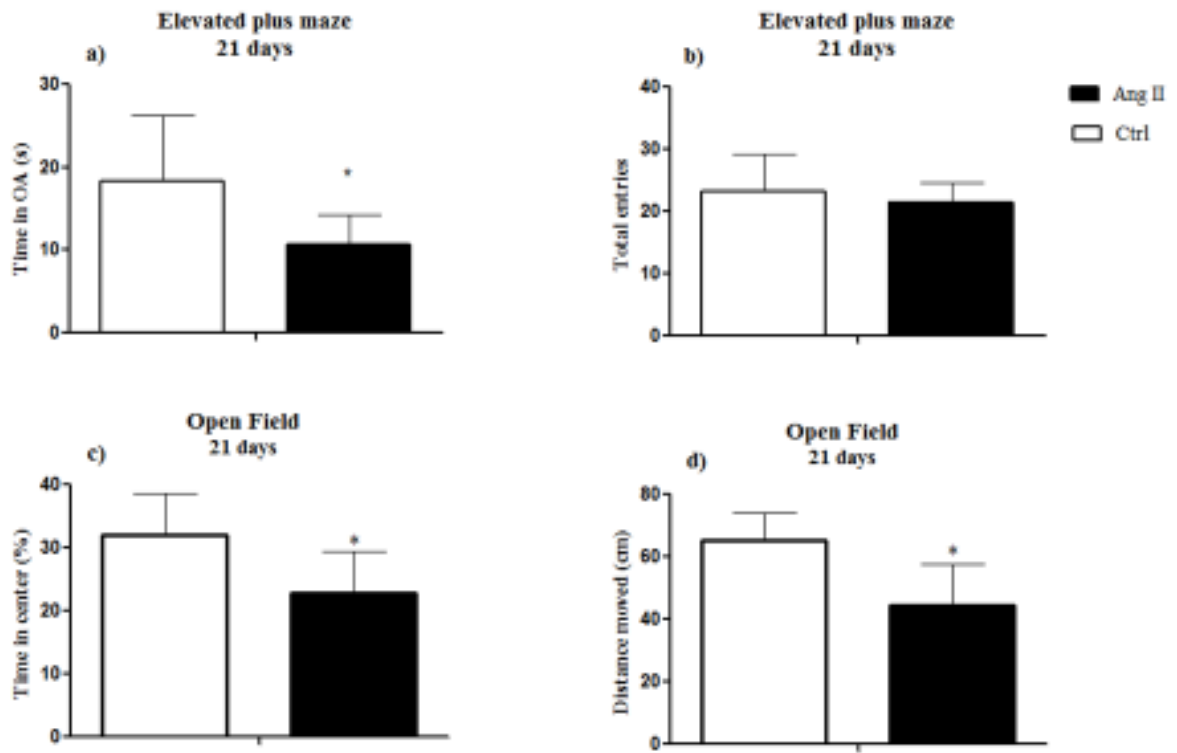
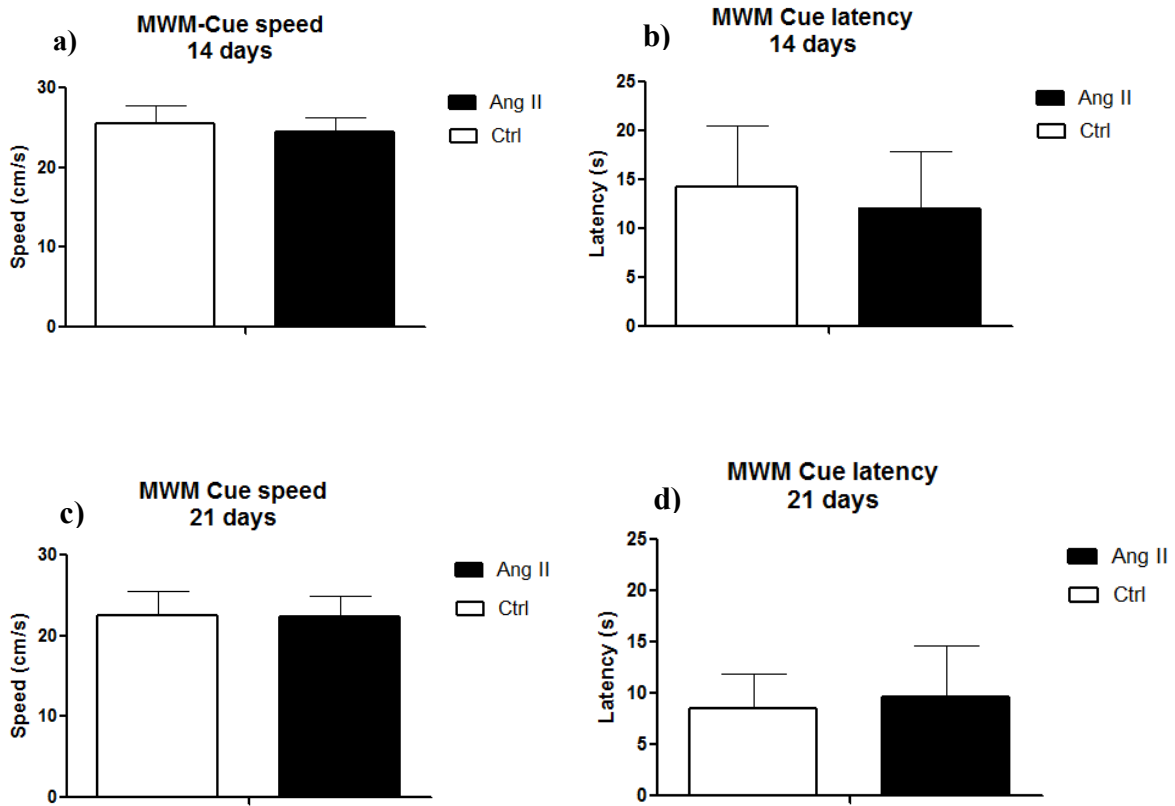


Figure 4





**Figure 5**



## **Résumé de l'étude 2 (Non-publiée)**

**Une perfusion chronique d'angiotensine II diminue la synaptophysine et augmente le taux de bêta-amyloïdes libre.**

**Par**

Sonia Duchemin, Diane Vallerand et Hélène Girouard

L'hypertension artérielle est un facteur de risque majeur dans le développement des déficits cognitifs et des démences d'origine vasculaire dont la maladie d'Alzheimer, une condition qui touche des millions de personnes à travers le monde. La pression artérielle est contrôlée par le système rénine-angiotensine, dont l'angiotensine II est le principal effecteur et responsable d'initier et de maintenir l'hypertension artérielle. C'est pourquoi, dans cette étude nous avons cherché à différencier le rôle de l'hypertension artérielle et de l'Ang II sur la cognition, mais aussi sur l'augmentation du taux de bêta-amyloïdes, un marqueur de la MA.

Dans ce but, nous avons travaillé avec un modèle de souris C57BL6 perfusé chroniquement avec soit une concentration pressive (1000 ng/kg/min), soit une concentration subpressive d'ang II (200 ng/kg/min). La mémoire a été mesurée à l'aide de la piscine de Morris après 14 et 21 jours de perfusion d'ang II. Les régions du cerveau impliqués dans la mémoire ont, par la suite, été examinés pour quantifier la neurodégénérescence, la synaptophysine ainsi que le taux de bêta-amyloïdes.

Nos résultats montrent un déficit d'apprentissage après 21 jours de perfusion d'ang II. Aucun signe de mort neuronale ou de neurodégénérescence n'a été détecté, cependant, la synaptophysine était diminuée dans la voie perforante de l'hippocampe ainsi que dans le cortex. De plus, le taux de A $\beta$ <sub>40</sub> soluble était augmenté dans le cortex.

Cette étude montre, pour la première fois, qu'une perfusion chronique d'ang II diminue les fonctions cognitives et la synaptophysine tout en augmentant le taux de A $\beta$ , indépendamment de l'effet sur la pression artérielle. Ces résultats suggèrent que l'augmentation d'ang II contribue

au développement des déficits cognitifs et de la MA, et que le SRA serait une cible pharmacologique d'intérêt pour prévenir les démences.

### **Contributions**

L'implantation des pompes a été effectuée par Sonia Duchemin. Les pressions ont été prise par Melissa Beauvillier. Les colorations de Congo red ont été faites par l'IRIC. Le protocole de Synaptophysine vient du laboratoire du Dr Da Silva. Le protocole de Fluoro-Jade B a été mis au point par Diane Vallerand. Les protocoles originaux de thioflavine-s et d'ELISA pour les  $\beta$ - amyloïdes sont du laboratoire de Dre Edith Hamel. Le protocole d'ELISA pour les  $\beta$ - amyloïdes a été adapté par Sonia Duchemin. Les colorations de synaptophysine, de FluroJade-B, de thioflavine-s, les ELISA de  $\beta$ -amyloïdes, les photos, analyses, statistiques, graphiques et rédaction de l'article ont été faite par Sonia Duchemin. La correction de l'article a été faite par Dre Girouard.

## Étude 2

### **Chronic subpressive angiotensin II decrease synaptophysin and increase the soluble form of amyloid $\beta$**

S. Duchemin <sup>a</sup>, D. Vallerand and H. Girouard <sup>a</sup>

Duchemin *et al* : Angiotensin II, cognitive dysfunction

<sup>a</sup>Department of Pharmacology, Université de Montréal, Montréal, Canada

**Keywords:** hypertension, angiotensin II, A $\beta$

#### **Abstract**

Arterial hypertension (AH) is a major risk factor in the onset of cognitive deficits and vascular dementia as well as in Alzheimer's disease (AD), a condition which affects millions of people worldwide. Blood pressure is regulated by the renin-angiotensin system producing angiotensin II (Ang II), a protein involved in the onset and maintenance of AH. For this reason, the aim of this study is to differentiate the role of ang II from AH on cognition as well as on the increase in beta-amyloid load, a hallmark of AD.

To this end we used C57BL6 mice chronically perfused with pressive (1000 ng/kg/min) or subpressive (200 ng/kg/min) ang II doses. Mice were then subjected to the Morris water maze 14 and 21 days following the beginning of ang II perfusion, to assess spatial memory. Brain regions implicated in memory were examined for neurodegeneration and synaptophysin as well as for the presence of A $\beta$  peptides and plaques.

Our results showed a learning deficit after three weeks of Ang II perfusion with both concentrations. No sign of neuronal loss or neurodegeneration was observed in Ang II-perfused

mice. However, synaptophysin was decreased in the perforant pathway of the hippocampus and in the cortex. Furthermore, the number soluble A $\beta$ <sub>40</sub> were higher in the cortex of Ang II mice. These findings show for the first time that chronic perfusion of Ang II alters cognitive function and synaptophysin while increasing the cerebral A $\beta$  content independently of its effect on blood pressure. These results suggest that an increase in Ang II may contribute to the pathogenesis of AD and that the renin-angiotensin system may constitute an important pharmacological target to prevent this dementia.

## **Introduction**

Hypertension is one of the most prevalent diseases of aging and the number one risk factor for ischemic and haemorrhagic stroke (Sacco et al., 1997). Epidemiological studies further implicate high blood pressure, particularly during midlife, as a strong risk factor for vascular dementia and Alzheimer's disease (Eftekhari *et al*, 2007). Although traditionally viewed as distinct pathogenic entities, there is a growing recognition that mixed dementias are common (Zekry et al., 2002), and that the clinical expression of Alzheimer's disease is part of a pathological continuum where cerebrovascular lesions (stroke, microinfarcts and atherosclerosis) converge with Alzheimer's pathological hallmarks (amyloid- $\beta$  and tau), to affect cerebral blood flow and hence, neuronal function (Esiri, 2000; Schneider, 2016).

Despite the vast epidemiological data, the mechanistic link between hypertension and Alzheimer's disease remains far from well understood. A distinct characteristic of AD is the increased amyloid- $\beta$  (A $\beta$ ) accumulation in the brain, which is often linked to the cognitive dysfunctions associated with this condition. The main form of A $\beta$  involved in AD are A $\beta$ -40 and A $\beta$ -42. A $\beta$ -40 is the most abundant form in the cerebral cortex of AD patients and was linked to a decrease in synaptophysin activity (Mori et al., 1992). While the A $\beta$ -42 subtype is highly involved in the formation of senile plaques found in the cortex and the hippocampus of AD patient.

In experimental models of hypertension, where high blood pressure is induced by transverse aortic coarctation, Gentile and colleagues reported evidence of amyloid- $\beta$  immunopositivity in cortical cerebral vessels together with an increased expression of A $\beta$  oligomers in the hippocampus (Gentile et al., 2009). The hypertensive challenge also led to cognitive

impairments (Carnevale et al., 2012a).

Pharmacological studies implicated the activation of the receptor for advanced glycation end products (RAGE), which transports A $\beta$  into the brain, as a major contributor to the development of cerebral amyloid pathology in hypertension (Carnevale et al., 2012a). In line with these findings, a human study revealed that a reduction in plasma A $\beta$  were strongly associated with an increased likelihood of cerebral amyloid angiopathy (CAA), an interaction which was enhanced by midlife high blood pressure. Ab interferes with synaptic functions.

AD could also be the result of synaptic failure. Whether hypertension is involved in the synaptic alteration seen in AD is to be determined. However, synaptic defects measured using synaptophysin, a presynaptic vesicle protein, in the hippocampus of individuals suffering from Alzheimer's disease, is correlated with the severity of the pathology and memory dysfunctions (Sze et al., 1997); (Tampellini et al., 2010); (Shah *et al.*, 2012).

The connection between high blood pressure, cognitive impairment and amyloid pathology is also supported by other experimental models of hypertension, where high blood pressure is induced by the administration of angiotensin II (Ang II) in the systemic circulation (Cifuentes et al., 2015a). Ang II is the main product of the rennin-angiotensin system controlling arterial pressure; hence its predominant role in hypertension. Ang II is a potent vasoconstrictor and a major candidate by which hypertension exerts its deleterious effects on the cerebral circulation (Faraco & Iadecola, 2013). Increased blood pressure following chronic Ang II infusion alters cognitive functions and increases anxiety in naïve mice (Duchemin et al., 2013). In transgenic models of the amyloid pathology, Ang II accelerates the development of cognitive deficits and increases the number of cortical amyloid plaques, as well as soluble amyloid levels, both in brain and plasma (Cifuentes et al., 2015a). Using a combination of *in vitro* and *in vivo* studies, Faraco and colleagues further showed that Ang II favours the amyloidogenic cleavage of APP, leading to increased A $\beta$  production and microvascular amyloid deposition (Faraco et al., 2016).

With the vast pathogenic evidence linking hypertension, Alzheimer's disease (Obisesan, 2009), and the positive effects of blood pressure control on stroke prevention (Ravenni et al., 2011), uncertainty still remains about the benefit of lowering blood pressure to prevent or delay non-stroke dementias. This suggests that other factors associated to hypertension, besides high blood

pressure, should play a role in affecting neurons and amyloid clearance. Could Ang II be that link?

This study was thus conceived to explore whether: 1) Ang II administration alters synaptophysin content and induce neurodegeneration independently of its effect on blood pressure and 2) whether subpressive doses of Ang II can trigger the appearance of amyloid-like pathology in the hippocampus and in the cortex, both regions being implicated in the memory process and affected in Alzheimer's disease.

## **Methods**

### ***Animals***

All procedures were approved by the committee on the Ethics of Animal Experiments of the Université de Montreal and were performed in accordance with the principles outlined by the Canadian Council on Animal Care. Eight to ten weeks-old C57BL/6 (Charles River Canada) male mice were housed individually in a 12:12 light dark cycle and had access to food and water *ad libitum*. Mice were divided into three groups (n=10): 1) Vehicle (0.9% saline); 2) 21 days; 21 days of Ang II perfusion at 1000 ng/kg/min or 3) 200 ng/kg/min (Ang II acetate; Sigma). The subpressive dose of 200 ng/kg/min was chosen because it is the lowest one known to induce cerebrovascular dysfunction and oxidative stress (Capone et al., 2011). The dose of 1000 ng/kg/min was chosen because it is the lowest one that consistently elevates systolic blood pressure over two weeks to 50 mmHg above basal level (De Ciuceis et al., 2005).

### ***2.2. Osmotic pumps implantation***

Osmotic pumps containing the vehicle or Ang II were implanted subcutaneously under isoflurane anesthesia as previously described (Duchemin et al., 2013). Each osmotic pump (Alzet model 1004) delivered 0.11 µl/hour for 28 days. Systolic blood pressure was monitored weekly by non-invasive tail-cuff plethysmography (Kent scientific Co.). All measurements were taken between 8AM and noon.

### ***Fluoro-Jade B***

Fluoro-Jade B was used to measure neurodegeneration in the cortex and the hippocampus. The method was adapted from Schmued and Hopkins (Schmued and Hopkins, 2000), as previously described (Sadekova et al., 2013). Briefly, mice were anesthetized with pentobarbital and

underwent trans-cardiac perfusion with phosphate-buffered saline (PBS) containing 5 units/mL heparin. The brain was quickly removed and frozen on dry ice. Coronal 20µm brain sections were cut with a cryostat (Leica), mounted on a glass slide, post-fixed with 4% paraformaldehyde (PFA) and washed in 1% NaOH-80% ethanol. Then slides were transferred 15 minutes in 0.06% KMnO<sub>4</sub>, stained 20 min with 0.0008% Floro-Jade B in 0.1% acetic acid and dipped in xylene before being mounted with the synthetic resin, DPX.

### ***Immunohistochemistry***

All sections were treated at the same time for each immunoreagent. For synaptophysin-2 staining, mice were anesthetized with isoflurane 5% and sacrificed by decapitation. The brain was carefully removed, frozen on dry ice and kept at -80°C for immunostaining. Cryostats (Leica) coronal sections of 20 µm thick were fixed with ethanol 95% and left to dry at room temperature for 60 minutes. Sections were then immersed for 1 hour in 3% hydrogen peroxide in methanol to block endogenous peroxidase activity, rinsed with a solution of PBS and normal goat serum for a period of 30 minutes to block unspecific activity. Sections were then incubated at RT for 6 hours with a polyclonal rabbit anti-synaptophysin-2 primary antibody (1:2000; ab68851, Abcam) solution containing 1% normal goat serum. After washing with PBS, sections were transferred to a VECTASTAIN Elite ABC reagent (VECTASTAIN Elite ABC Kit Rabbit IgG; Vector laboratory) for 30 minutes. Immunoreactivity was revealed using 0.05% 3,3 diaminobenzidine (DAB; Sigma-Aldrich) for 4 minutes 30 seconds. Finally, sections were mounted onto glass slides, progressed through a graded series of alcohols, cleared in xylene and cover slipped with DPX mounting medium.

Amyloid plaques were quantified by thioflavine-S. Thioflavine-S stains Thio-S amyloid deposits and is thus used to stain mature, dense core amyloid plaques. Briefly, pentobarbital anesthetized mice underwent transcardiac perfusion with PBS followed by PFA 4% in 0,1 M PBS. Brains were removed and fixed by overnight immersion in the PFA 4% solution, cryoprotected 48h (30% sucrose), frozen on dry ice and stored (-80°C) until cutting into 25 µm-thick coronal sections using a freezing microtome. Sections were first immersed 25 min in 70% formic acid incubated 5 min in thioflavine-S 1%, then dehydrated through an ascending series of ethanol, rinsed in water and cover slipped with mounting medium.



### ***ELISA***

The brain was dissected in ice cold PBS to separate the cortex from the hippocampus. Tissues were homogenized in 10 volumes of the homogenization buffer (250mM sucrose, 1mM EDTA, 1mM, EGTA, 20mM TrisHCl, protease inhibitors), sonicated, diluted in 4% diethylamine (DEA) and centrifuged (100,000g) 1 hour at 4°C for soluble amyloid extraction. The remaining pellet was dissolved in 70% formic acid and centrifuged (100,000g) for 1 hour at 4°C for insoluble amyloid species extraction. Formic acid extracted proteins were evaporated in a vacuum centrifuge for 5 hours to reduce the volume of formic acid to 20%, then neutralized to a pH of 7.0 with neutralization buffer (5M NaOH in 1M Tris). Protein quantification was performed using the Bradford method. Soluble and insoluble A $\beta$ <sub>40</sub> and A $\beta$ <sub>42</sub> levels were measured using ELISA kit (WAKO; #294-62501 and #292-64501) according to the manufacturer's instructions. The ELISA kit detects the C-terminal portion and therefore does not discriminate full length  $\beta$ -40 or  $\beta$ -42 from fragments. Data were collected as optical density values.

### ***Image analysis***

Staining was digitalized using an epifluorescence microscope (Leica DM 2000). Images were analyzed with ImageJ software (NIH). For Fluoro-jade B, the ratio of mean fluorescence value of the region of interest over the background was determined. As for the 6E10 immunostaining, the number of plaques in each region was counted and expressed as a percentage of controls. Every layer of the frontal associative cortex (FrA), the somatosensory cortex (CSS) and the dorsal hippocampus *cornu ammon 1* (CA1) and 3 (CA3) and the dentate gyrus (DG) were analyzed.

### ***Statistics***

Data are expressed as mean  $\pm$  SD and were analyzed with GraphPad Prism 5 software. Two-way ANOVA was used for paired data with Bonferroni analysis for multiple comparisons. One-way ANOVA with Dunnet's post-test was used for unpaired data. Kruskal-Wallis post-test was used for the 6E10 staining due to high variability of plaque number between individuals. A *p*-value of < 0.05 was considered statistically significant. We excluded values three times higher or lower than the median average deviation.

## Results

### *Systolic blood pressure*

The systolic blood pressure (SBP) in ang II-perfused mice rapidly rose in the group using 1000 ng/kg/min and stayed elevated through the experiment, while SBP in both saline and 200 ng/kg/min ang II-perfused mice remained unchanged (Fig. 1).

### *Angiotensin II increases A $\beta$ accumulation in the cortex*

Hypertension is associated with amyloid deposits in the neurovascular bed. We determined whether Ang II could be responsible for the deposition of amyloid plaques induced by high blood pressure. Amyloid plaques were quantified by Thioflavine-S immunostaining. Thioflavine-S stains A $\beta$  aggregates. No evidence of co-staining with thioflavine-S or congo red (data not shown) was found in either group.

We completed these results using ELISA to quantify soluble and insoluble monomeric A $\beta_{40}$  and A $\beta_{42}$  in the hippocampus and cortex. Independently of blood pressure change, Ang II raised the level of soluble A $\beta_{40}$  species in the cortex, but not in the hippocampus (Fig. 3). However, the level of A $\beta_{42}$  is only significantly different from control in the cortex of the hypertensive group. Ang II did not change the levels of insoluble A $\beta_{40}$  or A $\beta_{42}$  in either region of the brain. The ratio of A $\beta_{40}$ /A $\beta_{42}$ , often used to predict AD (Näslund et al., 1994) (Wiltfang et al., 2007), was not different in the Ang II and control groups (data not shown).

### *3.3 Angiotensin II decreases synaptophysin immunoreactivity but does not affect neuronal survival*

We investigated whether the presence of amyloid was associated with neuronal loss, neurodegeneration or lower synaptophysin immunoreactivity in the brain regions related to memory. We chose to study the hippocampus and the somatosensory cortex due to their significant contribution in the memory process. Additionally, we decided to investigate the different layers in each region of the hippocampus to segregate the neuronal pathway involved. In Fig. 2b, mice subjected to Ang II perfusion at either dose revealed lower synaptophysin-2 immunoreactivity in the stratum radiatum layer of the CA3 (CA3-rad) and in the polymorph layer of the dentate gyrus (DG-po) of the hippocampus as well as in the somatosensory cortex.

All hippocampal regions forming the perforant pathway, primarily implicated in spatial memory. The stratum lacunosum molecular layer of CA1 (CA1-slm), mainly involved in object recognition, presented lower synaptophysin-2 only at the hypertensive (A1000) dose, while there was no change in the frontal cortex in either Ang II groups. The synaptophysin-2 immunoreactivity in all other sub-regions of the hippocampus of the Ang II group were comparable to the control group. These changes were not associated with neuronal loss or neurodegeneration in both Ang II-perfused groups since no significant differences in neuronal count with NeuN (data not shown) or in Fluoro-Jade B staining were found in the Ang II groups compared to controls (Fig. 2a).

## Discussion

This study demonstrated that, independently of blood pressure, an increase of ang II lowers synaptophysin density and increases soluble A $\beta$ , two hallmarks of AD. These novel observations suggest, for the first time, that a suppressive levels of circulating ang II may induce or foster the development of AD.

Two main isoforms of A $\beta$  were found to accumulate in AD: A $\beta$ -42 and A $\beta$ -40. A $\beta$ -42 is a longer protein and aggregate more easily to form plaques; it tends to increase in both aging and in AD brain independently of plaque accumulation (Funato et al., 1998). A $\beta$ -42 is physiologically active and have a protective role in neuronal function, in this condition, a pathological aggregation may cause neurodegeneration by depriving neurons of the protective effect of A $\beta$ -42 monomers (Giuffrida et al., 2009). In this study, soluble A $\beta$ -40 increased in the cortex while only the highest concentration of ang II raised the A $\beta$ -42 level. This suggests that soluble A $\beta$ -42 may be secondary to the increase in blood pressure.

The fact that higher concentration of A $\beta$ -40 were found particularly in the cortex of ang II mice is of special interest because it demonstrates the similarity between our model and AD brain as A $\beta$ -40 is the most abundant form in the cerebral cortex of AD patients (Mori et al., 1992) (Funato et al., 1998). Equally similar to our study, an inverse correlation between soluble A $\beta$ -40 and cortical synaptophysin can be observed in AD patients (Lue et al., 1999). It was also demonstrated that soluble A $\beta$ -40 species impair neurovascular coupling (Niwa et al., 2000) and is associated to a lower synaptic activity (Walsh et al., 2002), two essential functions in the

memory process. Therefore, in addition to our data, these studies suggest that soluble A $\beta$ -40 increase may be a cause of memory and synaptic plasticity impairment shown in our model.

Our results showed that ang II lowered the synaptophysin level especially in the CA3-rad and DG-po of the hippocampus as well as somatosensory cortex. These regions are strongly correlated to encoding and retrieval of spatial memory (Kesner, 2007); (Kesner et al., 2004). The medial entorhinal (MEC) cortex processes information from the somatosensory cortex to the dorsal hippocampus via the medial perforant pathway. The MEC is the first site to show plaque accumulation in AD (Braak and Braak, 1991). A lesion in the entorhinal cortex reduce synaptic activity in the perforant pathway (Miwa et al., 2001), decreasing synaptic activity in the stratum CA3-rad as well. Similarly, to our results, the synaptic activity decrease in these regions was not accompanied by neurodegeneration or neuronal loss.

In a previous study (Duchemin et al., 2013), we demonstrated that a chronic perfusion of Ang II increase anxiety. However, in this paper, we wanted to focus our attention on the effect of Ang II on memory and particularly on the hippocampus. To this end, we worked on the dorsal part of the hippocampus, as studies demonstrated that this part is related to learning and spatial memory and the ventral hippocampus regulates emotions (Kheirbek and Hen, 2011).

Our model is particularly interesting in the objective of studying AD since , unlike the APP mouse model, our results show that the A $\beta$  accumulation begins in the cortex and later spreads in the hippocampus similar to what is seen in AD patients (Funato et al., 1998) (Mucke et al., 2000). Also, ang II did not induce the formation of dense core of A $\beta$  deposits seen in APP mice but increased soluble beta-amyloid in the cortex, which are more predictive of AD (Lue et al., 1999).

The mechanisms underlying the induction of AD though hypertension need further investigation. Altogether, these results indicate that the RAS is a promising pathway to develop new therapies for AD treatment.

### **Acknowledgments**

We want to thank Dr. Hamel's laboratory for sharing their A $\beta$  immunostaining and Elisa experimental protocols.

## Funding

This study was supported by funds from the Canadian Institutes in Health Research (CIHR), the 'Fonds de Recherche en Santé du Québec' (FRSQ) and the Canada Foundation for Innovation (CFI), awarded to H el ene Girouard. H el ene Girouard is the holder of an operating grant and a new investigator award from the FRSQ and the Heart and Stroke Foundation of Canada (HSFC). Guylaine Ferland receives funding from the Canadian Institutes of Health Research (CIHR). Hudson Buck has funds from the 'Fundo de Amparo a Pesquisa na Santa Casa' (FAP-Santa Casa 2012/2013) and the 2013/13656-1 grant from the Sao Paulo Research Foundation (FAPESP).

**Conflicts of Interest / Disclosures:** None

## References

- Abramov, E., Dolev, I., Fogel, H., Ciccotosto, G.D., Ruff, E., Slutsky, I., 2009. Amyloid-beta as a positive endogenous regulator of release probability at hippocampal synapses. *Nat. Neurosci.* 12, 1567–1576. doi:10.1038/nn.2433
- Akdis, C.A., 2009. T cells in health and disease. *J. Allergy Clin. Immunol.* 123, 1022–1023. doi:10.1016/j.jaci.2009.03.034
- Albert, M.S., DeKosky, S.T., Dickson, D., Dubois, B., Feldman, H.H., Fox, N.C., Gamst, A., Holtzman, D.M., Jagust, W.J., Petersen, R.C., Snyder, P.J., Carrillo, M.C., Thies, B., Phelps, C.H., 2011. The diagnosis of mild cognitive impairment due to Alzheimer's disease: Recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement. J. Alzheimers Assoc.* 7, 270–279. doi:10.1016/j.jalz.2011.03.008
- Allen, A.M., Zhuo, J., Mendelsohn, F.A.O., 2000. Localization and function of angiotensin AT1 receptors. *Am. J. Hypertens.* 13, S31–S38. doi:10.1016/S0895-7061(99)00249-6
- Andresen, J., Shafi, N.I., Bryan, R.M., 2006. Endothelial influences on cerebrovascular tone. *J. Appl. Physiol.* 100, 318–327. doi:10.1152/jappphysiol.00937.2005
- Atkinson, R.C., Shiffrin, R.M., 1971. The control of short-term memory. *Sci. Am.* 225, 82–90.
- Baecher-Allan, C., Viglietta, V., Hafler, D.A., 2002. Inhibition of human CD4(+)CD25(+high) regulatory T cell function. *J. Immunol. Baltim. Md 1950* 169, 6210–6217.
- Barhoumi, T., Kasal, D.A., Li, M.W., Shbat, L., Laurant, P., Neves, M.F., Paradis, P., Schiffrin, E.L., 2011. T regulatory lymphocytes prevent angiotensin II-induced hypertension and vascular injury. *Hypertension* 57, 469–476. doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.110.162941
- Bateman, R.J., Munsell, L.Y., Morris, J.C., Swarm, R., Yarasheski, K.E., Holtzman, D.M., 2006. Human amyloid-beta synthesis and clearance rates as measured in cerebrospinal fluid in vivo. *Nat. Med.* 12, 856–861. doi:10.1038/nm1438
- Baumbach, G.L., Heistad, D.D., 1989. Remodeling of cerebral arterioles in chronic hypertension. *Hypertension* 13, 968–972.

- Ben-Ari, E.T., Garrison, J.C., 1988. Regulation of angiotensinogen mRNA accumulation in rat hepatocytes. *Am. J. Physiol.* 255, E70-79.
- Bild, W., Hritcu, L., Stefanescu, C., Ciobica, A., 2013. Inhibition of central angiotensin II enhances memory function and reduces oxidative stress status in rat hippocampus. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 43, 79–88. doi:10.1016/j.pnpbp.2012.12.009
- Bitan, G., Kirkitadze, M.D., Lomakin, A., Vollers, S.S., Benedek, G.B., Teplow, D.B., 2003. Amyloid beta-protein (A $\beta$ ) assembly: A $\beta$  40 and A $\beta$  42 oligomerize through distinct pathways. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 100, 330–335. doi:10.1073/pnas.222681699
- Bloch, S., Obari, D., Girouard, H., 2015. Angiotensin and neurovascular coupling: beyond hypertension. *Microcirculation n/a-n/a*. doi:10.1111/micc.12193
- Bodiga, V.L., Bodiga, S., 2013. Renin Angiotensin System in Cognitive Function and Dementia. *Asian J. Neurosci.* 2013. doi:10.1155/2013/102602
- Bohlen, H.G., 1989. The microcirculation in hypertension. *J. Hypertens. Suppl. Off. J. Int. Soc. Hypertens.* 7, S117-124.
- Bonder, D.E., McCarthy, K.D., 2014. Astrocytic Gq-GPCR-Linked IP3R-Dependent Ca<sup>2+</sup> Signaling Does Not Mediate Neurovascular Coupling in Mouse Visual Cortex In Vivo. *J. Neurosci.* 34, 13139–13150. doi:10.1523/JNEUROSCI.2591-14.2014
- Booth, J., 1977. A short history of blood pressure measurement. *Proc. R. Soc. Med.* 70, 793–799.
- Braak, H., Braak, E., 1991. Neuropathological staging of Alzheimer-related changes. *Acta Neuropathol. (Berl.)* 82, 239–259.
- Breitve, M.H., Hynninen, M.J., Brønnick, K., Chwiszczuk, L.J., Auestad, B.H., Aarsland, D., Rongve, A., 2016. A longitudinal study of anxiety and cognitive decline in dementia with Lewy bodies and Alzheimer's disease. *Alzheimers Res. Ther.* 8, 3. doi:10.1186/s13195-016-0171-4
- Brouillette, J., 2014. The effects of soluble A $\beta$  oligomers on neurodegeneration in Alzheimer's disease. *Curr. Pharm. Des.* 20, 2506–2519.
- Brown, A.M., Ransom, B.R., 2007. Astrocyte glycogen and brain energy metabolism. *Glia* 55, 1263–1271. doi:10.1002/glia.20557
- Buskila, Y., Abu-Ghanem, Y., Levi, Y., Moran, A., Grauer, E., Amitai, Y., 2007. Enhanced Astrocytic Nitric Oxide Production and Neuronal Modifications in the Neocortex of a NOS2 Mutant Mouse. *PLOS ONE* 2, e843. doi:10.1371/journal.pone.0000843
- Cai, H., Harrison, D.G., 2000. Endothelial dysfunction in cardiovascular diseases: the role of oxidant stress. *Circ. Res.* 87, 840–844.
- Caillon, A., Schiffrin, E.L., 2016. Role of Inflammation and Immunity in Hypertension: Recent Epidemiological, Laboratory, and Clinical Evidence. *Curr. Hypertens. Rep.* 18, 21. doi:10.1007/s11906-016-0628-7
- Capone, C., Faraco, G., Park, L., Cao, X., Davison, R.L., Iadecola, C., 2011. The cerebrovascular dysfunction induced by slow pressor doses of angiotensin II precedes the development of hypertension. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 300, H397-407. doi:10.1152/ajpheart.00679.2010
- Carnevale, D., Mascio, G., D'Andrea, I., Fardella, V., Bell, R.D., Branchi, I., Pallante, F., Zlokovic, B., Yan, S.S., Lembo, G., 2012a. 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, 188–197. doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.112.195511
- Carnevale, D., Mascio, G., D'Andrea, I., Fardella, V., Bell, R.D., Branchi, I., Pallante, F., Zlokovic, B., Yan, S.S., Lembo, G., 2012b. HYPERTENSION INDUCES BRAIN  $\beta$ -AMYLOID ACCUMULATION, COGNITIVE IMPAIRMENT AND MEMORY DETERIORATION THROUGH ACTIVATION OF RAGE IN

BRAIN VASCULATURE. Hypertension 60, 188–197.

doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.112.195511

- Castrop, H., 2015. A role for AT1 receptor-associated proteins in blood pressure regulation. *Curr. Opin. Pharmacol.* 21, 43–47. doi:10.1016/j.coph.2014.12.009
- Chai, S.Y., Fernando, R., Peck, G., Ye, S.-Y., Mendelsohn, F. a. O., Jenkins, T.A., Albiston, A.L., 2004. The angiotensin IV/AT4 receptor. *Cell. Mol. Life Sci. CMLS* 61, 2728–2737. doi:10.1007/s00018-004-4246-1
- Chaudhry, A., Samstein, R.M., Treuting, P., Liang, Y., Pils, M.C., Heinrich, J.-M., Jack, R.S., Wunderlich, F.T., Brüning, J.C., Müller, W., Rudensky, A.Y., 2011. Interleukin-10 signaling in regulatory T cells is required for suppression of Th17 cell-mediated inflammation. *Immunity* 34, 566–578. doi:10.1016/j.immuni.2011.03.018
- Chen, B.R., Kozberg, M.G., Bouchard, M.B., Shaik, M.A., Hillman, E.M.C., 2014. A Critical Role for the Vascular Endothelium in Functional Neurovascular Coupling in the Brain. *J. Am. Heart Assoc. Cardiovasc. Cerebrovasc. Dis.* 3. doi:10.1161/JAHA.114.000787
- Chen, K.H.M., Henderson, V.W., Stolwyk, R.J., Dennerstein, L., Szoeki, C., 2015. Prehypertension in midlife is associated with worse cognition a decade later in middle-aged and older women. *Age Ageing.* doi:10.1093/ageing/afv026
- Chiang, C.-Y., Wang, J., Xie, Y.-F., Zhang, S., Hu, J.W., Dostrovsky, J.O., Sessle, B.J., 2007. Astroglial Glutamate–Glutamine Shuttle Is Involved in Central Sensitization of Nociceptive Neurons in Rat Medullary Dorsal Horn. *J. Neurosci.* 27, 9068–9076. doi:10.1523/JNEUROSCI.2260-07.2007
- Cifuentes, D., Poittevin, M., Dere, E., Broquères-You, D., Bonnin, P., Benessiano, J., Pocard, M., Mariani, J., Kubis, N., Merkulova-Rainon, T., Lévy, B.I., 2015a. Hypertension accelerates the progression of Alzheimer-like pathology in a mouse model of the disease. *Hypertension* 65, 218–224. doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.114.04139
- Cifuentes, D., Poittevin, M., Dere, E., Broquères-You, D., Bonnin, P., Benessiano, J., Pocard, M., Mariani, J., Kubis, N., Merkulova-Rainon, T., Lévy, B.I., 2015b. Hypertension accelerates the progression of Alzheimer-like pathology in a mouse model of the disease. *Hypertens. Dallas Tex* 1979 65, 218–224. doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.114.04139
- Cipolla, M.J., 2009. Regulation of Cerebrovascular Tone. Morgan & Claypool Life Sciences.
- Cohen, S.L., Moore, A.M., Ward, W.E., 2004. Interleukin-10 knockout mouse: a model for studying bone metabolism during intestinal inflammation. *Inflamm. Bowel Dis.* 10, 557–563.
- Crowley, S.D., Song, Y.-S., Lin, E.E., Griffiths, R., Kim, H.-S., Ruiz, P., 2010. Lymphocyte responses exacerbate angiotensin II-dependent hypertension. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 298, R1089-1097. doi:10.1152/ajpregu.00373.2009
- De Ciuceis, C., Amiri, F., Brassard, P., Endemann, D.H., Touyz, R.M., Schiffrin, E.L., 2005. Reduced vascular remodeling, endothelial dysfunction, and oxidative stress in resistance arteries of angiotensin II-infused macrophage colony-stimulating factor-deficient mice: evidence for a role in inflammation in angiotensin-induced vascular injury. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 25, 2106–2113. doi:10.1161/01.ATV.0000181743.28028.57
- Del Prete, G., De Carli, M., Almerigogna, F., Giudizi, M.G., Biagiotti, R., Romagnani, S., 1993. Human IL-10 is produced by both type 1 helper (Th1) and type 2 helper (Th2) T cell clones and inhibits their antigen-specific proliferation and cytokine production. *J. Immunol. Baltim. Md* 1950 150, 353–360.
- Deschepper, C.F., Bouhnik, J., Ganong, W.F., 1986. Colocalization of angiotensinogen and glial fibrillary acidic protein in astrocytes in rat brain. *Brain Res.* 374, 195–198.

- Deshpande, A., Mina, E., Glabe, C., Busciglio, J., 2006. Different Conformations of Amyloid  $\beta$  Induce Neurotoxicity by Distinct Mechanisms in Human Cortical Neurons. *J. Neurosci.* 26, 6011–6018. doi:10.1523/JNEUROSCI.1189-06.2006
- D’Hooge, R., De Deyn, P.P., 2001. Applications of the Morris water maze in the study of learning and memory. *Brain Res. Brain Res. Rev.* 36, 60–90.
- Di Bari, M., Pahor, M., Franse, L.V., Shorr, R.I., Wan, J.Y., Ferrucci, L., Somes, G.W., Applegate, W.B., 2001. Dementia and disability outcomes in large hypertension trials: lessons learned from the systolic hypertension in the elderly program (SHEP) trial. *Am. J. Epidemiol.* 153, 72–78.
- Didion, S.P., Kinzenbaw, D.A., Schrader, L.I., Chu, Y., Faraci, F.M., 2009. Endogenous interleukin-10 inhibits angiotensin II-induced vascular dysfunction. *Hypertension* 54, 619–624. doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.109.137158
- Diz, D.I., 2006. Approaches to Establishing Angiotensin II as a Neurotransmitter Revisited. *Hypertension* 47, 334–336. doi:10.1161/01.HYP.0000203146.72879.c3
- Duchemin, S., Belanger, E., Wu, R., Ferland, G., Girouard, H., 2013. Chronic perfusion of angiotensin II causes cognitive dysfunctions and anxiety in mice. *Physiol. Behav.* 109, 63–68. doi:10.1016/j.physbeh.2012.10.005
- Duling, B.R., Berne, R.M., 1970. Propagated vasodilation in the microcirculation of the hamster cheek pouch. *Circ. Res.* 26, 163–170.
- Dzau, V.J., Ingelfinger, J., Pratt, R.E., Ellison, K.E., 1986. Identification of renin and angiotensinogen messenger RNA sequences in mouse and rat brains. *Hypertension* 8, 544–548. doi:10.1161/01.HYP.8.6.544
- Elias, M.F., Wolf, P.A., D’Agostino, R.B., Cobb, J., White, L.R., 1993. Untreated Blood Pressure Level Is Inversely Related to Cognitive Functioning: The Framingham Study. *Am. J. Epidemiol.* 138, 353–364.
- Erhardt, A., Lucae, S., Unschuld, P.G., Ising, M., Kern, N., Salyakina, D., Lieb, R., Uhr, M., Binder, E.B., Keck, M.E., Müller-Myhsok, B., Holsboer, F., 2007. Association of polymorphisms in P2RX7 and CaMKKb with anxiety disorders. *J. Affect. Disord.* 101, 159–168. doi:10.1016/j.jad.2006.11.016
- Erkinjuntti, T., Østbye, T., Steenhuis, R., Hachinski, V., 1997. The Effect of Different Diagnostic Criteria on the Prevalence of Dementia. *N. Engl. J. Med.* 337, 1667–1674. doi:10.1056/NEJM199712043372306
- Esiri, M.M., 2000. Which vascular lesions are of importance in vascular dementia? *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 903, 239–243.
- Fanselow, M.S., Dong, H.-W., 2010a. Are The Dorsal and Ventral Hippocampus functionally distinct structures? *Neuron* 65, 7. doi:10.1016/j.neuron.2009.11.031
- Fanselow, M.S., Dong, H.-W., 2010b. Are The Dorsal and Ventral Hippocampus functionally distinct structures? *Neuron* 65, 7. doi:10.1016/j.neuron.2009.11.031
- Faraci, F.M., 2011. Protecting against vascular disease in brain. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 300, H1566-1582. doi:10.1152/ajpheart.01310.2010
- Faraco, G., Sugiyama, Y., Lane, D., Garcia-Bonilla, L., Chang, H., Santisteban, M.M., Racchumi, G., Murphy, M., Van Rooijen, N., Anrather, J., Iadecola, C., 2016. Perivascular macrophages mediate the neurovascular and cognitive dysfunction associated with hypertension. *J. Clin. Invest.* doi:10.1172/JCI86950
- Farkas, E., De Jong, G.I., de Vos, R.A., Jansen Steur, E.N., Luiten, P.G., 2000. Pathological features of cerebral cortical capillaries are doubled in Alzheimer’s disease and Parkinson’s disease. *Acta Neuropathol. (Berl.)* 100, 395–402.



- Figuroa, X.F., Duling, B.R., 2009. Gap junctions in the control of vascular function. *Antioxid. Redox Signal.* 11, 251–266. doi:10.1089/ars.2008.2117
- Fogari, R., Mugellini, A., Zoppi, A., Lazzari, P., Destro, M., Rinaldi, A., Preti, P., 2006. Effect of telmisartan/hydrochlorothiazide vs lisinopril/hydrochlorothiazide combination on ambulatory blood pressure and cognitive function in elderly hypertensive patients. *J. Hum. Hypertens.* 20, 177–185. doi:10.1038/sj.jhh.1001964
- Fogari, R., Mugellini, A., Zoppi, A., Marasi, G., Pasotti, C., Poletti, L., Rinaldi, A., Preti, P., 2004. Effects of valsartan compared with enalapril on blood pressure and cognitive function in elderly patients with essential hypertension. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 59, 863–868. doi:10.1007/s00228-003-0717-9
- Fontenot, J.D., Gavin, M.A., Rudensky, A.Y., 2003. Foxp3 programs the development and function of CD4+CD25+ regulatory T cells. *Nat. Immunol.* 4, 330–336. doi:10.1038/ni904
- Fontenot, J.D., Rasmussen, J.P., Williams, L.M., Dooley, J.L., Farr, A.G., Rudensky, A.Y., 2005. Regulatory T cell lineage specification by the forkhead transcription factor foxp3. *Immunity* 22, 329–341. doi:10.1016/j.immuni.2005.01.016
- Forette, F., Seux, M.-L., Staessen, J.A., Thijs, L., Babarskiene, M.-R., Babeanu, S., Bossini, A., Fagard, R., Gil-Extremera, B., Laks, T., Kopalava, Z., Sarti, C., Tuomilehto, J., Vanhanen, H., Webster, J., Yodfat, Y., Birkenhäger, W.H., Systolic Hypertension in Europe Investigators, 2002. The prevention of dementia with antihypertensive treatment: new evidence from the Systolic Hypertension in Europe (Syst-Eur) study. *Arch. Intern. Med.* 162, 2046–2052.
- Forette, F., Seux, M.L., Staessen, J.A., Thijs, L., Birkenhäger, W.H., Babarskiene, M.R., Babeanu, S., Bossini, A., Gil-Extremera, B., Girerd, X., Laks, T., Lilov, E., Moissejev, V., Tuomilehto, J., Vanhanen, H., Webster, J., Yodfat, Y., Fagard, R., 1998. Prevention of dementia in randomised double-blind placebo-controlled Systolic Hypertension in Europe (Syst-Eur) trial. *Lancet Lond. Engl.* 352, 1347–1351.
- Franceschi, C., Valensin, S., Bonafè, M., Paolisso, G., Yashin, A.I., Monti, D., De Benedictis, G., 2000. The network and the remodeling theories of aging: historical background and new perspectives. *Exp. Gerontol.* 35, 879–896.
- Funato, H., Yoshimura, M., Kusui, K., Tamaoka, A., Ishikawa, K., Ohkoshi, N., Namekata, K., Okeda, R., Ihara, Y., 1998. Quantitation of amyloid beta-protein (A beta) in the cortex during aging and in Alzheimer's disease. *Am. J. Pathol.* 152, 1633–1640.
- Garcia-Osta, A., Alberini, C.M., 2009. Amyloid beta mediates memory formation. *Learn. Mem.* 16, 267–272. doi:10.1101/lm.1310209
- Garrido, A.M., Griendling, K.K., 2009. NADPH Oxidases and Angiotensin II Receptor Signaling. *Mol. Cell. Endocrinol.* 302, 148–158. doi:10.1016/j.mce.2008.11.003
- Gentile, M.T., Poulet, R., Di Pardo, A., Cifelli, G., Maffei, A., Vecchione, C., Passarelli, F., Landolfi, A., Carullo, P., Lembo, G., 2009. Beta-amyloid deposition in brain is enhanced in mouse models of arterial hypertension. *Neurobiol. Aging* 30, 222–228. doi:10.1016/j.neurobiolaging.2007.06.005
- Georgiev, V., Yonkov, D., 1985. Participation of angiotensin II in learning and memory. I. Interaction of angiotensin II with saralasin. *Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol.* 7, 415–418.
- Girouard, H., Bonev, A.D., Hannah, R.M., Meredith, A., Aldrich, R.W., Nelson, M.T., 2010. Astrocytic endfoot Ca<sup>2+</sup> and BK channels determine both arteriolar dilation and constriction. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 107, 3811–3816. doi:10.1073/pnas.0914722107
- Girouard, H., Lessard, A., Capone, C., Milner, T.A., Iadecola, C., 2008. The neurovascular dysfunction induced by angiotensin II in the mouse neocortex is sexually dimorphic. *Am. J. Physiol. - Heart Circ. Physiol.* 294, H156–H163. doi:10.1152/ajpheart.01137.2007

- Girouard, H., Park, L., Anrather, J., Zhou, P., Iadecola, C., 2007. Cerebrovascular nitrosative stress mediates neurovascular and endothelial dysfunction induced by angiotensin II. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 27, 303–309. doi:10.1161/01.ATV.0000253885.41509.25
- Girouard, H., Park, L., Anrather, J., Zhou, P., Iadecola, C., 2006. Angiotensin II attenuates endothelium-dependent responses in the cerebral microcirculation through nox-2-derived radicals. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 26, 826–832. doi:10.1161/01.ATV.0000205849.22807.6e
- Giuffrida, M.L., Caraci, F., Pignataro, B., Cataldo, S., De Bona, P., Bruno, V., Molinaro, G., Pappalardo, G., Messina, A., Palmigiano, A., Garozzo, D., Nicoletti, F., Rizzarelli, E., Copani, A., 2009. Beta-amyloid monomers are neuroprotective. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 29, 10582–10587. doi:10.1523/JNEUROSCI.1736-09.2009
- Golding, B.J., Overall, A.D., Gard, P.R., 2011. Strain differences and the role of AT(1) receptor expression in anxiety. *Int. J. Mol. Epidemiol. Genet.* 2, 51–55.
- Gottesman, R.F., Schneider, A.L.C., Albert, M., Alonso, A., Bandeen-Roche, K., Coker, L., Coresh, J., Knopman, D., Power, M.C., Rawlings, A., Sharrett, A.R., Wruck, L.M., Mosley, T.H., 2014. Midlife hypertension and 20-year cognitive change: the atherosclerosis risk in communities neurocognitive study. *JAMA Neurol.* 71, 1218–1227. doi:10.1001/jamaneurol.2014.1646
- Grill, J.D., Riddle, D.R., 2002. Age-related and laminar-specific dendritic changes in the medial frontal cortex of the rat. *Brain Res.* 937, 8–21.
- Grossman, E., Nadler, M., Sharabi, Y., Thaler, M., Shachar, A., Shamiss, A., 2005. Antianxiety treatment in patients with excessive hypertension. *Am. J. Hypertens.* 18, 1174–1177. doi:10.1016/j.amjhyper.2005.03.728
- Groux, H., O’Garra, A., Bigler, M., Rouleau, M., Antonenko, S., de Vries, J.E., Roncarolo, M.G., 1997. A CD4+ T-cell subset inhibits antigen-specific T-cell responses and prevents colitis. *Nature* 389, 737–742. doi:10.1038/39614
- Guzik, T.J., Hoch, N.E., Brown, K.A., McCann, L.A., Rahman, A., Dikalov, S., Goronzy, J., Weyand, C., Harrison, D.G., 2007. Role of the T cell in the genesis of angiotensin II-induced hypertension and vascular dysfunction. *J. Exp. Med.* 204, 2449–2460. doi:10.1084/jem.20070657
- Haight, T.J., Bryan, R.N., Erus, G., Davatzikos, C., Jacobs, D.R., D’Esposito, M., Lewis, C.E., Launer, L.J., 2015. Vascular risk factors, cerebrovascular reactivity, and the default-mode brain network. *NeuroImage.* doi:10.1016/j.neuroimage.2015.04.039
- Hajjar, I., Hart, M., Chen, Y.-L., Mack, W., Novak, V., C Chui, H., Lipsitz, L., 2013. Antihypertensive therapy and cerebral hemodynamics in executive mild cognitive impairment: results of a pilot randomized clinical trial. *J. Am. Geriatr. Soc.* 61, 194–201. doi:10.1111/jgs.12100
- Hardy, J., Selkoe, D.J., 2002. The amyloid hypothesis of Alzheimer’s disease: progress and problems on the road to therapeutics. *Science* 297, 353–356. doi:10.1126/science.1072994
- Harrison, D.G., Marvar, P.J., Titze, J.M., 2012. Vascular Inflammatory Cells in Hypertension. *Front. Physiol.* 3. doi:10.3389/fphys.2012.00128
- Haruyama, N., Fujisaki, K., Yamato, M., Eriguchi, M., Noguchi, H., Torisu, K., Tsuruya, K., Kitazono, T., 2014. Improvement in spatial memory dysfunction by telmisartan through reduction of brain angiotensin II and oxidative stress in experimental uremic mice. *Life Sci.* 113, 55–59. doi:10.1016/j.lfs.2014.07.032
- Hayden, E.Y., Teplow, D.B., 2013. Amyloid  $\beta$ -protein oligomers and Alzheimer’s disease. *Alzheimers Res. Ther.* 5, 60. doi:10.1186/alzrt226
- Hecker, M., 2000. Endothelium-Derived Hyperpolarizing Factor—Fact or Fiction? *Physiology* 15, 1–5.
- Hendrie, H.C., Hake, A., Lane, K., Purnell, C., Unverzagt, F., Smith-Gamble, V., Murrell, J., Ogunniyi, A., Baiyewu, O., Callahan, C., Saykin, A., Taylor, S., Hall, K., Gao, S., 2015. Statin Use, Incident

- Dementia and Alzheimer Disease in Elderly African Americans. *Ethn. Dis.* 25, 345–354. doi:10.18865/ed.25.3.345
- Hillman, E.M.C., 2014. Coupling Mechanism and Significance of the BOLD Signal: A Status Report. *Annu. Rev. Neurosci.* 37, 161–181. doi:10.1146/annurev-neuro-071013-014111
- Hoch, N.E., Guzik, T.J., Chen, W., Deans, T., Maalouf, S.A., Gratzke, P., Weyand, C., Harrison, D.G., 2009. Regulation of T-cell function by endogenously produced angiotensin II. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 296, R208–216. doi:10.1152/ajpregu.90521.2008
- Hori, S., Nomura, T., Sakaguchi, S., 2003. Control of regulatory T cell development by the transcription factor Foxp3. *Science* 299, 1057–1061. doi:10.1126/science.1079490
- Hsia, A.Y., Masliah, E., McConlogue, L., Yu, G.Q., Tatsuno, G., Hu, K., Kholodenko, D., Malenka, R.C., Nicoll, R.A., Mucke, L., 1999. Plaque-independent disruption of neural circuits in Alzheimer's disease mouse models. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 96, 3228–3233.
- Huber, S., Gagliani, N., Esplugues, E., O'Connor, W., Huber, F.J., Chaudhry, A., Kamanaka, M., Kobayashi, Y., Booth, C.J., Rudensky, A.Y., Roncarolo, M.G., Battaglia, M., Flavell, R.A., 2011. Th17 cells express interleukin-10 receptor and are controlled by Foxp3<sup>-</sup> and Foxp3<sup>+</sup> regulatory CD4<sup>+</sup> T cells in an interleukin-10-dependent manner. *Immunity* 34, 554–565. doi:10.1016/j.immuni.2011.01.020
- Iadecola, C., Davisson, R.L., 2008. Hypertension and cerebrovascular dysfunction. *Cell Metab.* 7, 476–484. doi:10.1016/j.cmet.2008.03.010
- Inaba, S., Iwai, M., Furuno, M., Tomono, Y., Kanno, H., Senba, I., Okayama, H., Mogi, M., Higaki, J., Horiuchi, M., 2009. Continuous Activation of Renin-Angiotensin System Impairs Cognitive Function in Renin/Angiotensinogen Transgenic Mice. *Hypertension* 53, 356–362. doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.108.123612
- Jankovic, D., Kullberg, M.C., Feng, C.G., Goldszmid, R.S., Collazo, C.M., Wilson, M., Wynn, T.A., Kamanaka, M., Flavell, R.A., Sher, A., 2007. Conventional T-bet(+)Foxp3(-) Th1 cells are the major source of host-protective regulatory IL-10 during intracellular protozoan infection. *J. Exp. Med.* 204, 273–283. doi:10.1084/jem.20062175
- Ji, J., Maren, S., 2008. Differential roles for hippocampal areas CA1 and CA3 in the contextual encoding and retrieval of extinguished fear. *Learn. Mem.* 15, 244–251. doi:10.1101/lm.794808
- Johnson, R.J., Feig, D.I., Nakagawa, T., Sanchez-Lozada, L.G., Rodriguez-Iturbe, B., 2008. Pathogenesis of essential hypertension: historical paradigms and modern insights. *J. Hypertens.* 26, 381–391. doi:10.1097/HJH.0b013e3282f29876
- Kang, Y.-M., Ma, Y., Elks, C., Zheng, J.-P., Yang, Z.-M., Francis, J., 2008. Cross-talk between cytokines and renin-angiotensin in hypothalamic paraventricular nucleus in heart failure: role of nuclear factor-kappaB. *Cardiovasc. Res.* 79, 671–678. doi:10.1093/cvr/cvn119
- Kassan, M., Galan, M., Partyka, M., Trebak, M., Matrougui, K., 2011. Interleukin-10 released by CD4(+)CD25(+) natural regulatory T cells improves microvascular endothelial function through inhibition of NADPH oxidase activity in hypertensive mice. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 31, 2534–2542. doi:10.1161/ATVBAHA.111.233262
- Kawada, N., Imai, E., Karber, A., Welch, W.J., Wilcox, C.S., 2002. A Mouse Model of Angiotensin II Slow Pressor Response: Role of Oxidative Stress. *J. Am. Soc. Nephrol.* 13, 2860–2868. doi:10.1097/01.ASN.0000035087.11758.ED
- Kazama, K., Anrather, J., Zhou, P., Girouard, H., Frys, K., Milner, T.A., Iadecola, C., 2004. Angiotensin II impairs neurovascular coupling in neocortex through NADPH oxidase-derived radicals. *Circ. Res.* 95, 1019–1026. doi:10.1161/01.RES.0000148637.85595.c5

- Kesner, R.P., 2007. Behavioral functions of the CA3 subregion of the hippocampus. *Learn. Mem. Cold Spring Harb. N* 14, 771–781. doi:10.1101/lm.688207
- Kesner, R.P., Lee, I., Gilbert, P., 2004. A behavioral assessment of hippocampal function based on a subregional analysis. *Rev. Neurosci.* 15, 333–351.
- Kheirbek, M.A., Hen, R., 2011. Dorsal vs Ventral Hippocampal Neurogenesis: Implications for Cognition and Mood. *Neuropsychopharmacology* 36, 373–374. doi:10.1038/npp.2010.148
- Kimura, A., Kishimoto, T., 2010. IL-6: regulator of Treg/Th17 balance. *Eur. J. Immunol.* 40, 1830–1835. doi:10.1002/eji.201040391
- Kizilbash, A.H., Vanderploeg, R.D., Curtiss, G., 2002. The effects of depression and anxiety on memory performance. *Arch. Clin. Neuropsychol.* 17, 57–67. doi:10.1016/S0887-6177(00)00101-3
- Koehler, R.C., Gebremedhin, D., Harder, D.R., 2006. Role of astrocytes in cerebrovascular regulation. *J. Appl. Physiol. Bethesda Md* 1985 100, 307–317. doi:10.1152/jappphysiol.00938.2005
- Kunzelmann, P., Schröder, W., Traub, O., Steinhäuser, C., Dermietzel, R., Willecke, K., 1999. Late onset and increasing expression of the gap junction protein connexin30 in adult murine brain and long-term cultured astrocytes. *Glia* 25, 111–119.
- Kuusisto, J., Koivisto, K., Mykkänen, L., Helkala, E.L., Vanhanen, M., Hänninen, T., Pyörälä, K., Riekkinen, P., Laakso, M., 1993. Essential hypertension and cognitive function. The role of hyperinsulinemia. *Hypertension* 22, 771–779. doi:10.1161/01.HYP.22.5.771
- Kuwabara, Y., Ichiya, Y., Sasaki, M., Yoshida, T., Fukumura, T., Masuda, K., Ibayashi, S., Fujishima, M., 1996. Cerebral blood flow and vascular response to hypercapnia in hypertensive patients with leukoaraiosis. *Ann. Nucl. Med.* 10, 293–298.
- Kvakan, H., Kleinewietfeld, M., Qadri, F., Park, J.-K., Fischer, R., Schwarz, I., Rahn, H.-P., Plehm, R., Wellner, M., Elitok, S., Grätze, P., Dechend, R., Luft, F.C., Müller, D.N., 2009. Regulatory T cells ameliorate angiotensin II-induced cardiac damage. *Circulation* 119, 2904–2912. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.108.832782
- Kwon, S.E., Chapman, E.R., 2011. Synaptophysin regulates the kinetics of synaptic vesicle endocytosis in central neurons. *Neuron* 70, 847–854. doi:10.1016/j.neuron.2011.04.001
- Lange, A., Gebremedhin, D., Narayanan, J., Harder, D., 1997. 20-Hydroxyeicosatetraenoic Acid-induced Vasoconstriction and Inhibition of Potassium Current in Cerebral Vascular Smooth Muscle Is Dependent on Activation of Protein Kinase C. *J. Biol. Chem.* 272, 27345–27352. doi:10.1074/jbc.272.43.27345
- Lassen, N.A., Agnoli, A., 1972. The upper limit of autoregulation of cerebral blood flow--on the pathogenesis of hypertensive encephalopathy. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 30, 113–116.
- Lavric, A., Rippon, G., Gray, J.R., 2003. Threat-Evoked Anxiety Disrupts Spatial Working Memory Performance: An Attentional Account. *Cogn. Ther. Res.* 27, 489–504. doi:10.1023/A:1026300619569
- Lee, I., Kesner, R.P., 2004. Encoding versus retrieval of spatial memory: double dissociation between the dentate gyrus and the perforant path inputs into CA3 in the dorsal hippocampus. *Hippocampus* 14, 66–76. doi:10.1002/hipo.10167
- León, K., Pérez, R., Lage, A., Carneiro, J., 2000. Modelling T-cell-mediated suppression dependent on interactions in multicellular conjugates. *J. Theor. Biol.* 207, 231–254. doi:10.1006/jtbi.2000.2169
- Lind, W., Swanson, L.W., Ganten, D., 2004. Organization of Angiotensin II Immunoreactive Cells and Fibers in the Rat Central Nervous System. *Neuroendocrinology* 40, 2–24. doi:10.1159/000124046
- Lithell, H., Hansson, L., Skoog, I., Elmfeldt, D., Hofman, A., Olofsson, B., Trenkwalder, P., Zanchetti, A., SCOPE Study Group, 2003. The Study on Cognition and Prognosis in the Elderly (SCOPE):

- principal results of a randomized double-blind intervention trial. *J. Hypertens.* 21, 875–886. doi:10.1097/01.hjh.0000059028.82022.89
- Liu, X., Miller, M.J., Joshi, M.S., Sadowska-Krowicka, H., Clark, D.A., Lancaster, J.R., 1998. Diffusion-limited reaction of free nitric oxide with erythrocytes. *J. Biol. Chem.* 273, 18709–18713.
- Lob, H.E., Schultz, D., Marvar, P.J., Davisson, R.L., Harrison, D.G., 2013. Role of the NADPH oxidases in the subfornical organ in angiotensin II-induced hypertension. *Hypertens. Dallas Tex* 1979 61, 382–387. doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.111.00546
- Love, S., 2005. Neuropathological investigation of dementia: a guide for neurologists. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 76, v8–v14. doi:10.1136/jnnp.2005.080754
- Lovren, F., Triggle, C., 2000. Nitric oxide and sodium nitroprusside-induced relaxation of the human umbilical artery. *Br. J. Pharmacol.* 131, 521–529. doi:10.1038/sj.bjp.0703588
- Lucas, F.V., Skrinska, V.A., Chisolm, G.M., Hesse, B.L., 1986. Stability of prostacyclin in human and rabbit whole blood and plasma. *Thromb. Res.* 43, 379–387.
- Lue, L.F., Kuo, Y.M., Roher, A.E., Brachova, L., Shen, Y., Sue, L., Beach, T., Kurth, J.H., Rydel, R.E., Rogers, J., 1999. Soluble amyloid beta peptide concentration as a predictor of synaptic change in Alzheimer’s disease. *Am. J. Pathol.* 155, 853–862.
- Madhur, M.S., Lob, H.E., McCann, L.A., Iwakura, Y., Blinder, Y., Guzik, T.J., Harrison, D.G., 2010. Interleukin 17 promotes angiotensin II-induced hypertension and vascular dysfunction. *Hypertens. Dallas Tex* 1979 55, 500–507. doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.109.145094
- Marieb, E., 2008. *Biologie humaine: Principes d’anatomie et de physiologie*. Pearson.
- Marvar, P.J., Thabet, S.R., Guzik, T.J., Lob, H.E., McCann, L.A., Weyand, C., Gordon, F.J., Harrison, D.G., 2010. Central and Peripheral Mechanisms of T-Lymphocyte Activation and Vascular Inflammation Produced by Angiotensin II-Induced Hypertension. *Circ. Res.* 107, 263–270. doi:10.1161/CIRCRESAHA.110.217299
- Marvar, P.J., Vinh, A., Thabet, S., Lob, H.E., Geem, D., Ressler, K.J., Harrison, D.G., 2012. T lymphocytes and vascular inflammation contribute to stress-dependent hypertension. *Biol. Psychiatry* 71, 774–782. doi:10.1016/j.biopsych.2012.01.017
- Matavelli, L.C., Siragy, H.M., 2015. AT2 receptor activities and pathophysiological implications. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 65, 226–232. doi:10.1097/FJC.0000000000000208
- Matrougui, K., Abd Elmageed, Z., Zakaria, A.E., Kassan, M., Choi, S., Nair, D., Gonzalez-Villalobos, R.A., Chentoufi, A.A., Kadowitz, P., Belmadani, S., Partyka, M., 2011. Natural regulatory T cells control coronary arteriolar endothelial dysfunction in hypertensive mice. *Am. J. Pathol.* 178, 434–441. doi:10.1016/j.ajpath.2010.11.034
- McLaughlin, T., Geissler, E.C., Wan, G.J., 2003. Comorbidities and associated treatment charges in patients with anxiety disorders. *Pharmacotherapy* 23, 1251–1256.
- Miller, A.A., Drummond, G.R., Schmidt, H.H.H.W., Sobey, C.G., 2005. NADPH Oxidase Activity and Function Are Profoundly Greater in Cerebral Versus Systemic Arteries. *Circ. Res.* 97, 1055–1062. doi:10.1161/01.RES.0000189301.10217.87
- Min, L.-J., Mogi, M., Iwanami, J., Sakata, A., Jing, F., Tsukuda, K., Ohshima, K., Horiuchi, M., 2011. Angiotensin II and aldosterone-induced neuronal damage in neurons through an astrocyte-dependent mechanism. *Hypertens. Res. Off. J. Jpn. Soc. Hypertens.* 34, 773–778. doi:10.1038/hr.2011.38
- Miwa, C., Ueki, A., Shinjo, H., Simode, H., Morita, Y., 2001. Long-term synaptic alteration in the rat hippocampal CA3 field following an entorhinal cortex lesion. *Psychiatry Clin. Neurosci.* 55, 573–578. doi:10.1046/j.1440-1819.2001.00908.x
- Mori, H., Takio, K., Ogawara, M., Selkoe, D.J., 1992. Mass spectrometry of purified amyloid beta protein in Alzheimer’s disease. *J. Biol. Chem.* 267, 17082–17086.

- Moser, M.B., Moser, E.I., Forrest, E., Andersen, P., Morris, R.G., 1995. Spatial learning with a minilab in the dorsal hippocampus. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 92, 9697–9701.
- Mucke, L., Masliah, E., Yu, G.Q., Mallory, M., Rockenstein, E.M., Tatsuno, G., Hu, K., Kholodenko, D., Johnson-Wood, K., McConlogue, L., 2000. High-level neuronal expression of abeta 1-42 in wild-type human amyloid protein precursor transgenic mice: synaptotoxicity without plaque formation. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 20, 4050–4058.
- Muller, D.N., Shagdarsuren, E., Park, J.-K., Dechend, R., Mervaala, E., Hampich, F., Fiebeler, A., Ju, X., Finckenberg, P., Theuer, J., Viedt, C., Kreuzer, J., Heidecke, H., Haller, H., Zenke, M., Luft, F.C., 2002. Immunosuppressive treatment protects against angiotensin II-induced renal damage. *Am. J. Pathol.* 161, 1679–1693. doi:10.1016/S0002-9440(10)64445-8
- Nakazawa, K., McHugh, T.J., Wilson, M.A., Tonegawa, S., 2004. NMDA receptors, place cells and hippocampal spatial memory. *Nat. Rev. Neurosci.* 5, 361–372. doi:10.1038/nrn1385
- Nakazawa, K., Quirk, M.C., Chitwood, R.A., Watanabe, M., Yeckel, M.F., Sun, L.D., Kato, A., Carr, C.A., Johnston, D., Wilson, M.A., Tonegawa, S., 2002. Requirement for hippocampal CA3 NMDA receptors in associative memory recall. *Science* 297, 211–218. doi:10.1126/science.1071795
- Näslund, J., Schierhorn, A., Hellman, U., Lannfelt, L., Roses, A.D., Tjernberg, L.O., Silberring, J., Gandy, S.E., Winblad, B., Greengard, P., 1994. Relative abundance of Alzheimer A beta amyloid peptide variants in Alzheimer disease and normal aging. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 91, 8378–8382.
- Nataraj, C., Oliverio, M.I., Mannon, R.B., Mannon, P.J., Audoly, L.P., Amuchastegui, C.S., Ruiz, P., Smithies, O., Coffman, T.M., 1999. Angiotensin II regulates cellular immune responses through a calcineurin-dependent pathway. *J. Clin. Invest.* 104, 1693–1701. doi:10.1172/JCI7451
- Neuwelt, E.A., Bauer, B., Fahlke, C., Fricker, G., Iadecola, C., Janigro, D., Leybaert, L., Molnar, Z., O'Donnell, M., Povlishock, J., Saunders, N., Sharp, F., Stanimirovic, D., Watts, R., Drewes, L., 2011. Engaging Neuroscience to Advance Translational Research in Brain Barrier Biology. *Nat. Rev. Neurosci.* 12, 169–182. doi:10.1038/nrn2995
- Niedbala, W., Besnard, A.-G., Jiang, H.R., Alves-Filho, J.C., Fukada, S.Y., Nascimento, D., Mitani, A., Pushparaj, P., Alqahtani, M.H., Liew, F.Y., 2013. Nitric oxide-induced regulatory T cells inhibit Th17 but not Th1 cell differentiation and function. *J. Immunol. Baltim. Md 1950* 191, 164–170. doi:10.4049/jimmunol.1202580
- Niedbala, W., Cai, B., Liu, H., Pitman, N., Chang, L., Liew, F.Y., 2007. Nitric oxide induces CD4+CD25+ Foxp3 regulatory T cells from CD4+CD25 T cells via p53, IL-2, and OX40. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 104, 15478–15483. doi:10.1073/pnas.0703725104
- Niwa, K., Carlson, G.A., Iadecola, C., 2000. Exogenous A beta1-40 reproduces cerebrovascular alterations resulting from amyloid precursor protein overexpression in mice. *J. Cereb. Blood Flow Metab. Off. J. Int. Soc. Cereb. Blood Flow Metab.* 20, 1659–1668. doi:10.1097/00004647-200012000-00005
- Nizar, K., Uhlirva, H., Tian, P., Saisan, P.A., Cheng, Q., Reznichenko, L., Weldy, K.L., Steed, T.C., Sridhar, V.B., MacDonald, C.L., Cui, J., Gratiy, S.L., Sakadzić, S., Boas, D.A., Beka, T.I., Einevoll, G.T., Chen, J., Masliah, E., Dale, A.M., Silva, G.A., Devor, A., 2013. In vivo stimulus-induced vasodilation occurs without IP3 receptor activation and may precede astrocytic calcium increase. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 33, 8411–8422. doi:10.1523/JNEUROSCI.3285-12.2013
- Obisesan, T.O., 2009. Hypertension and Cognitive Function. *Clin. Geriatr. Med.* 25, 259–288. doi:10.1016/j.cger.2009.03.002
- O'Brien, M.D., 1988. Vascular dementia is underdiagnosed. *Arch. Neurol.* 45, 797–798.

- O'Farrell, A.M., Liu, Y., Moore, K.W., Mui, A.L., 1998. IL-10 inhibits macrophage activation and proliferation by distinct signaling mechanisms: evidence for Stat3-dependent and - independent pathways. *EMBO J.* 17, 1006–1018. doi:10.1093/emboj/17.4.1006
- Ongali, B., Nicolakakis, N., Tong, X.-K., Aboukassim, T., Papadopoulos, P., Rosa-Neto, P., Lecrux, C., Imboden, H., Hamel, E., 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, 126–136. doi:10.1016/j.nbd.2014.04.018
- O'Reilly, K.C., Flatberg, A., Islam, S., Olsen, L.C., Krüge, I.U., Witter, M.P., 2015. Identification of dorsal-ventral hippocampal differentiation in neonatal rats. *Brain Struct. Funct.* 220, 2873–2893. doi:10.1007/s00429-014-0831-8
- Otsu, Y., Couchman, K., Lyons, D.G., Collot, M., Agarwal, A., Mallet, J.-M., Pfrieger, F.W., Bergles, D.E., Charpak, S., 2015. Calcium dynamics in astrocyte processes during neurovascular coupling. *Nat. Neurosci.* 18, 210–218. doi:10.1038/nn.3906
- Padurariu, M., Ciobica, A., Mavroudis, I., Fotiou, D., Baloyannis, S., 2012. Hippocampal neuronal loss in the CA1 and CA3 areas of Alzheimer's disease patients. *Psychiatr. Danub.* 24, 152–158.
- Paiardi, S., Rodella, L.F., De Ciuceis, C., Porteri, E., Boari, G.E.M., Rezzani, R., Rizzardì, N., Platto, C., Tiberio, G.A.M., Giulini, S.M., Rizzoni, D., Agabiti-Rosei, E., 2009. Immunohistochemical evaluation of microvascular rarefaction in hypertensive humans and in spontaneously hypertensive rats. *Clin. Hemorheol. Microcirc.* 42, 259–268. doi:10.3233/CH-2009-1195
- Paukert, M., Agarwal, A., Cha, J., Doze, V.A., Kang, J.U., Bergles, D.E., 2014. Norepinephrine controls astroglial responsiveness to local circuit activity. *Neuron* 82, 1263–1270. doi:10.1016/j.neuron.2014.04.038
- Paul, M., Printz, M.P., Harms, E., Unger, T., Lang, R.E., Ganten, D., 1985. Localization of renin (EC 3.4.23) and converting enzyme (EC 3.4.15.1) in nerve endings of rat brain. *Brain Res.* 334, 315–324.
- Pelisch, N., Hosomi, N., Ueno, M., Nakano, D., Hitomi, H., Mogi, M., Shimada, K., Kobori, H., Horiuchi, M., Sakamoto, H., Matsumoto, M., Kohno, M., Nishiyama, A., 2011. Blockade of AT1 receptors protects the blood-brain barrier and improves cognition in Dahl salt-sensitive hypertensive rats. *Am. J. Hypertens.* 24, 362–368. doi:10.1038/ajh.2010.241
- Petersen, R.C., Smith, G.E., Waring, S.C., Ivnik, R.J., Tangalos, E.G., Kokmen, E., 1999. Mild cognitive impairment: clinical characterization and outcome. *Arch. Neurol.* 56, 303–308.
- Peterson, J.R., Sharma, R.V., Davison, R.L., 2006. Reactive oxygen species in the neuropathogenesis of hypertension. *Curr. Hypertens. Rep.* 8, 232–241.
- Petrella, R.J., Shlyakhto, E., Konradi, A.O., Berrou, J.-P., Sedefdjian, A., Pathak, A., OSCAR Publication Group, 2012. Blood pressure responses to hypertension treatment and trends in cognitive function in patients with initially difficult-to-treat hypertension: a retrospective subgroup analysis of the Observational Study on Cognitive Function and SBP Reduction (OSCAR) study. *J. Clin. Hypertens. Greenwich Conn* 14, 78–84. doi:10.1111/j.1751-7176.2011.00577.x
- Phillips, S.J., Whisnant, J.P., 1992. Hypertension and the brain. The National High Blood Pressure Education Program. *Arch. Intern. Med.* 152, 938–945.
- Postel-Vinay, N., 1996. [History of hypertension and of vascular risk: at the origins of change of contemporary medicine]. *Hist. Sci. Médicales* 30, 235–241.
- Pueyo, M.E., Gonzalez, W., Nicoletti, A., Savoie, F., Arnal, J.F., Michel, J.B., 2000. Angiotensin II stimulates endothelial vascular cell adhesion molecule-1 via nuclear factor-kappaB activation induced by intracellular oxidative stress. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 20, 645–651.
- Rahimi, K., Emdin, C.A., MacMahon, S., 2015. The Epidemiology of Blood Pressure and Its Worldwide Management. *Circ. Res.* 116, 925–936. doi:10.1161/CIRCRESAHA.116.304723

- Randomised trial of a perindopril-based blood-pressure-lowering regimen among 6105 individuals with previous stroke or transient ischaemic attack, 2001. . *The Lancet* 358, 1033–1041. doi:10.1016/S0140-6736(01)06178-5
- Ravenni, R., Jabre, J.F., Casiglia, E., Mazza, A., 2011. Primary stroke prevention and hypertension treatment: which is the first-line strategy? *Neurol. Int.* 3. doi:10.4081/ni.2011.e12
- Raz, L., Knoefel, J., Bhaskar, K., 2016. The neuropathology and cerebrovascular mechanisms of dementia. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 36, 172–186. doi:10.1038/jcbfm.2015.164
- Reinhardt, C.A., Gloor, S.M., 1997. Co-culture blood-brain barrier models and their use for pharmacotoxicological screening. *Toxicol. Vitro Int. J. Publ. Assoc. BIBRA* 11, 513–518.
- Reisberg, B., Ferris, S.H., de Leon, M.J., Crook, T., 1982. The Global Deterioration Scale for assessment of primary degenerative dementia. *Am. J. Psychiatry* 139, 1136–1139. doi:10.1176/ajp.139.9.1136
- Rose, J.M., Audus, K.L., 1998. Receptor-mediated angiotensin II transcytosis by brain microvessel endothelial cells. *Peptides* 19, 1023–1030.
- Rosenblum, W.I., 1986. Aspects of endothelial malfunction and function in cerebral microvessels. *Lab. Investig. J. Tech. Methods Pathol.* 55, 252–268.
- Rountree, S.D., Waring, S.C., Chan, W.C., Lupo, P.J., Darby, E.J., Doody, R.S., 2007. Importance of subtle amnesic and nonamnesic deficits in mild cognitive impairment: prognosis and conversion to dementia. *Dement. Geriatr. Cogn. Disord.* 24, 476–482. doi:10.1159/000110800
- Ruitenbergh, A., den Heijer, T., Bakker, S.L.M., van Swieten, J.C., Koudstaal, P.J., Hofman, A., Breteler, M.M.B., 2005. Cerebral hypoperfusion and clinical onset of dementia: the Rotterdam Study. *Ann. Neurol.* 57, 789–794. doi:10.1002/ana.20493
- Ruiz-Ortega, M., Lorenzo, O., Rupérez, M., König, S., Wittig, B., Egido, J., 2000. Angiotensin II activates nuclear transcription factor kappaB through AT(1) and AT(2) in vascular smooth muscle cells: molecular mechanisms. *Circ. Res.* 86, 1266–1272.
- Saavedra, J.M., 2005. Brain angiotensin II: new developments, unanswered questions and therapeutic opportunities. *Cell. Mol. Neurobiol.* 25, 485–512. doi:10.1007/s10571-005-4011-5
- Saavedra, J.M., Correa, F.M., Seltzer, A., Pinto, J.E., Viglione, P., Tsutsumi, K., 1992. Enhanced angiotensin converting enzyme binding in arteries from spontaneously hypertensive rats. *J. Hypertens.* 10, 1353–1359.
- Sacco, R.L., Benjamin, E.J., Broderick, J.P., Dyken, M., Easton, J.D., Feinberg, W.M., Goldstein, L.B., Gorelick, P.B., Howard, G., Kittner, S.J., Manolio, T.A., Whisnant, J.P., Wolf, P.A., 1997. Risk Factors. *Stroke* 28, 1507–1517. doi:10.1161/01.STR.28.7.1507
- 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. *J. Am. Heart Assoc.* 2, e000224. doi:10.1161/JAHA.113.000224
- Sagare, A.P., Bell, R.D., Zlokovic, B.V., 2013. Neurovascular defects and faulty amyloid- $\beta$  vascular clearance in Alzheimer's disease. *J. Alzheimers Dis. JAD* 33 Suppl 1, S87-100. doi:10.3233/JAD-2012-129037
- Sakaguchi, S., Sakaguchi, N., Asano, M., Itoh, M., Toda, M., 1995. Immunologic self-tolerance maintained by activated T cells expressing IL-2 receptor alpha-chains (CD25). Breakdown of a single mechanism of self-tolerance causes various autoimmune diseases. *J. Immunol. Baltim. Md* 155, 1151–1164.
- Sakaguchi, S., Wing, K., Onishi, Y., Prieto-Martin, P., Yamaguchi, T., 2009. Regulatory T cells: how do they suppress immune responses? *Int. Immunol.* 21, 1105–1111. doi:10.1093/intimm/dxp095



- Savaskan, E., Hock, C., Olivieri, G., Bruttel, S., Rosenberg, C., Hulette, C., Müller-Spahn, F., 2001. Cortical alterations of angiotensin converting enzyme, angiotensin II and AT1 receptor in Alzheimer's dementia. *Neurobiol. Aging* 22, 541–546.
- Saxby, B.K., Harrington, F., McKeith, I.G., Wesnes, K., Ford, G.A., 2003. Effects of hypertension on attention, memory, and executive function in older adults. *Health Psychol. Off. J. Div. Health Psychol. Am. Psychol. Assoc.* 22, 587–591. doi:10.1037/0278-6133.22.6.587
- Schiffirin, E.L., 2010. T lymphocytes: a role in hypertension? *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* 19, 181–186. doi:10.1097/MNH.0b013e3283360a2e
- Schmitt, U., Tanimoto, N., Seeliger, M., Schaeffel, F., Leube, R.E., 2009. Detection of behavioral alterations and learning deficits in mice lacking synaptophysin. *Neuroscience* 162, 234–243. doi:10.1016/j.neuroscience.2009.04.046
- Schmued, L.C., Hopkins, K.J., 2000. Fluoro-Jade B: a high affinity fluorescent marker for the localization of neuronal degeneration. *Brain Res.* 874, 123–130.
- Schneider, L.S., 2016. Reduce vascular risk to prevent dementia? *Lancet Lond. Engl.* 388, 738–740. doi:10.1016/S0140-6736(16)31129-1
- Sewnath, M.E., Olszyna, D.P., Birjmohun, R., ten Kate, F.J., Gouma, D.J., van Der Poll, T., 2001. IL-10-deficient mice demonstrate multiple organ failure and increased mortality during Escherichia coli peritonitis despite an accelerated bacterial clearance. *J. Immunol. Baltim. Md* 1950 166, 6323–6331.
- Shackman, A.J., Sarinopoulos, I., Maxwell, J.S., Pizzagalli, D.A., Lavric, A., Davidson, R.J., 2006. Anxiety selectively disrupts visuospatial working memory. *Emotion* 6, 40–61. doi:10.1037/1528-3542.6.1.40
- Shen, C., Chen, Y., Liu, H., Zhang, K., Zhang, T., Lin, A., Jing, N., 2008. Hydrogen peroxide promotes Abeta production through JNK-dependent activation of gamma-secretase. *J. Biol. Chem.* 283, 17721–17730. doi:10.1074/jbc.M800013200
- Shim, Y., Yoon, B., Shim, D.S., Kim, W., An, J.-Y., Yang, D.-W., 2015. Cognitive Correlates of Cerebral Vasoreactivity on Transcranial Doppler in Older Adults. *J. Stroke Cerebrovasc. Dis. Off. J. Natl. Stroke Assoc.* doi:10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2015.01.031
- Silva-Filho, J.L., Souza, M.C., Ferreira-Dasilva, C.T., Silva, L.S., Costa, M.F.S., Padua, T.A., Henriques, M. das G., Morrot, A., Savino, W., Caruso-Neves, C., Pinheiro, A.A.S., 2013. Angiotensin II is a new component involved in splenic T lymphocyte responses during Plasmodium berghei ANKA infection. *PloS One* 8, e62999. doi:10.1371/journal.pone.0062999
- Silva-Filho, J.L., Souza, M.C., Henriques, M. das G., Morrot, A., Savino, W., Nunes, M.P., Caruso-Neves, C., Pinheiro, A.A.S., 2011. AT1 receptor-mediated angiotensin II activation and chemotaxis of T lymphocytes. *Mol. Immunol.* 48, 1835–1843. doi:10.1016/j.molimm.2011.05.008
- Simões e Silva, A.C., Silveira, K.D., Ferreira, A.J., Teixeira, M.M., 2013. ACE2, angiotensin-(1-7) and Mas receptor axis in inflammation and fibrosis. *Br. J. Pharmacol.* 169, 477–492. doi:10.1111/bph.12159
- Smith, T.D., Adams, M.M., Gallagher, M., Morrison, J.H., Rapp, P.R., 2000. Circuit-specific alterations in hippocampal synaptophysin immunoreactivity predict spatial learning impairment in aged rats. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 20, 6587–6593.
- Sokolova, I.A., Manukhina, E.B., Blinkov, S.M., Koshelev, V.B., Pinelis, V.G., Rodionov, I.M., 1985. Rarefication of the arterioles and capillary network in the brain of rats with different forms of hypertension. *Microvasc. Res.* 30, 1–9.
- Stanimirovic, D.B., Friedman, A., 2012. Pathophysiology of the neurovascular unit: disease cause or consequence? *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 32, 1207–1221. doi:10.1038/jcbfm.2012.25

- Stefani, A., Sancesario, G., Pierantozzi, M., Leone, G., Galati, S., Hainsworth, A.H., Diemedi, M., 2009. CSF biomarkers, impairment of cerebral hemodynamics and degree of cognitive decline in Alzheimer's and mixed dementia. *J. Neurol. Sci.* 283, 109–115. doi:10.1016/j.jns.2009.02.343
- Straub, S.V., Nelson, M.T., 2007. Astrocytic calcium signaling: the information currency coupling neuronal activity to the cerebral microcirculation. *Trends Cardiovasc. Med.* 17, 183–190. doi:10.1016/j.tcm.2007.05.001
- Stroobant, N., Van Nooten, G., Vingerhoets, G., 2004. Effect of cardiovascular disease on hemodynamic response to cognitive activation: a functional transcranial Doppler study. *Eur. J. Neurol.* 11, 749–754. doi:10.1111/j.1468-1331.2004.00873.x
- Sumners, C., Fleegal, M.A., Zhu, M., 2002. Angiotensin At1 Receptor Signalling Pathways In Neurons. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 29, 483–490. doi:10.1046/j.1440-1681.2002.03660.x
- Sun, W., McConnell, E., Pare, J.-F., Xu, Q., Chen, M., Peng, W., Lovatt, D., Han, X., Smith, Y., Nedergaard, M., 2013. Glutamate-dependent neuroglial calcium signaling differs between young and adult brain. *Science* 339, 197–200. doi:10.1126/science.1226740
- Suzuki, H., Motley, E.D., Frank, G.D., Utsunomiya, H., Eguchi, S., 2005. Recent progress in signal transduction research of the angiotensin II type-1 receptor: protein kinases, vascular dysfunction and structural requirement. *Curr. Med. Chem. Cardiovasc. Hematol. Agents* 3, 305–322.
- Sze, C.I., Troncoso, J.C., Kawas, C., Mouton, P., Price, D.L., Martin, L.J., 1997. Loss of the presynaptic vesicle protein synaptophysin in hippocampus correlates with cognitive decline in Alzheimer disease. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 56, 933–944.
- Takata, F., Dohgu, S., Yamauchi, A., Matsumoto, J., Machida, T., Fujishita, K., Shibata, K., Shinozaki, Y., Sato, K., Kataoka, Y., Koizumi, S., 2013. In Vitro Blood-Brain Barrier Models Using Brain Capillary Endothelial Cells Isolated from Neonatal and Adult Rats Retain Age-Related Barrier Properties. *PLoS ONE* 8. doi:10.1371/journal.pone.0055166
- Tallini, Y.N., Brekke, J.F., Shui, B., Doran, R., Hwang, S., Nakai, J., Salama, G., Segal, S.S., Kotlikoff, M.I., 2007. Propagated endothelial Ca<sup>2+</sup> waves and arteriolar dilation in vivo: measurements in Cx40BAC GCaMP2 transgenic mice. *Circ. Res.* 101, 1300–1309. doi:10.1161/CIRCRESAHA.107.149484
- Tampellini, D., Capetillo-Zarate, E., Dumont, M., Huang, Z., Yu, F., Lin, M.T., Gouras, G.K., 2010. Effects of synaptic modulation on  $\beta$ -amyloid, synaptophysin and memory performance in Alzheimer's disease transgenic mice. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 30, 14299–14304. doi:10.1523/JNEUROSCI.3383-10.2010
- Tang, Q., Bluestone, J.A., 2006. Regulatory T-cell physiology and application to treat autoimmunity. *Immunol. Rev.* 212, 217–237. doi:10.1111/j.0105-2896.2006.00421.x
- Tarantini, S., Hertelendy, P., Tucsek, Z., Valcarcel-Ares, M.N., Smith, N., Menyhart, A., Farkas, E., Hodges, E.L., Towner, R., Deak, F., Sonntag, W.E., Csiszar, A., Ungvari, Z., Toth, P., 2015. Pharmacologically-Induced Neurovascular Uncoupling is Associated with Cognitive Impairment in Mice. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 35, 1871–1881. doi:10.1038/jcbfm.2015.162
- Teyler, T.J., DiScenna, P., 1986. The hippocampal memory indexing theory. *Behav. Neurosci.* 100, 147–154.
- Tham, D.M., Martin-McNulty, B., Wang, Y., Wilson, D.W., Vergona, R., Sullivan, M.E., Dole, W., Rutledge, J.C., 2002. Angiotensin II is associated with activation of NF-kappaB-mediated genes and downregulation of PPARs. *Physiol. Genomics* 11, 21–30. doi:10.1152/physiolgenomics.00062.2002

- Tian, N., Moore, R.S., Braddy, S., Rose, R.A., Gu, J.-W., Hughson, M.D., Manning, R.D., 2007. Interactions between oxidative stress and inflammation in salt-sensitive hypertension. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 293, H3388-3395. doi:10.1152/ajpheart.00981.2007
- Tota, S., Goel, R., Pachauri, S.D., Rajasekar, N., Najmi, A.K., Hanif, K., Nath, C., 2013. Effect of angiotensin II on spatial memory, cerebral blood flow, cholinergic neurotransmission, and brain derived neurotrophic factor in rats. *Psychopharmacology (Berl.)* 226, 357–369. doi:10.1007/s00213-012-2913-8
- Traub, Y.M., Shapiro, A.P., Dujovny, M., Nelson, D., 1982. Cerebral blood flow changes with diuretic therapy in elderly subjects with systolic hypertension. *Clin. Exp. Hypertens. A.* 4, 1193–1201.
- Tzourio, C., Dufouil, C., Ducimetière, P., Alpérovitch, A., 1999. Cognitive decline in individuals with high blood pressure: a longitudinal study in the elderly. EVA Study Group. *Epidemiology of Vascular Aging. Neurology* 53, 1948–1952.
- Uversky, V.N., Dunker, A.K., 2013. The case for intrinsically disordered proteins playing contributory roles in molecular recognition without a stable 3D structure. *F1000 Biol. Rep.* 5, 1. doi:10.3410/B5-1
- Vermeij, A., Kessels, R.P.C., Heskamp, L., Simons, E.M.F., Dautzenberg, P.L.J., Claassen, J.A.H.R., 2016. Prefrontal activation may predict working-memory training gain in normal aging and mild cognitive impairment. *Brain Imaging Behav.* doi:10.1007/s11682-016-9508-7
- Vicenzini, E., Ricciardi, M.C., Altieri, M., Puccinelli, F., Bonaffini, N., Di Piero, V., Lenzi, G.L., 2007. Cerebrovascular reactivity in degenerative and vascular dementia: a transcranial Doppler study. *Eur. Neurol.* 58, 84–89. doi:10.1159/000103642
- Villela, D.C., Passos-Silva, D.G., Santos, R.A.S., 2014. Alamandine: a new member of the angiotensin family. *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* 23, 130–134. doi:10.1097/01.mnh.0000441052.44406.92
- Vorhees, C.V., Williams, M.T., 2006. Morris water maze: procedures for assessing spatial and related forms of learning and memory. *Nat. Protoc.* 1, 848–858. doi:10.1038/nprot.2006.116
- Vytal, K.E., Cornwell, B.R., Letkiewicz, A.M., Arkin, N.E., Grillon, C., 2013. The complex interaction between anxiety and cognition: insight from spatial and verbal working memory. *Front. Hum. Neurosci.* 7. doi:10.3389/fnhum.2013.00093
- Walsh, D.M., Klyubin, I., Fadeeva, J.V., Cullen, W.K., Anwyl, R., Wolfe, M.S., Rowan, M.J., Selkoe, D.J., 2002. Naturally secreted oligomers of amyloid beta protein potently inhibit hippocampal long-term potentiation in vivo. *Nature* 416, 535–539. doi:10.1038/416535a
- Wang, G., Anrather, J., Glass, M.J., Tarsitano, M.J., Zhou, P., Frys, K.A., Pickel, V.M., Iadecola, C., 2006. Nox2, Ca<sup>2+</sup>, and protein kinase C play a role in angiotensin II-induced free radical production in nucleus tractus solitarius. *Hypertens. Dallas Tex* 1979 48, 482–489. doi:10.1161/01.HYP.0000236647.55200.07
- Wang, P., Wu, P., Siegel, M.I., Egan, R.W., Billah, M.M., 1995. Interleukin (IL)-10 inhibits nuclear factor kappa B (NF kappa B) activation in human monocytes. IL-10 and IL-4 suppress cytokine synthesis by different mechanisms. *J. Biol. Chem.* 270, 9558–9563.
- Watanabe, T., Barker, T.A., Berk, B.C., 2005. Angiotensin II and the Endothelium. *Hypertension* 45, 163–169. doi:10.1161/01.HYP.0000153321.13792.b9
- Wattanapitayakul, S.K., Weinstein, D.M., Holycross, B.J., Bauer, J.A., 2000. Endothelial dysfunction and peroxynitrite formation are early events in angiotensin-induced cardiovascular disorders. *FASEB J. Off. Publ. Fed. Am. Soc. Exp. Biol.* 14, 271–278.
- Wei, T.-M., Wang, L., 2006. Anxiety symptoms in patients with hypertension: a community-based study. *Int. J. Psychiatry Med.* 36, 315–322.

- Weissman, B.A., Jones, C.L., Liu, Q., Gross, S.S., 2002. Activation and inactivation of neuronal nitric oxide synthase: characterization of Ca(2+)-dependent [125I]Calmodulin binding. *Eur. J. Pharmacol.* 435, 9–18.
- Wiltfang, J., Esselmann, H., Bibl, M., Hüll, M., Hampel, H., Kessler, H., Frölich, L., Schröder, J., Peters, O., Jessen, F., Luckhaus, C., Perneczky, R., Jahn, H., Fiszer, M., Maler, J.M., Zimmermann, R., Bruckmoser, R., Kornhuber, J., Lewczuk, P., 2007. Amyloid beta peptide ratio 42/40 but not A beta 42 correlates with phospho-Tau in patients with low- and high-CSF A beta 40 load. *J. Neurochem.* 101, 1053–1059. doi:10.1111/j.1471-4159.2006.04404.x
- Wölfle, S.E., Chaston, D.J., Goto, K., Sandow, S.L., Edwards, F.R., Hill, C.E., 2011. Non-linear relationship between hyperpolarisation and relaxation enables long distance propagation of vasodilatation. *J. Physiol.* 589, 2607–2623. doi:10.1113/jphysiol.2010.202580
- Yano, Y., Ning, H., Allen, N., Reis, J.P., Launer, L.J., Liu, K., Yaffe, K., Greenland, P., Lloyd-Jones, D.M., 2014. Long-Term Blood Pressure Variability Throughout Young Adulthood and Cognitive Function in Midlife The Coronary Artery Risk Development in Young Adults (CARDIA) Study. *Hypertension* 64, 983–988. doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.114.03978
- Yilmaz, S., Pekdemir, M., Tural, U., Uygun, M., 2011. Comparison of alprazolam versus captopril in high blood pressure: a randomized controlled trial. *Blood Press.* 20, 239–243. doi:10.3109/08037051.2011.553934
- Zekry, D., Hauw, J.-J., Gold, G., 2002. Mixed dementia: epidemiology, diagnosis, and treatment. *J. Am. Geriatr. Soc.* 50, 1431–1438.
- Zheng, Y., Rudensky, A.Y., 2007. Foxp3 in control of the regulatory T cell lineage. *Nat. Immunol.* 8, 457–462. doi:10.1038/ni1455
- Zhu, D., Shi, J., Zhang, Y., Wang, B., Liu, W., Chen, Z., Tong, Q., 2011. Central angiotensin II stimulation promotes  $\beta$  amyloid production in Sprague Dawley rats. *PLoS One* 6, e16037. doi:10.1371/journal.pone.0016037
- Zimmerman, M.C., Lazartigues, E., Lang, J.A., Sinnayah, P., Ahmad, I.M., Spitz, D.R., Davisson, R.L., 2002. Superoxide mediates the actions of angiotensin II in the central nervous system. *Circ. Res.* 91, 1038–1045.
- Zimmerman, M.C., Lazartigues, E., Sharma, R.V., Davisson, R.L., 2004. Hypertension caused by angiotensin II infusion involves increased superoxide production in the central nervous system. *Circ. Res.* 95, 210–216. doi:10.1161/01.RES.0000135483.12297.e4

## Figure legends

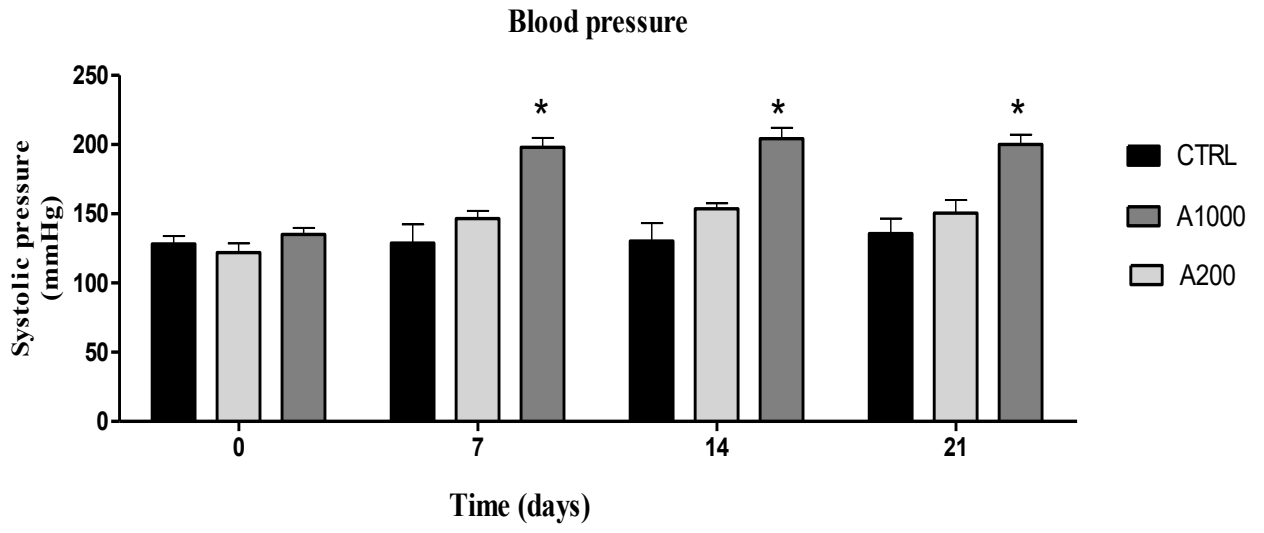
**Fig. 1** Systolic blood pressure. Two-way Anova, Bonneferoni posttest. \* $p < 0.05$  vs ctrl. Bars show mean  $\pm$ SD, n = 6-10.

**Fig. 2.** ELISA for soluble and insoluble formic acid extracted  $A\beta_{40}$  and  $A\beta_{42}$  in homogenates from the hippocampus and cortex. Data are expressed in mole of  $A\beta$  per gram of protein. Angiotensin II increases soluble  $A\beta_{40}$  and  $A\beta_{42}$  in the cortex of hypertensive mice.  $A\beta_{40}$  is also increased in the cortex of mice perfused with subpressive angiotensin II. Angiotensin II does not change insoluble  $A\beta$ .

**Fig. 3a.** Fluorescence of Fluoro-Jade B staining in mice perfused 21 days with pressive (A1000) and subpressive (A200) doses of angiotensin II. Values are mean  $\pm$  SD; n=5. **Fig. 3b.** Synaptophysin-2 immunostaining intensity in the hippocampus and cortex regions of mice perfused 21 days with angiotensin II. Hippocampus CA1 lacunosum molecular (CA1-slm), CA3 stratum radiatum (CA3-rad), dentate gyrus polymorph layer (DG-po) frontal associative cortex (FrA) and somatosensory cortex (CSS). Values are mean  $\pm$  SD. One-way ANOVA with Dunnett's post-test; \* $p < 0.05$ , +  $p = 0.0638$ ; n=8-10.

# Figures

## Figure 1



**Figure 2**

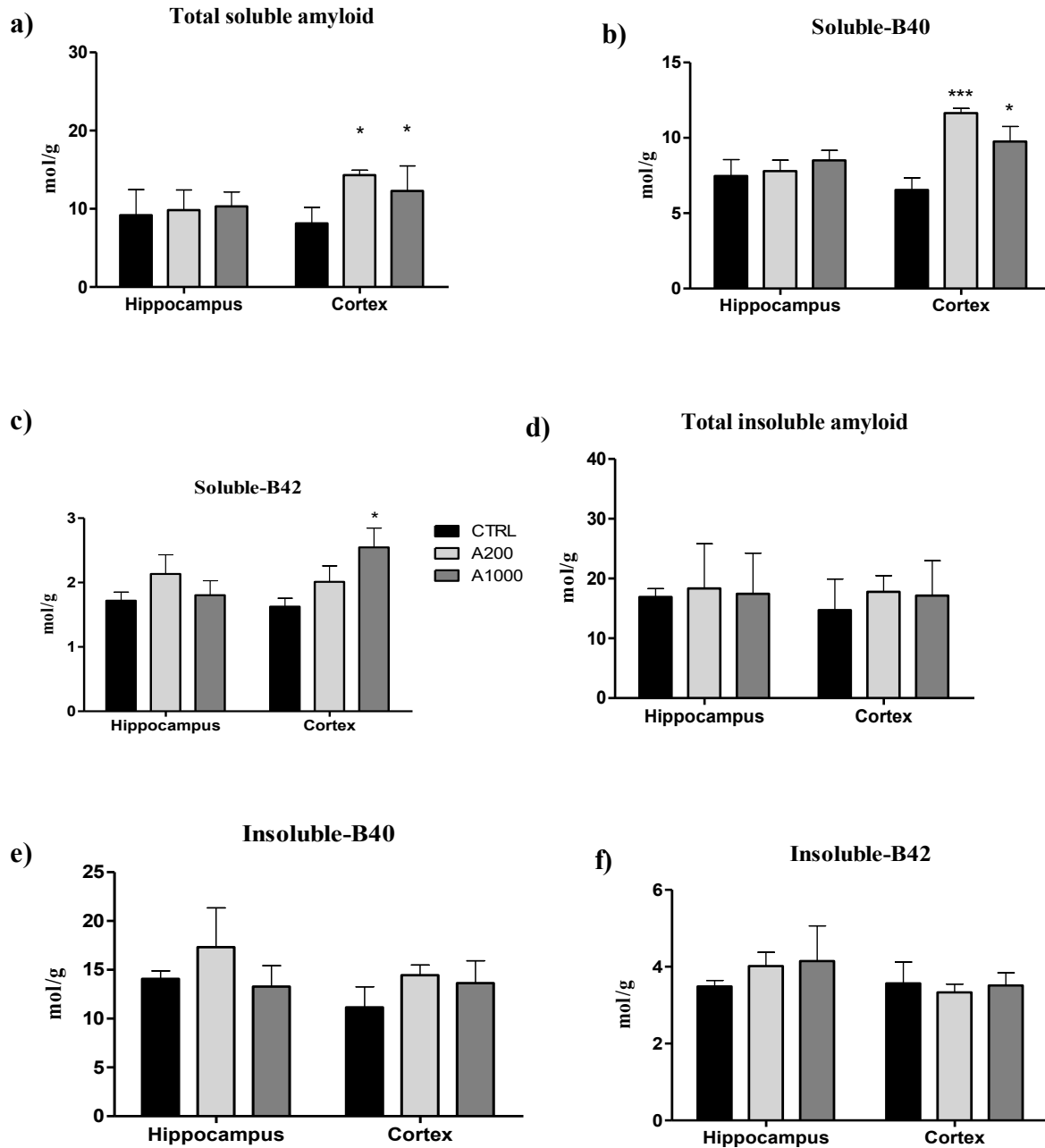
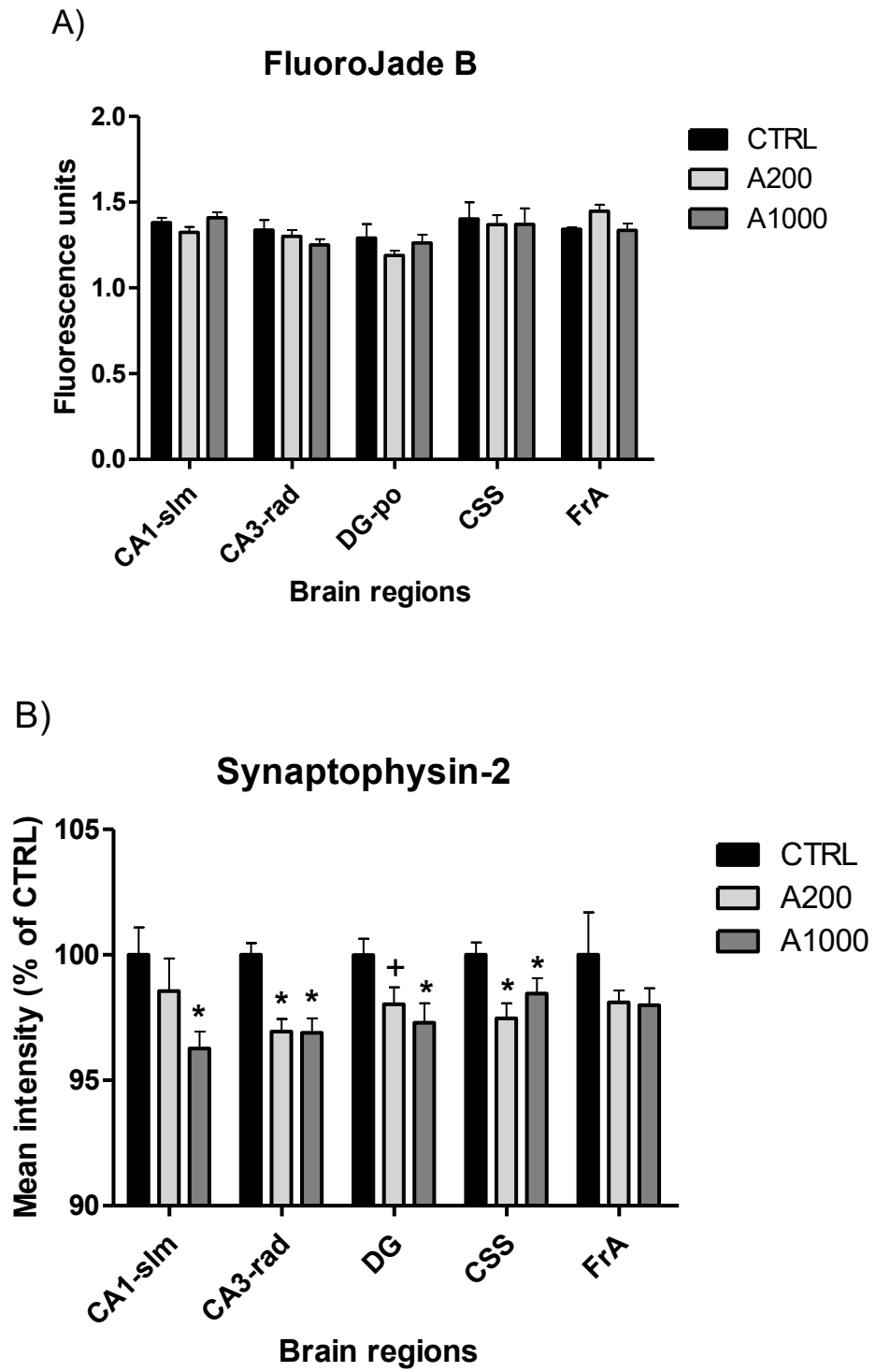


Figure 3





## **Résumé de l'étude 3 (non-publiée)**

### **Les lymphocytes T régulateurs rétablissent le couplage neurovasculaire dans un modèle d'hypertension induit par l'angiotensine II**

**Par**

S. Duchemin, T. Barhoumi, D. Vallerand, P. Paradis, S. Lesage, E. Schiffrin and H. Girouard

L'angiotensine (ang) II, une protéine centrale dans la régulation de la pression artérielle, est impliquée dans le développement de l'inflammation vasculaire ainsi que dans les dysfonctions cérébrovasculaires pouvant ainsi compromettre l'homéostasie cérébrale. Un déséquilibre au niveau des différents sous-types de lymphocytes T, tel que les lymphocytes T effecteur (Th) et les lymphocytes T régulateurs (Treg) ont été mis en cause dans le développement de l'inflammation vasculaire et de l'hypertension artérielle. Les Th jouent un rôle dans le développement de l'hypertension et de l'inflammation vasculaire, alors que les Treg, et plus particulièrement les Treg produisant de l'interleukine-10 (IL-10), renverseraient les dysfonctions endothéliales induites par l'Ang II. Dans cette étude, notre objectif est d'explorer les effets des lymphocytes T et de l'IL-10, sur les fonctions cérébrovasculaires, dans un modèle de souris hypertendues. Chez des souris C57BL6, perfusées 14 jours avec de l'Ang II (1000 ng/kg/min) ou avec du salin, nous avons injecté soit des Treg, des Th, des Treg provenant de souris dont le gène codant pour l'IL-10 est invalidé ou de PBS par voie caudale. Dans d'autres groupes de souris, du PBS ou de l'IL-10 ont été perfusés par le biais d'une pompe osmotique. Le couplage neurovasculaire (CNV) et les réponses dépendantes et indépendantes de l'endothélium ont été mesurées *in vivo* par laser Doppler. Chez les souris non-perfusées à l'Ang II, les Th et les Treg IL-10<sup>-/-</sup> ont causé une dysfonction du CNV et diminué l'amplitude de la réponse endothéliale. Alors que chez les souris perfusées à l'Ang II, le traitement de Treg a rétabli les réponses endothéliales et du CNV diminuées par l'Ang II et la perfusion d'IL-10 a

rétabli le CNV. La réponse au SNP, indépendante de l'endothélium n'est pas modifiée par l'Ang II, cependant nous avons constaté que cette réponse est augmentée en présence de Treg, chez les souris perfusées ou non. Ces résultats montrent pour la première fois l'implication du système immunitaire dans la régulation du CNV. Nous avons démontré que les Treg et l'IL-10 rétablissent le CNV chez les souris perfusées à l'Ang II et que les Th l'altère avec ou sans ang II.

### **Contributions**

L'implantation des pompes a été effectuée par Sonia Duchemin. L'isolation et l'injection des cellules a été réalisé par Tlili Barhoumi. Les chirurgies pour les mesures Doppler, prises de pressions, analyses, statistiques et graphiques, ainsi que la rédaction de l'article ont été faites par Sonia Duchemin. La correction de l'article a été faite par Dre Girouard.

## Étude 3

# IL-10 producing T lymphocytes restore angiotensin II induced neurovascular impairment

S. Duchemin <sup>a</sup>, T. Barhoumi <sup>b</sup>, D. Vallerand <sup>a</sup>, P. Paradis <sup>b</sup>, E. Schiffrin <sup>b</sup> and H. Girouard <sup>a</sup>

Duchemin *et al* : Angiotensin II, IL-10, T regulatory lymphocyte

<sup>a</sup> Department of Pharmacology, Université de Montréal, Montréal, Canada

<sup>b</sup> Lady Davis Institute for Medical Research, Sir Mortimer B. Davis-Jewish General Hospital, McGill University, Montreal, Quebec, Canada.

**Keywords:** Angiotensin II, IL-10, T regulatory lymphocyte

## **Abstract**

Angiotensin II (ang II), involved in blood pressure regulation, increases inflammation and down regulates the cerebrovascular functions, which may consequently compromise cerebral homeostasis. An imbalance between different subset of T lymphocytes such as T helper (Th) and T regulatory lymphocytes (Treg) were recognised to be involved in ang II effects on blood pressure and vascular inflammation. Th were proven to play a role in the development of hypertension and vascular inflammation and Treg, particularly IL-10 producing Treg, was shown to be effective in reversing ang II-induced endothelial dysfunctions in mesenteric arteries. In this study, we aim to explore the effect of T lymphocytes and IL-10 on cerebrovascular functions.

In C57BL6 mice, perfused 14 days with ang II (1000 ng/kg/min) or with its vehicle, we injected either Treg cells, Th cells, Treg cells from IL-10 knock out mice or PBS injected in the tail vein. In another group of mice, PBS or IL-10 were perfused using an osmotic pump. Neurovascular coupling (NVC) as well as endothelial-dependent and independent functions were measured *in vivo* by laser-Doppler flowmetry.

In mice unperfused with ang II, our results showed that Th and Treg IL-10<sup>-/-</sup> cells impaired NVC and lowered the endothelial response. While, in ang II-perfused mice, in which the endothelial and NVC responses are impaired, Treg restored both responses. IL-10, however only restored NVC. Furthermore, Treg from wild type and IL-10<sup>-/-</sup> mice increased the response to SNP in ang II-perfused mice.

Our results show for the first time that the adaptive immune system modulates NVC, Treg and IL-10 being able to restore this response in Ang II-perfused mice and Th to decrease this same response in an otherwise healthy individual.

## Introduction

One third of the occidental population suffers from arterial hypertension (Rahimi et al., 2015) which can be secondary to an underlying pathology or be idiopathic, in which case there is no identifiable cause, this form represents the majority of the hypertensive population. This condition is described as a chronic low-grade vascular inflammation and consists of an increase in blood pressure, vascular remodeling and endothelial dysfunctions (Faraci, 2011).

A hallmark of vascular inflammation is an infiltration of macrophages and leukocytes into vascular walls. This process could be modulated by T lymphocytes and induced by angiotensin II (ang II), the main effector of the renin-angiotensin system (RAS), involved in blood pressure regulation (Barhoumi et al., 2011; Caillon and Schiffrin, 2016). This mechanism was thus suspected to participate in the pathogenesis of hypertension. Indeed, as demonstrated by Guzik et al, Rag1<sup>-/-</sup> DOCA-salt or Ang II-perfused mice, which does not express B and T lymphocytes, are protected against hypertension and this response is restored by adoptive transfer of T cells (Guzik et al., 2007).

Ang II in the circulation binds to AT1 receptors on the smooth muscle cells to induce a vasoconstriction or to the endothelium to attenuate vasodilation, but also vascular remodeling through an increase in NADPH activity, adhesion molecule expression and the upregulation of pro-inflammatory cytokines. In addition to the circulatory system, most tissues and cells possess the endogenous machinery to produce ang II including T lymphocytes (Hoch et al., 2009) in which the expression of AT1 receptor increase when activated compared to naïve cells (Silva-Filho et al., 2013). The involvement of T lymphocytes in the pathophysiology of hypertension requires AT1 receptors and the NADPH oxidase subunit p47<sup>phox</sup>. Indeed, in Rag1<sup>-/-</sup> mice, adoptive transfer of T cells from mice deficient in one of these two components partially blunted the ang II –induced hypertension (Guzik et al., 2007).

Naïve CD4<sup>+</sup> T cells differentiate into two main subtypes: pro-inflammatory T helper (Th1, Th2, Th17) and regulatory T lymphocytes (Treg) which act to suppress cellular immune responses. T helper (Th) cells are involved in the pathophysiology of hypertension and vascular inflammation while Treg prevents the vascular inflammation, macrophage infiltration and adhesion molecule expression induced by ang II in mesenteric arteries (Barhoumi et al., 2011). Treg are naturally induced by antigens and are characterized by the expression of the X-linked

forkhead/winged helix transcription factor (Foxp3). They suppress the autoimmune response through the regulation of other lymphocytes, macrophages and dendritic cells. Their action on Th cells can be mediated by a direct cell-cell interaction, granzyme-perforin secretion or through the liberation of anti-inflammatory cytokine such as IL-10 (Akdis, 2009). Recent studies demonstrated that an ang II-mediated vascular dysfunction and oxidative stress can be prevented by IL-10 producing Treg and its ability to inhibit NADPH oxidase in endothelial cells (Didion et al., 2009) (Kassan et al., 2011). Hence IL-10 pathway would contribute to the prevention of the vascular impairment seen in hypertension.

Ang II-induced vascular inflammation may also impair cerebrovascular functions. Upon neuronal activation, an increase in cerebral blood flow ensures an adequate oxygen supply to maintain neuronal activity. This process, called neurovascular coupling (NVC), is attenuated in perfused mice with pressive and subpressive doses of ang II (Kazama et al., 2004) (Capone et al., 2011).

However, no studies were done so far on the influence of T lymphocytes on cerebrovascular functions. In this study, we wanted to explore the effect of the two subtypes of T lymphocytes, Th and Treg, on cerebrovascular functions. As well as their involvement in ang II-induced cerebrovascular dysfunctions. To this end, we determined whether Treg and Th adoptive transfer modulates the NVC and cerebrovascular response in normotensive and Ang II-induced hypertensive mice. In addition, we sought to investigate whether IL-10 producing Treg mediates the effect of Treg cells using IL-10 perfusion and Treg IL-10<sup>-/-</sup>.

## **Methods**

### ***Animals***

All procedures were approved by the committee on the Ethics of Animal Experiments of the Université de Montréal and were performed in accordance with the principles outlined by the Canadian Council on Animal Care. Eight to ten weeks-old C57BL/6 (Harlan Laboratories) male mice were housed individually in a 12:12 light dark cycle and had access to food and water *ad libitum*.

### ***Cell isolation and adoptive transfer***

T lymphocytes were isolated from 2 spleens of 8 to 10 weeks old male C57BL/6 or IL-10<sup>-/-</sup> mice using the EasySep Mouse CD4<sub>+</sub> T Cell Pre-Enrichment and CD25 Positive Selection kits

(Stem Cell Technologies) as previously described by Barhoumi *et al* 2011. Purity of Treg cells was verified by flow cytometry by first blocking with Fc-Block (BD Biosciences) for 30 minutes at 4°C, followed by staining with anti-CD4 APC-conjugated (RM4-5) and anti-CD25 PE-conjugated (3C7) antibodies (BD Biosciences) for 1 hour at 4°C. Cells were washed, resuspended, and analyzed using FACSCalibur flow cytometer (BD Bioscience) and FCS Express V3 software (De Novo Software). To perform adoptive transfer, mice were placed under a heat lamp to increase blood flow to the tail vein and then transferred to a holding device (AIMS restrainer). The lateral tail veins were identified and 100 µL of PBS or  $3 \times 10^5$  cells injected using a 0.5-mL syringe with a 26-gauge needle. Approximately 2 spleen were used for 3 Treg and 3 Teff injections.

### ***In vivo surgery***

Anaesthesia was initiated by 5% isoflurane-oxygen and maintained by intraperitoneal injections of alpha-chloralose (50 mg/kg) and urethane (750 mg/kg). A cannula was inserted into the femoral artery to monitor blood pressure and blood gas. Ventilation was maintained artificially through a tracheal intubation and body temperature was maintained at 37 degrees. Cerebral blood flow was monitored by a laser Doppler probe placed in a 2x2 mm window drilled above the somatosensory cortex. Artificial cerebrospinal fluid (aCSF) was superfused (0.5 mL/min) after the removal of the pia matter. The blood gases were measured at the beginning and at the end of the experiment. The experiment began 30 minutes after the end of the surgery to allow the blood gas to stabilise. Animals with a mean arterial blood pressure under 60 mmHg and blood gas outside normal range (PH: 7,35-7,40; PCO<sub>2</sub>: 33-41; PO<sub>2</sub>: 110-140) were eliminated from the study.

### ***Protocol***

Mice either received two intra-venous injections of 300 000 cells of CD4<sup>+</sup> CD25<sup>-</sup> (Th), CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> (Treg), Treg IL-10<sup>-/-</sup> or PBS. The first injection was done 7 days before the Ang II pump implantation and, the second one, the day following the implantation of the osmotic pump (Alzet model 1002) containing 1000 ng/kg/mn of Ang II (angiotensin II acetate; Sigma) or had a sham surgery. Osmotic pumps were implanted subcutaneously under isoflurane anesthesia as previously described (Duchemin 2013). Each osmotic pump (Alzet model 1004) delivered 0.24 ul/hour for 14 days. The animals treated with IL-10 had two pumps implanted the same day, one filled with Ang II 1000 ng/kg/min and the other with 1000 ng of IL-10 (Sigma #SRP3071).

Blood pressure was taken by non-invasive tail-cuff plethysmography (Kent scientific Co.) 24 hours before surgery. A minimum of 20 acclimation cycles were done, followed by ten measurements to get an accurate average. Data were not considered valid by the software if the blood flow was insufficient in the tail or if the overall shape of the trace did not fit the expected profile.

### ***Experimental protocol***

The probe was placed above the whisker barrel area and the experiments begun by three 60 second whiskers stimulations at 6HZ every 3 minutes to measure the neurovascular coupling response. We measured the endothelium-dependant response using acetylcholine (Ach) 20mM. This method was previously used by William Rosenblum in 1985 where he demonstrated that a superfusion of Ach does not cause a vasodilatation of the pial arteries if the endothelium is damaged. The endothelium-independent response was measured using sodium nitroprussiate (SNP) 10mM, a nitric oxide donor. Both drugs were superfused for 5 minutes followed by a 15 minutes aCSF superfusion to restore basal stimulation level. The percentage increase was measured using the CBF value before the stimulation and the maximum response.

### ***Data analysis and statistics***

Data are expressed as mean  $\pm$  SD and analysed with GraphPad Prism 5 software. Two-way ANOVA was used for paired data with Bonferroni analysis for multiple comparisons. One-way ANOVA with Tukey's *post hoc* test was used for unpaired data. A  $p < 0.05$  was considered as statistically significant.

## **Results**

### ***Th cells alters the NVC***

In mice not receiving Ang II (Fig.1a), Th cells injections significantly decreased the CBF response to whiskers stimulations (One-way ANOVA, Tukey's multiple comparison test;  $**p < 0.001$  vs PBS; n=6-10) and to the endothelium dependent vasodilator (Fig. 1b), Ach (One-way ANOVA, Tukey's multiple comparison test;  $p = 0.067$ ; n=4-6) without having any effect on the endothelium-independent response to SNP (Fig. 1c) (n=4-7). Treg injections did not modulate the CBF in these experimental conditions (Fig. 1abcd). These effects did not correlate with changes in blood pressure as neither Th nor Treg modified blood pressure (Fig. 1d). (One-way ANOVA, Bonferroni multiple comparison test;  $*p < 0.05$  vs PBS; n=6-7).



### ***Treg restored the NVC and the endothelium-dependant response in ang II-perfused mice***

In ang II-perfused mice, CBF responses to whiskers stimulations (Fig. 2a) and to Ach (Fig. 2b) were drastically attenuated as previously described (One-way ANOVA, Tukey's multiple comparison test;  $**p < 0.005$  vs PBS,  $\#p < 0.05$  vs Ang II;  $n = 7-9$ .) (Kazama et al., 2004; Girouard et al., 2006; Capone et al., 2011). Treg injections normalized the impaired NVC (Fig. 2a) and endothelium-dependent response (Fig. 2b) (One-way ANOVA, Tukey's multiple comparison test;  $*p < 0.05$  vs PBS,  $\#p < 0.05$  vs Ang II;  $n = 4-6$ ). Interestingly, Treg augmented the endothelium-independent response to SNP above the control level in ang II-perfused mice only (Fig. 2c) (One-way ANOVA, Tukey's multiple comparison test;  $\#p < 0.05$  vs Ang II;  $n = 4-8$ ). It did not restore the ang II damages on either cerebrovascular functions (Fig. 2abc).

### ***The angiotensin II-induced endothelium-dependant impairment is restored by a Treg treatment***

Previous studies demonstrated that the anti-inflammatory cytokine IL-10 produced by Treg play a key role in regulating microvascular endothelial function in ang II-induced hypertension (Kassan et al., 2011). To better understand how Treg re-establish the cerebrovascular functions we isolated and injected Treg from IL-10<sup>-/-</sup> mice which did not produce IL-10. In ang II-perfused mice, Treg IL-10<sup>-/-</sup> did not restore NVC nor the endothelial response (Fig. 3ab) (Two-ways ANOVA, Tukey's multiple comparison test;  $*p < 0.05$  vs PBS;  $n = 5-9$ ). However, in unperfused mice, Treg IL-10<sup>-/-</sup> impaired NVC and lowered the endothelial response similarly to Th injections (Fig. 3ab) (Two-ways ANOVA, Tukey's multiple comparison test;  $*p < 0.05$  vs PBS;  $n = 5-9$ ). Nonetheless, Treg IL-10<sup>-/-</sup> increased the endothelium-independent response above the control level, in the same way than its wild type counterpart (Fig. 3c) (Two-ways ANOVA, Tukey's multiple comparison test;  $\#p < 0.05$  vs Ang II: Treg IL-10<sup>-/-</sup>;  $n = 5-8$ ).

### ***IL-10 restored the NVC response***

To identify if IL-10 can be a key component in the cerebrovascular functions improvements seen with Treg, we perfused IL-10 and ang II simultaneously. The data showed that IL-10 restored the NVC response in ang II-perfused mice (Fig. 4a) (One-way ANOVA, Tukey's multiple comparison test;  $***p < 0.001$  vs PBS,  $\#\#p < 0.05$  vs Ang II;  $n = 5-9$ ). However, the endothelium-dependent response did not return to control level with IL-10 (Fig. 4b) (One-way ANOVA, Tukey's multiple comparison test;  $***p < 0.001$  vs PBS;  $n = 4-6$ ). The endothelium-

independent response did not change between groups (Fig. 4c). IL-10 in unperfused mice did not change either response compared to control (data not shown).

### ***NVC impairment does not depend on blood pressure***

None of the above results were correlated to blood pressure changes between groups. Blood pressure, measured the day prior to surgery, was not altered by T cells injections or by IL-10. The mean systolic blood pressure remained elevated in all groups receiving ang II, regardless of the protocol (Fig. 1d, 2d, 3d, 4d).

## **Discussion**

Our results show for the first time that the adaptive immune system modulate cerebrovascular functions. While Th cells, and specifically ang II-activated Th, infiltration impairs the vascular response in periphery (Guzik et al., 2007), our data reveals that in cerebral arteries these cells weaken the NVC in mice perfused or not with ang II. However, these cells will only meaningfully impair the endothelial response when activated by ang II.

Therefore, a mean to control ang II-induced inflammation would be to use Treg which regulates Th proliferation and differentiation. This hypothesis was previously tested on mesenteric arteries using an adoptive transfer of Treg in wild type mice and were proven to reverse the damaging effect of ang II on the endothelium (Barhoumi et al., 2011). Yet, the consequence of such treatment on the complex relationship between components of the neurovascular unit was never studied. Our study confirms that the ang II-induced endothelium impairment is restored by Treg in the brain as well. Furthermore, we demonstrate that Treg similarly restored the NVC response altered by ang II.

Treg produce two main anti-inflammatory cytokines: IL-10 and TGF-beta. IL-10 signaling in Treg is required to suppress the Th cell-mediated inflammatory response (Chaudhry et al., 2011). Hence, we looked at the possible involvement of IL-10 in the remission of the cerebrovascular impairments induced by ang II using Treg IL-10  $-/-$ . This protocol did not restore the NVC or the endothelium impairment in ang II-perfused mice. This result may indicate that Treg are required to produce IL-10 to restore cerebrovascular functions as previously described (Kassan et al., 2011).

However, the injection of these same cells in unperfused mice impaired the NVC and decreased the endothelial response in the same way than the Th cells. Similarly, to Th cells, Treg IL-10  $-/-$

requires Ang II to significantly impair the endothelial response. This result may implicate that Treg IL-10  $-/-$  are being modified to differentiate into Th cells in the absence of IL-10. Essentially, CD4<sup>+</sup> naïve cells can differentiate into Th17 cells or Treg cells depending on the cytokine stimuli available in their environment. Ang II promotes a pro-inflammatory rich environment as it increases the expression of IL-6 and TNF-alpha. In the presence of IL-6 and TGF-beta, CD4<sup>+</sup> naïve cells will differentiate into Th17 and inhibit TGF-beta-induced Treg differentiation (Kimura and Kishimoto, 2010). Therefore, without the possibility to produce IL-10, Treg will only produce TGF-beta and prioritise Th17 development in the presence of Ang II.

IL-10 perfusion restored the impaired NVC in ang II-perfused mice, yet did not improve the endothelial response. The fact that NVC is impaired by ang II and Th cells, an environment rich in IL-6 and TNF-alpha, and that it is restored by IL-10 which inhibit IL-6 and TNF-alpha (Groux et al., 1997), suggest that the NVC function is highly sensitive to pro-inflammatory cytokines. This happen independently of the effect on the endothelial response which seems to be much more resilient to these cytokines.

It has been widely accepted that the NVC impairment induced by ang II is induced by the increased NADPH activity and superoxide production. Additional experiments will be required to further understand how Th cells impairs NVC. However, it is possible that Th cells lead to an inflammation in the brain by infiltrating the parenchyma and releasing pro-inflammatory cytokines. This cascade of event would impair the neurovascular homeostasis. These results strongly suggest that the immune system can modulate the NVC in hypertension.

## Source of funding

This study was supported by funds from the Canadian Institutes in Health Research (CIHR), the ‘Fonds de Recherche en Santé du Québec’ (FRSQ) and the Canada Foundation for Innovation (CFI) to H el ene Girouard. H el ene Girouard was the holder of an operating grant from and a new investigator award from the FRSQ and the Heart and Stroke Foundation of Canada (HSFC).

**Conflicts of Interest / Disclosures:** None

## References

- Abramov, E., Dolev, I., Fogel, H., Ciccotosto, G.D., Ruff, E., Slutsky, I., 2009. Amyloid-beta as a positive endogenous regulator of release probability at hippocampal synapses. *Nat. Neurosci.* 12, 1567–1576. doi:10.1038/nn.2433
- Akdis, C.A., 2009. T cells in health and disease. *J. Allergy Clin. Immunol.* 123, 1022–1023. doi:10.1016/j.jaci.2009.03.034
- Albert, M.S., DeKosky, S.T., Dickson, D., Dubois, B., Feldman, H.H., Fox, N.C., Gamst, A., Holtzman, D.M., Jagust, W.J., Petersen, R.C., Snyder, P.J., Carrillo, M.C., Thies, B., Phelps, C.H., 2011. The diagnosis of mild cognitive impairment due to Alzheimer’s disease: Recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer’s Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer’s disease. *Alzheimers Dement. J. Alzheimers Assoc.* 7, 270–279. doi:10.1016/j.jalz.2011.03.008
- Allen, A.M., Zhuo, J., Mendelsohn, F.A.O., 2000. Localization and function of angiotensin AT1 receptors. *Am. J. Hypertens.* 13, S31–S38. doi:10.1016/S0895-7061(99)00249-6
- Andresen, J., Shafi, N.I., Bryan, R.M., 2006. Endothelial influences on cerebrovascular tone. *J. Appl. Physiol.* 100, 318–327. doi:10.1152/jappphysiol.00937.2005
- Atkinson, R.C., Shiffrin, R.M., 1971. The control of short-term memory. *Sci. Am.* 225, 82–90.
- Baecher-Allan, C., Viglietta, V., Hafler, D.A., 2002. Inhibition of human CD4(+)CD25(+high) regulatory T cell function. *J. Immunol. Baltim. Md 1950* 169, 6210–6217.
- Barhoumi, T., Kasal, D.A., Li, M.W., Shbat, L., Laurant, P., Neves, M.F., Paradis, P., Schiffrin, E.L., 2011. T regulatory lymphocytes prevent angiotensin II-induced hypertension and vascular injury. *Hypertension* 57, 469–476. doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.110.162941
- Bateman, R.J., Munsell, L.Y., Morris, J.C., Swarm, R., Yarasheski, K.E., Holtzman, D.M., 2006. Human amyloid-beta synthesis and clearance rates as measured in cerebrospinal fluid in vivo. *Nat. Med.* 12, 856–861. doi:10.1038/nm1438
- Baumbach, G.L., Heistad, D.D., 1989. Remodeling of cerebral arterioles in chronic hypertension. *Hypertension* 13, 968–972.
- Ben-Ari, E.T., Garrison, J.C., 1988. Regulation of angiotensinogen mRNA accumulation in rat hepatocytes. *Am. J. Physiol.* 255, E70-79.
- Bild, W., Hritcu, L., Stefanescu, C., Ciobica, A., 2013. Inhibition of central angiotensin II enhances memory function and reduces oxidative stress status in rat hippocampus. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 43, 79–88. doi:10.1016/j.pnpbp.2012.12.009

- Bitan, G., Kirkitadze, M.D., Lomakin, A., Vollers, S.S., Benedek, G.B., Teplow, D.B., 2003. Amyloid beta -protein (A $\beta$ ) assembly: A $\beta$  40 and A $\beta$  42 oligomerize through distinct pathways. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 100, 330–335. doi:10.1073/pnas.222681699
- Bloch, S., Obari, D., Girouard, H., 2015. Angiotensin and neurovascular coupling: beyond hypertension. *Microcirculation* n/a-n/a. doi:10.1111/micc.12193
- Bodiga, V.L., Bodiga, S., 2013. Renin Angiotensin System in Cognitive Function and Dementia. *Asian J. Neurosci.* 2013. doi:10.1155/2013/102602
- Bohlen, H.G., 1989. The microcirculation in hypertension. *J. Hypertens. Suppl. Off. J. Int. Soc. Hypertens.* 7, S117-124.
- Bonder, D.E., McCarthy, K.D., 2014. Astrocytic Gq-GPCR-Linked IP3R-Dependent Ca<sup>2+</sup> Signaling Does Not Mediate Neurovascular Coupling in Mouse Visual Cortex In Vivo. *J. Neurosci.* 34, 13139–13150. doi:10.1523/JNEUROSCI.2591-14.2014
- Booth, J., 1977. A short history of blood pressure measurement. *Proc. R. Soc. Med.* 70, 793–799.
- Braak, H., Braak, E., 1991. Neuropathological staging of Alzheimer-related changes. *Acta Neuropathol. (Berl.)* 82, 239–259.
- Breitve, M.H., Hynninen, M.J., Brønneck, K., Chwiszczuk, L.J., Auestad, B.H., Aarsland, D., Rongve, A., 2016. A longitudinal study of anxiety and cognitive decline in dementia with Lewy bodies and Alzheimer's disease. *Alzheimers Res. Ther.* 8, 3. doi:10.1186/s13195-016-0171-4
- Brouillette, J., 2014. The effects of soluble A $\beta$  oligomers on neurodegeneration in Alzheimer's disease. *Curr. Pharm. Des.* 20, 2506–2519.
- Brown, A.M., Ransom, B.R., 2007. Astrocyte glycogen and brain energy metabolism. *Glia* 55, 1263–1271. doi:10.1002/glia.20557
- Buskila, Y., Abu-Ghanem, Y., Levi, Y., Moran, A., Grauer, E., Amitai, Y., 2007. Enhanced Astrocytic Nitric Oxide Production and Neuronal Modifications in the Neocortex of a NOS2 Mutant Mouse. *PLOS ONE* 2, e843. doi:10.1371/journal.pone.0000843
- Cai, H., Harrison, D.G., 2000. Endothelial dysfunction in cardiovascular diseases: the role of oxidant stress. *Circ. Res.* 87, 840–844.
- Caillon, A., Schiffrin, E.L., 2016. Role of Inflammation and Immunity in Hypertension: Recent Epidemiological, Laboratory, and Clinical Evidence. *Curr. Hypertens. Rep.* 18, 21. doi:10.1007/s11906-016-0628-7
- Capone, C., Faraco, G., Park, L., Cao, X., Davisson, R.L., Iadecola, C., 2011. The cerebrovascular dysfunction induced by slow pressor doses of angiotensin II precedes the development of hypertension. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 300, H397-407. doi:10.1152/ajpheart.00679.2010
- Carnevale, D., Mascio, G., D'Andrea, I., Fardella, V., Bell, R.D., Branchi, I., Pallante, F., Zlokovic, B., Yan, S.S., Lembo, G., 2012a. 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, 188–197. doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.112.195511
- Carnevale, D., Mascio, G., D'Andrea, I., Fardella, V., Bell, R.D., Branchi, I., Pallante, F., Zlokovic, B., Yan, S.S., Lembo, G., 2012b. HYPERTENSION INDUCES BRAIN  $\beta$ -AMYLOID ACCUMULATION, COGNITIVE IMPAIRMENT AND MEMORY DETERIORATION THROUGH ACTIVATION OF RAGE IN BRAIN VASCULATURE. *Hypertension* 60, 188–197. doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.112.195511
- Castrop, H., 2015. A role for AT1 receptor-associated proteins in blood pressure regulation. *Curr. Opin. Pharmacol.* 21, 43–47. doi:10.1016/j.coph.2014.12.009

- Chai, S.Y., Fernando, R., Peck, G., Ye, S.-Y., Mendelsohn, F. a. O., Jenkins, T.A., Albiston, A.L., 2004. The angiotensin IV/AT4 receptor. *Cell. Mol. Life Sci. CMLS* 61, 2728–2737. doi:10.1007/s00018-004-4246-1
- Chaudhry, A., Samstein, R.M., Treuting, P., Liang, Y., Pils, M.C., Heinrich, J.-M., Jack, R.S., Wunderlich, F.T., Brüning, J.C., Müller, W., Rudensky, A.Y., 2011. Interleukin-10 signaling in regulatory T cells is required for suppression of Th17 cell-mediated inflammation. *Immunity* 34, 566–578. doi:10.1016/j.immuni.2011.03.018
- Chen, B.R., Kozberg, M.G., Bouchard, M.B., Shaik, M.A., Hillman, E.M.C., 2014. A Critical Role for the Vascular Endothelium in Functional Neurovascular Coupling in the Brain. *J. Am. Heart Assoc. Cardiovasc. Cerebrovasc. Dis.* 3. doi:10.1161/JAHA.114.000787
- Chen, K.H.M., Henderson, V.W., Stolwyk, R.J., Dennerstein, L., Szoeki, C., 2015. Prehypertension in midlife is associated with worse cognition a decade later in middle-aged and older women. *Age Ageing*. doi:10.1093/ageing/afv026
- Chiang, C.-Y., Wang, J., Xie, Y.-F., Zhang, S., Hu, J.W., Dostrovsky, J.O., Sessle, B.J., 2007. Astroglial Glutamate–Glutamine Shuttle Is Involved in Central Sensitization of Nociceptive Neurons in Rat Medullary Dorsal Horn. *J. Neurosci.* 27, 9068–9076. doi:10.1523/JNEUROSCI.2260-07.2007
- Cifuentes, D., Poittevin, M., Dere, E., Broquères-You, D., Bonnin, P., Benessiano, J., Pocard, M., Mariani, J., Kubis, N., Merkulova-Rainon, T., Lévy, B.I., 2015a. Hypertension accelerates the progression of Alzheimer-like pathology in a mouse model of the disease. *Hypertension* 65, 218–224. doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.114.04139
- Cifuentes, D., Poittevin, M., Dere, E., Broquères-You, D., Bonnin, P., Benessiano, J., Pocard, M., Mariani, J., Kubis, N., Merkulova-Rainon, T., Lévy, B.I., 2015b. Hypertension accelerates the progression of Alzheimer-like pathology in a mouse model of the disease. *Hypertens. Dallas Tex* 1979 65, 218–224. doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.114.04139
- Cipolla, M.J., 2009. Regulation of Cerebrovascular Tone. Morgan & Claypool Life Sciences.
- Cohen, S.L., Moore, A.M., Ward, W.E., 2004. Interleukin-10 knockout mouse: a model for studying bone metabolism during intestinal inflammation. *Inflamm. Bowel Dis.* 10, 557–563.
- Crowley, S.D., Song, Y.-S., Lin, E.E., Griffiths, R., Kim, H.-S., Ruiz, P., 2010. Lymphocyte responses exacerbate angiotensin II-dependent hypertension. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 298, R1089-1097. doi:10.1152/ajpregu.00373.2009
- De Ciuceis, C., Amiri, F., Brassard, P., Endemann, D.H., Touyz, R.M., Schiffrin, E.L., 2005. Reduced vascular remodeling, endothelial dysfunction, and oxidative stress in resistance arteries of angiotensin II-infused macrophage colony-stimulating factor-deficient mice: evidence for a role in inflammation in angiotensin-induced vascular injury. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 25, 2106–2113. doi:10.1161/01.ATV.0000181743.28028.57
- Del Prete, G., De Carli, M., Almerigogna, F., Giudizi, M.G., Biagiotti, R., Romagnani, S., 1993. Human IL-10 is produced by both type 1 helper (Th1) and type 2 helper (Th2) T cell clones and inhibits their antigen-specific proliferation and cytokine production. *J. Immunol. Baltim. Md* 1950 150, 353–360.
- Deschepper, C.F., Bouhnik, J., Ganong, W.F., 1986. Colocalization of angiotensinogen and glial fibrillary acidic protein in astrocytes in rat brain. *Brain Res.* 374, 195–198.
- Deshpande, A., Mina, E., Glabe, C., Busciglio, J., 2006. Different Conformations of Amyloid  $\beta$  Induce Neurotoxicity by Distinct Mechanisms in Human Cortical Neurons. *J. Neurosci.* 26, 6011–6018. doi:10.1523/JNEUROSCI.1189-06.2006
- D’Hooge, R., De Deyn, P.P., 2001. Applications of the Morris water maze in the study of learning and memory. *Brain Res. Brain Res. Rev.* 36, 60–90.

- Di Bari, M., Pahor, M., Franse, L.V., Shorr, R.I., Wan, J.Y., Ferrucci, L., Somes, G.W., Applegate, W.B., 2001. Dementia and disability outcomes in large hypertension trials: lessons learned from the systolic hypertension in the elderly program (SHEP) trial. *Am. J. Epidemiol.* 153, 72–78.
- Didion, S.P., Kinzenbaw, D.A., Schrader, L.I., Chu, Y., Faraci, F.M., 2009. Endogenous interleukin-10 inhibits angiotensin II-induced vascular dysfunction. *Hypertension* 54, 619–624. doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.109.137158
- Diz, D.I., 2006. Approaches to Establishing Angiotensin II as a Neurotransmitter Revisited. *Hypertension* 47, 334–336. doi:10.1161/01.HYP.0000203146.72879.c3
- Duchemin, S., Belanger, E., Wu, R., Ferland, G., Girouard, H., 2013. Chronic perfusion of angiotensin II causes cognitive dysfunctions and anxiety in mice. *Physiol. Behav.* 109, 63–68. doi:10.1016/j.physbeh.2012.10.005
- Duling, B.R., Berne, R.M., 1970. Propagated vasodilation in the microcirculation of the hamster cheek pouch. *Circ. Res.* 26, 163–170.
- Dzau, V.J., Ingelfinger, J., Pratt, R.E., Ellison, K.E., 1986. Identification of renin and angiotensinogen messenger RNA sequences in mouse and rat brains. *Hypertension* 8, 544–548. doi:10.1161/01.HYP.8.6.544
- Elias, M.F., Wolf, P.A., D’Agostino, R.B., Cobb, J., White, L.R., 1993. Untreated Blood Pressure Level Is Inversely Related to Cognitive Functioning: The Framingham Study. *Am. J. Epidemiol.* 138, 353–364.
- Erhardt, A., Lucae, S., Unschuld, P.G., Ising, M., Kern, N., Salyakina, D., Lieb, R., Uhr, M., Binder, E.B., Keck, M.E., Müller-Myhsok, B., Holsboer, F., 2007. Association of polymorphisms in P2RX7 and CaMKKb with anxiety disorders. *J. Affect. Disord.* 101, 159–168. doi:10.1016/j.jad.2006.11.016
- Erkinjuntti, T., Østbye, T., Steenhuis, R., Hachinski, V., 1997. The Effect of Different Diagnostic Criteria on the Prevalence of Dementia. *N. Engl. J. Med.* 337, 1667–1674. doi:10.1056/NEJM199712043372306
- Esiri, M.M., 2000. Which vascular lesions are of importance in vascular dementia? *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 903, 239–243.
- Fanselow, M.S., Dong, H.-W., 2010a. Are The Dorsal and Ventral Hippocampus functionally distinct structures? *Neuron* 65, 7. doi:10.1016/j.neuron.2009.11.031
- Fanselow, M.S., Dong, H.-W., 2010b. Are The Dorsal and Ventral Hippocampus functionally distinct structures? *Neuron* 65, 7. doi:10.1016/j.neuron.2009.11.031
- Faraci, F.M., 2011. Protecting against vascular disease in brain. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 300, H1566-1582. doi:10.1152/ajpheart.01310.2010
- Faraco, G., Sugiyama, Y., Lane, D., Garcia-Bonilla, L., Chang, H., Santisteban, M.M., Racchumi, G., Murphy, M., Van Rooijen, N., Anrather, J., Iadecola, C., 2016. Perivascular macrophages mediate the neurovascular and cognitive dysfunction associated with hypertension. *J. Clin. Invest.* doi:10.1172/JCI86950
- Farkas, E., De Jong, G.I., de Vos, R.A., Jansen Steur, E.N., Luiten, P.G., 2000. Pathological features of cerebral cortical capillaries are doubled in Alzheimer’s disease and Parkinson’s disease. *Acta Neuropathol. (Berl.)* 100, 395–402.
- Figuroa, X.F., Duling, B.R., 2009. Gap junctions in the control of vascular function. *Antioxid. Redox Signal.* 11, 251–266. doi:10.1089/ars.2008.2117
- Fogari, R., Mugellini, A., Zoppi, A., Lazzari, P., Destro, M., Rinaldi, A., Preti, P., 2006. Effect of telmisartan/hydrochlorothiazide vs lisinopril/hydrochlorothiazide combination on ambulatory blood pressure and cognitive function in elderly hypertensive patients. *J. Hum. Hypertens.* 20, 177–185. doi:10.1038/sj.jhh.1001964

- Fogari, R., Mugellini, A., Zoppi, A., Marasi, G., Pasotti, C., Poletti, L., Rinaldi, A., Preti, P., 2004. Effects of valsartan compared with enalapril on blood pressure and cognitive function in elderly patients with essential hypertension. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 59, 863–868. doi:10.1007/s00228-003-0717-9
- Fontenot, J.D., Gavin, M.A., Rudensky, A.Y., 2003. Foxp3 programs the development and function of CD4+CD25+ regulatory T cells. *Nat. Immunol.* 4, 330–336. doi:10.1038/ni904
- Fontenot, J.D., Rasmussen, J.P., Williams, L.M., Dooley, J.L., Farr, A.G., Rudensky, A.Y., 2005. Regulatory T cell lineage specification by the forkhead transcription factor foxp3. *Immunity* 22, 329–341. doi:10.1016/j.immuni.2005.01.016
- Forette, F., Seux, M.-L., Staessen, J.A., Thijs, L., Babarskiene, M.-R., Babeanu, S., Bossini, A., Fagard, R., Gil-Extremera, B., Laks, T., Kopalava, Z., Sarti, C., Tuomilehto, J., Vanhanen, H., Webster, J., Yodfat, Y., Birkenhäger, W.H., Systolic Hypertension in Europe Investigators, 2002. The prevention of dementia with antihypertensive treatment: new evidence from the Systolic Hypertension in Europe (Syst-Eur) study. *Arch. Intern. Med.* 162, 2046–2052.
- Forette, F., Seux, M.L., Staessen, J.A., Thijs, L., Birkenhäger, W.H., Babarskiene, M.R., Babeanu, S., Bossini, A., Gil-Extremera, B., Girerd, X., Laks, T., Lilov, E., Moisseiev, V., Tuomilehto, J., Vanhanen, H., Webster, J., Yodfat, Y., Fagard, R., 1998. Prevention of dementia in randomised double-blind placebo-controlled Systolic Hypertension in Europe (Syst-Eur) trial. *Lancet Lond. Engl.* 352, 1347–1351.
- Franceschi, C., Valensin, S., Bonafè, M., Paolisso, G., Yashin, A.I., Monti, D., De Benedictis, G., 2000. The network and the remodeling theories of aging: historical background and new perspectives. *Exp. Gerontol.* 35, 879–896.
- Funato, H., Yoshimura, M., Kusui, K., Tamaoka, A., Ishikawa, K., Ohkoshi, N., Namekata, K., Okeda, R., Ihara, Y., 1998. Quantitation of amyloid beta-protein (A beta) in the cortex during aging and in Alzheimer's disease. *Am. J. Pathol.* 152, 1633–1640.
- Garcia-Osta, A., Alberini, C.M., 2009. Amyloid beta mediates memory formation. *Learn. Mem.* 16, 267–272. doi:10.1101/lm.1310209
- Garrido, A.M., Griendling, K.K., 2009. NADPH Oxidases and Angiotensin II Receptor Signaling. *Mol. Cell. Endocrinol.* 302, 148–158. doi:10.1016/j.mce.2008.11.003
- Gentile, M.T., Poulet, R., Di Pardo, A., Cifelli, G., Maffei, A., Vecchione, C., Passarelli, F., Landolfi, A., Carullo, P., Lembo, G., 2009. Beta-amyloid deposition in brain is enhanced in mouse models of arterial hypertension. *Neurobiol. Aging* 30, 222–228. doi:10.1016/j.neurobiolaging.2007.06.005
- Georgiev, V., Yonkov, D., 1985. Participation of angiotensin II in learning and memory. I. Interaction of angiotensin II with saralasin. *Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol.* 7, 415–418.
- Girouard, H., Bonev, A.D., Hannah, R.M., Meredith, A., Aldrich, R.W., Nelson, M.T., 2010. Astrocytic endfoot Ca<sup>2+</sup> and BK channels determine both arteriolar dilation and constriction. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 107, 3811–3816. doi:10.1073/pnas.0914722107
- Girouard, H., Lessard, A., Capone, C., Milner, T.A., Iadecola, C., 2008. The neurovascular dysfunction induced by angiotensin II in the mouse neocortex is sexually dimorphic. *Am. J. Physiol. - Heart Circ. Physiol.* 294, H156–H163. doi:10.1152/ajpheart.01137.2007
- Girouard, H., Park, L., Anrather, J., Zhou, P., Iadecola, C., 2007. Cerebrovascular nitrosative stress mediates neurovascular and endothelial dysfunction induced by angiotensin II. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 27, 303–309. doi:10.1161/01.ATV.0000253885.41509.25
- Girouard, H., Park, L., Anrather, J., Zhou, P., Iadecola, C., 2006. Angiotensin II attenuates endothelium-dependent responses in the cerebral microcirculation through nox-2-derived radicals. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 26, 826–832. doi:10.1161/01.ATV.0000205849.22807.6e



- Giuffrida, M.L., Caraci, F., Pignataro, B., Cataldo, S., De Bona, P., Bruno, V., Molinaro, G., Pappalardo, G., Messina, A., Palmigiano, A., Garozzo, D., Nicoletti, F., Rizzarelli, E., Copani, A., 2009. Beta-amyloid monomers are neuroprotective. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 29, 10582–10587. doi:10.1523/JNEUROSCI.1736-09.2009
- Golding, B.J., Overall, A.D., Gard, P.R., 2011. Strain differences and the role of AT(1) receptor expression in anxiety. *Int. J. Mol. Epidemiol. Genet.* 2, 51–55.
- Gottesman, R.F., Schneider, A.L.C., Albert, M., Alonso, A., Bandeen-Roche, K., Coker, L., Coresh, J., Knopman, D., Power, M.C., Rawlings, A., Sharrett, A.R., Wruck, L.M., Mosley, T.H., 2014. Midlife hypertension and 20-year cognitive change: the atherosclerosis risk in communities neurocognitive study. *JAMA Neurol.* 71, 1218–1227. doi:10.1001/jamaneurol.2014.1646
- Grill, J.D., Riddle, D.R., 2002. Age-related and laminar-specific dendritic changes in the medial frontal cortex of the rat. *Brain Res.* 937, 8–21.
- Grossman, E., Nadler, M., Sharabi, Y., Thaler, M., Shachar, A., Shamiss, A., 2005. Antianxiety treatment in patients with excessive hypertension. *Am. J. Hypertens.* 18, 1174–1177. doi:10.1016/j.amjhyper.2005.03.728
- Groux, H., O’Garra, A., Bigler, M., Rouleau, M., Antonenko, S., de Vries, J.E., Roncarolo, M.G., 1997. A CD4+ T-cell subset inhibits antigen-specific T-cell responses and prevents colitis. *Nature* 389, 737–742. doi:10.1038/39614
- Guzik, T.J., Hoch, N.E., Brown, K.A., McCann, L.A., Rahman, A., Dikalov, S., Goronzy, J., Weyand, C., Harrison, D.G., 2007. Role of the T cell in the genesis of angiotensin II-induced hypertension and vascular dysfunction. *J. Exp. Med.* 204, 2449–2460. doi:10.1084/jem.20070657
- Haight, T.J., Bryan, R.N., Erus, G., Davatzikos, C., Jacobs, D.R., D’Esposito, M., Lewis, C.E., Launer, L.J., 2015. Vascular risk factors, cerebrovascular reactivity, and the default-mode brain network. *NeuroImage.* doi:10.1016/j.neuroimage.2015.04.039
- Hajjar, I., Hart, M., Chen, Y.-L., Mack, W., Novak, V., C Chui, H., Lipsitz, L., 2013. Antihypertensive therapy and cerebral hemodynamics in executive mild cognitive impairment: results of a pilot randomized clinical trial. *J. Am. Geriatr. Soc.* 61, 194–201. doi:10.1111/jgs.12100
- Hardy, J., Selkoe, D.J., 2002. The amyloid hypothesis of Alzheimer’s disease: progress and problems on the road to therapeutics. *Science* 297, 353–356. doi:10.1126/science.1072994
- Harrison, D.G., Marvar, P.J., Titze, J.M., 2012. Vascular Inflammatory Cells in Hypertension. *Front. Physiol.* 3. doi:10.3389/fphys.2012.00128
- Haruyama, N., Fujisaki, K., Yamato, M., Eriguchi, M., Noguchi, H., Torisu, K., Tsuruya, K., Kitazono, T., 2014. Improvement in spatial memory dysfunction by telmisartan through reduction of brain angiotensin II and oxidative stress in experimental uremic mice. *Life Sci.* 113, 55–59. doi:10.1016/j.lfs.2014.07.032
- Hayden, E.Y., Teplow, D.B., 2013. Amyloid  $\beta$ -protein oligomers and Alzheimer’s disease. *Alzheimers Res. Ther.* 5, 60. doi:10.1186/alzrt226
- Hecker, M., 2000. Endothelium-Derived Hyperpolarizing Factor—Fact or Fiction? *Physiology* 15, 1–5.
- Hendrie, H.C., Hake, A., Lane, K., Purnell, C., Unverzagt, F., Smith-Gamble, V., Murrell, J., Ogunniyi, A., Baiyewu, O., Callahan, C., Saykin, A., Taylor, S., Hall, K., Gao, S., 2015. Statin Use, Incident Dementia and Alzheimer Disease in Elderly African Americans. *Ethn. Dis.* 25, 345–354. doi:10.18865/ed.25.3.345
- Hillman, E.M.C., 2014. Coupling Mechanism and Significance of the BOLD Signal: A Status Report. *Annu. Rev. Neurosci.* 37, 161–181. doi:10.1146/annurev-neuro-071013-014111
- Hoch, N.E., Guzik, T.J., Chen, W., Deans, T., Maalouf, S.A., Gratzke, P., Weyand, C., Harrison, D.G., 2009. Regulation of T-cell function by endogenously produced angiotensin II. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 296, R208-216. doi:10.1152/ajpregu.90521.2008

- Hori, S., Nomura, T., Sakaguchi, S., 2003. Control of regulatory T cell development by the transcription factor Foxp3. *Science* 299, 1057–1061. doi:10.1126/science.1079490
- Hsia, A.Y., Masliah, E., McConlogue, L., Yu, G.Q., Tatsuno, G., Hu, K., Kholodenko, D., Malenka, R.C., Nicoll, R.A., Mucke, L., 1999. Plaque-independent disruption of neural circuits in Alzheimer's disease mouse models. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 96, 3228–3233.
- Huber, S., Gagliani, N., Esplugues, E., O'Connor, W., Huber, F.J., Chaudhry, A., Kamanaka, M., Kobayashi, Y., Booth, C.J., Rudensky, A.Y., Roncarolo, M.G., Battaglia, M., Flavell, R.A., 2011. Th17 cells express interleukin-10 receptor and are controlled by Foxp3<sup>-</sup> and Foxp3<sup>+</sup> regulatory CD4<sup>+</sup> T cells in an interleukin-10-dependent manner. *Immunity* 34, 554–565. doi:10.1016/j.immuni.2011.01.020
- Iadecola, C., Davisson, R.L., 2008. Hypertension and cerebrovascular dysfunction. *Cell Metab.* 7, 476–484. doi:10.1016/j.cmet.2008.03.010
- Inaba, S., Iwai, M., Furuno, M., Tomono, Y., Kanno, H., Senba, I., Okayama, H., Mogi, M., Higaki, J., Horiuchi, M., 2009. Continuous Activation of Renin-Angiotensin System Impairs Cognitive Function in Renin/Angiotensinogen Transgenic Mice. *Hypertension* 53, 356–362. doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.108.123612
- Jankovic, D., Kullberg, M.C., Feng, C.G., Goldszmid, R.S., Collazo, C.M., Wilson, M., Wynn, T.A., Kamanaka, M., Flavell, R.A., Sher, A., 2007. Conventional T-bet(+)Foxp3(-) Th1 cells are the major source of host-protective regulatory IL-10 during intracellular protozoan infection. *J. Exp. Med.* 204, 273–283. doi:10.1084/jem.20062175
- Ji, J., Maren, S., 2008. Differential roles for hippocampal areas CA1 and CA3 in the contextual encoding and retrieval of extinguished fear. *Learn. Mem.* 15, 244–251. doi:10.1101/lm.794808
- Johnson, R.J., Feig, D.I., Nakagawa, T., Sanchez-Lozada, L.G., Rodriguez-Iturbe, B., 2008. Pathogenesis of essential hypertension: historical paradigms and modern insights. *J. Hypertens.* 26, 381–391. doi:10.1097/HJH.0b013e3282f29876
- Kang, Y.-M., Ma, Y., Elks, C., Zheng, J.-P., Yang, Z.-M., Francis, J., 2008. Cross-talk between cytokines and renin-angiotensin in hypothalamic paraventricular nucleus in heart failure: role of nuclear factor-kappaB. *Cardiovasc. Res.* 79, 671–678. doi:10.1093/cvr/cvn119
- Kassan, M., Galan, M., Partyka, M., Trebak, M., Matrougui, K., 2011. Interleukin-10 released by CD4(+)CD25(+) natural regulatory T cells improves microvascular endothelial function through inhibition of NADPH oxidase activity in hypertensive mice. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 31, 2534–2542. doi:10.1161/ATVBAHA.111.233262
- Kawada, N., Imai, E., Karber, A., Welch, W.J., Wilcox, C.S., 2002. A Mouse Model of Angiotensin II Slow Pressor Response: Role of Oxidative Stress. *J. Am. Soc. Nephrol.* 13, 2860–2868. doi:10.1097/01.ASN.0000035087.11758.ED
- Kazama, K., Anrather, J., Zhou, P., Girouard, H., Frys, K., Milner, T.A., Iadecola, C., 2004. Angiotensin II impairs neurovascular coupling in neocortex through NADPH oxidase-derived radicals. *Circ. Res.* 95, 1019–1026. doi:10.1161/01.RES.0000148637.85595.c5
- Kesner, R.P., 2007. Behavioral functions of the CA3 subregion of the hippocampus. *Learn. Mem. Cold Spring Harb. N* 14, 771–781. doi:10.1101/lm.688207
- Kesner, R.P., Lee, I., Gilbert, P., 2004. A behavioral assessment of hippocampal function based on a subregional analysis. *Rev. Neurosci.* 15, 333–351.
- Kheirbek, M.A., Hen, R., 2011. Dorsal vs Ventral Hippocampal Neurogenesis: Implications for Cognition and Mood. *Neuropsychopharmacology* 36, 373–374. doi:10.1038/npp.2010.148
- Kimura, A., Kishimoto, T., 2010. IL-6: regulator of Treg/Th17 balance. *Eur. J. Immunol.* 40, 1830–1835. doi:10.1002/eji.201040391

- Kizilbash, A.H., Vanderploeg, R.D., Curtiss, G., 2002. The effects of depression and anxiety on memory performance. *Arch. Clin. Neuropsychol.* 17, 57–67. doi:10.1016/S0887-6177(00)00101-3
- Koehler, R.C., Gebremedhin, D., Harder, D.R., 2006. Role of astrocytes in cerebrovascular regulation. *J. Appl. Physiol.* Bethesda Md 1985 100, 307–317. doi:10.1152/jappphysiol.00938.2005
- Kunzelmann, P., Schröder, W., Traub, O., Steinhäuser, C., Dermietzel, R., Willecke, K., 1999. Late onset and increasing expression of the gap junction protein connexin30 in adult murine brain and long-term cultured astrocytes. *Glia* 25, 111–119.
- Kuusisto, J., Koivisto, K., Mykkänen, L., Helkala, E.L., Vanhanen, M., Hänninen, T., Pyörälä, K., Riekkinen, P., Laakso, M., 1993. Essential hypertension and cognitive function. The role of hyperinsulinemia. *Hypertension* 22, 771–779. doi:10.1161/01.HYP.22.5.771
- Kuwabara, Y., Ichiya, Y., Sasaki, M., Yoshida, T., Fukumura, T., Masuda, K., Ibayashi, S., Fujishima, M., 1996. Cerebral blood flow and vascular response to hypercapnia in hypertensive patients with leukoaraiosis. *Ann. Nucl. Med.* 10, 293–298.
- Kvakan, H., Kleinewietfeld, M., Qadri, F., Park, J.-K., Fischer, R., Schwarz, I., Rahn, H.-P., Plehm, R., Wellner, M., Elitok, S., Grätze, P., Dechend, R., Luft, F.C., Müller, D.N., 2009. Regulatory T cells ameliorate angiotensin II-induced cardiac damage. *Circulation* 119, 2904–2912. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.108.832782
- Kwon, S.E., Chapman, E.R., 2011. Synaptophysin regulates the kinetics of synaptic vesicle endocytosis in central neurons. *Neuron* 70, 847–854. doi:10.1016/j.neuron.2011.04.001
- Lange, A., Gebremedhin, D., Narayanan, J., Harder, D., 1997. 20-Hydroxyeicosatetraenoic Acid-induced Vasoconstriction and Inhibition of Potassium Current in Cerebral Vascular Smooth Muscle Is Dependent on Activation of Protein Kinase C. *J. Biol. Chem.* 272, 27345–27352. doi:10.1074/jbc.272.43.27345
- Lassen, N.A., Agnoli, A., 1972. The upper limit of autoregulation of cerebral blood flow--on the pathogenesis of hypertensive encephalopathy. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 30, 113–116.
- Lavric, A., Rippon, G., Gray, J.R., 2003. Threat-Evoked Anxiety Disrupts Spatial Working Memory Performance: An Attentional Account. *Cogn. Ther. Res.* 27, 489–504. doi:10.1023/A:1026300619569
- Lee, I., Kesner, R.P., 2004. Encoding versus retrieval of spatial memory: double dissociation between the dentate gyrus and the perforant path inputs into CA3 in the dorsal hippocampus. *Hippocampus* 14, 66–76. doi:10.1002/hipo.10167
- León, K., Pérez, R., Lage, A., Carneiro, J., 2000. Modelling T-cell-mediated suppression dependent on interactions in multicellular conjugates. *J. Theor. Biol.* 207, 231–254. doi:10.1006/jtbi.2000.2169
- Lind, W., Swanson, L.W., Ganten, D., 2004. Organization of Angiotensin II Immunoreactive Cells and Fibers in the Rat Central Nervous System. *Neuroendocrinology* 40, 2–24. doi:10.1159/000124046
- Lithell, H., Hansson, L., Skoog, I., Elmfeldt, D., Hofman, A., Olofsson, B., Trenkwalder, P., Zanchetti, A., SCOPE Study Group, 2003. The Study on Cognition and Prognosis in the Elderly (SCOPE): principal results of a randomized double-blind intervention trial. *J. Hypertens.* 21, 875–886. doi:10.1097/01.hjh.0000059028.82022.89
- Liu, X., Miller, M.J., Joshi, M.S., Sadowska-Krowicka, H., Clark, D.A., Lancaster, J.R., 1998. Diffusion-limited reaction of free nitric oxide with erythrocytes. *J. Biol. Chem.* 273, 18709–18713.
- Lob, H.E., Schultz, D., Marvar, P.J., Davisson, R.L., Harrison, D.G., 2013. Role of the NADPH oxidases in the subfornical organ in angiotensin II-induced hypertension. *Hypertens. Dallas Tex* 1979 61, 382–387. doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.111.00546

- Love, S., 2005. Neuropathological investigation of dementia: a guide for neurologists. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 76, v8–v14. doi:10.1136/jnnp.2005.080754
- Lovren, F., Triggle, C., 2000. Nitric oxide and sodium nitroprusside-induced relaxation of the human umbilical artery. *Br. J. Pharmacol.* 131, 521–529. doi:10.1038/sj.bjp.0703588
- Lucas, F.V., Skrinska, V.A., Chisolm, G.M., Hesse, B.L., 1986. Stability of prostacyclin in human and rabbit whole blood and plasma. *Thromb. Res.* 43, 379–387.
- Lue, L.F., Kuo, Y.M., Roher, A.E., Brachova, L., Shen, Y., Sue, L., Beach, T., Kurth, J.H., Rydel, R.E., Rogers, J., 1999. Soluble amyloid beta peptide concentration as a predictor of synaptic change in Alzheimer's disease. *Am. J. Pathol.* 155, 853–862.
- Madhur, M.S., Lob, H.E., McCann, L.A., Iwakura, Y., Blinder, Y., Guzik, T.J., Harrison, D.G., 2010. Interleukin 17 promotes angiotensin II-induced hypertension and vascular dysfunction. *Hypertens. Dallas Tex* 1979 55, 500–507. doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.109.145094
- Marieb, E., 2008. *Biologie humaine: Principes d'anatomie et de physiologie*. Pearson.
- Marvar, P.J., Thabet, S.R., Guzik, T.J., Lob, H.E., McCann, L.A., Weyand, C., Gordon, F.J., Harrison, D.G., 2010. Central and Peripheral Mechanisms of T-Lymphocyte Activation and Vascular Inflammation Produced by Angiotensin II-Induced Hypertension. *Circ. Res.* 107, 263–270. doi:10.1161/CIRCRESAHA.110.217299
- Marvar, P.J., Vinh, A., Thabet, S., Lob, H.E., Geem, D., Ressler, K.J., Harrison, D.G., 2012. T lymphocytes and vascular inflammation contribute to stress-dependent hypertension. *Biol. Psychiatry* 71, 774–782. doi:10.1016/j.biopsych.2012.01.017
- Matavelli, L.C., Siragy, H.M., 2015. AT2 receptor activities and pathophysiological implications. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 65, 226–232. doi:10.1097/FJC.0000000000000208
- Matrougui, K., Abd Elmageed, Z., Zakaria, A.E., Kassan, M., Choi, S., Nair, D., Gonzalez-Villalobos, R.A., Chentoufi, A.A., Kadowitz, P., Belmadani, S., Partyka, M., 2011. Natural regulatory T cells control coronary arteriolar endothelial dysfunction in hypertensive mice. *Am. J. Pathol.* 178, 434–441. doi:10.1016/j.ajpath.2010.11.034
- McLaughlin, T., Geissler, E.C., Wan, G.J., 2003. Comorbidities and associated treatment charges in patients with anxiety disorders. *Pharmacotherapy* 23, 1251–1256.
- Miller, A.A., Drummond, G.R., Schmidt, H.H.H.W., Sobey, C.G., 2005. NADPH Oxidase Activity and Function Are Profoundly Greater in Cerebral Versus Systemic Arteries. *Circ. Res.* 97, 1055–1062. doi:10.1161/01.RES.0000189301.10217.87
- Min, L.-J., Mogi, M., Iwanami, J., Sakata, A., Jing, F., Tsukuda, K., Ohshima, K., Horiuchi, M., 2011. Angiotensin II and aldosterone-induced neuronal damage in neurons through an astrocyte-dependent mechanism. *Hypertens. Res. Off. J. Jpn. Soc. Hypertens.* 34, 773–778. doi:10.1038/hr.2011.38
- Miwa, C., Ueki, A., Shinjo, H., Simode, H., Morita, Y., 2001. Long-term synaptic alteration in the rat hippocampal CA3 field following an entorhinal cortex lesion. *Psychiatry Clin. Neurosci.* 55, 573–578. doi:10.1046/j.1440-1819.2001.00908.x
- Mori, H., Takio, K., Ogawara, M., Selkoe, D.J., 1992. Mass spectrometry of purified amyloid beta protein in Alzheimer's disease. *J. Biol. Chem.* 267, 17082–17086.
- Moser, M.B., Moser, E.I., Forrest, E., Andersen, P., Morris, R.G., 1995. Spatial learning with a minislab in the dorsal hippocampus. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 92, 9697–9701.
- Mucke, L., Masliah, E., Yu, G.Q., Mallory, M., Rockenstein, E.M., Tatsuno, G., Hu, K., Kholodenko, D., Johnson-Wood, K., McConlogue, L., 2000. High-level neuronal expression of abeta 1-42 in wild-type human amyloid protein precursor transgenic mice: synaptotoxicity without plaque formation. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 20, 4050–4058.

- Muller, D.N., Shagdarsuren, E., Park, J.-K., Dechend, R., Mervaala, E., Hampich, F., Fiebeler, A., Ju, X., Finckenberg, P., Theuer, J., Viedt, C., Kreuzer, J., Heidecke, H., Haller, H., Zenke, M., Luft, F.C., 2002. Immunosuppressive treatment protects against angiotensin II-induced renal damage. *Am. J. Pathol.* 161, 1679–1693. doi:10.1016/S0002-9440(10)64445-8
- Nakazawa, K., McHugh, T.J., Wilson, M.A., Tonegawa, S., 2004. NMDA receptors, place cells and hippocampal spatial memory. *Nat. Rev. Neurosci.* 5, 361–372. doi:10.1038/nrn1385
- Nakazawa, K., Quirk, M.C., Chitwood, R.A., Watanabe, M., Yeckel, M.F., Sun, L.D., Kato, A., Carr, C.A., Johnston, D., Wilson, M.A., Tonegawa, S., 2002. Requirement for hippocampal CA3 NMDA receptors in associative memory recall. *Science* 297, 211–218. doi:10.1126/science.1071795
- Näslund, J., Schierhorn, A., Hellman, U., Lannfelt, L., Roses, A.D., Tjernberg, L.O., Silberring, J., Gandy, S.E., Winblad, B., Greengard, P., 1994. Relative abundance of Alzheimer A beta amyloid peptide variants in Alzheimer disease and normal aging. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 91, 8378–8382.
- Nataraj, C., Oliverio, M.I., Mannon, R.B., Mannon, P.J., Audoly, L.P., Amuchastegui, C.S., Ruiz, P., Smithies, O., Coffman, T.M., 1999. Angiotensin II regulates cellular immune responses through a calcineurin-dependent pathway. *J. Clin. Invest.* 104, 1693–1701. doi:10.1172/JCI7451
- Neuwelt, E.A., Bauer, B., Fahlke, C., Fricker, G., Iadecola, C., Janigro, D., Leybaert, L., Molnar, Z., O'Donnell, M., Povlishock, J., Saunders, N., Sharp, F., Stanimirovic, D., Watts, R., Drewes, L., 2011. Engaging Neuroscience to Advance Translational Research in Brain Barrier Biology. *Nat. Rev. Neurosci.* 12, 169–182. doi:10.1038/nrn2995
- Niedbala, W., Besnard, A.-G., Jiang, H.R., Alves-Filho, J.C., Fukada, S.Y., Nascimento, D., Mitani, A., Pushparaj, P., Alqahtani, M.H., Liew, F.Y., 2013. Nitric oxide-induced regulatory T cells inhibit Th17 but not Th1 cell differentiation and function. *J. Immunol. Baltim. Md 1950* 191, 164–170. doi:10.4049/jimmunol.1202580
- Niedbala, W., Cai, B., Liu, H., Pitman, N., Chang, L., Liew, F.Y., 2007. Nitric oxide induces CD4+CD25+ Foxp3 regulatory T cells from CD4+CD25+ T cells via p53, IL-2, and OX40. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 104, 15478–15483. doi:10.1073/pnas.0703725104
- Niwa, K., Carlson, G.A., Iadecola, C., 2000. Exogenous A beta1–40 reproduces cerebrovascular alterations resulting from amyloid precursor protein overexpression in mice. *J. Cereb. Blood Flow Metab. Off. J. Int. Soc. Cereb. Blood Flow Metab.* 20, 1659–1668. doi:10.1097/00004647-200012000-00005
- Nizar, K., Uhlirova, H., Tian, P., Saisan, P.A., Cheng, Q., Reznichenko, L., Weldy, K.L., Steed, T.C., Sridhar, V.B., MacDonald, C.L., Cui, J., Gratiy, S.L., Sakadzić, S., Boas, D.A., Beka, T.I., Einevoll, G.T., Chen, J., Masliah, E., Dale, A.M., Silva, G.A., Devor, A., 2013. In vivo stimulus-induced vasodilation occurs without IP3 receptor activation and may precede astrocytic calcium increase. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 33, 8411–8422. doi:10.1523/JNEUROSCI.3285-12.2013
- Obisesan, T.O., 2009. Hypertension and Cognitive Function. *Clin. Geriatr. Med.* 25, 259–288. doi:10.1016/j.cger.2009.03.002
- O'Brien, M.D., 1988. Vascular dementia is underdiagnosed. *Arch. Neurol.* 45, 797–798.
- O'Farrell, A.M., Liu, Y., Moore, K.W., Mui, A.L., 1998. IL-10 inhibits macrophage activation and proliferation by distinct signaling mechanisms: evidence for Stat3-dependent and -independent pathways. *EMBO J.* 17, 1006–1018. doi:10.1093/emboj/17.4.1006
- Ongali, B., Nicolakakis, N., Tong, X.-K., Aboukassim, T., Papadopoulos, P., Rosa-Neto, P., Lecrux, C., Imboden, H., Hamel, E., 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, 126–136. doi:10.1016/j.nbd.2014.04.018
- O'Reilly, K.C., Flatberg, A., Islam, S., Olsen, L.C., Kruge, I.U., Witter, M.P., 2015. Identification of dorsal-ventral hippocampal differentiation in neonatal rats. *Brain Struct. Funct.* 220, 2873–2893. doi:10.1007/s00429-014-0831-8
- Otsu, Y., Couchman, K., Lyons, D.G., Collot, M., Agarwal, A., Mallet, J.-M., Pfrieger, F.W., Bergles, D.E., Charpak, S., 2015. Calcium dynamics in astrocyte processes during neurovascular coupling. *Nat. Neurosci.* 18, 210–218. doi:10.1038/nn.3906
- Padurariu, M., Ciobica, A., Mavroudis, I., Fotiou, D., Baloyannis, S., 2012. Hippocampal neuronal loss in the CA1 and CA3 areas of Alzheimer's disease patients. *Psychiatr. Danub.* 24, 152–158.
- Paiardi, S., Rodella, L.F., De Ciuceis, C., Porter, E., Boari, G.E.M., Rezzani, R., Rizzardi, N., Platto, C., Tiberio, G.A.M., Giulini, S.M., Rizzoni, D., Agabiti-Rosei, E., 2009. Immunohistochemical evaluation of microvascular rarefaction in hypertensive humans and in spontaneously hypertensive rats. *Clin. Hemorheol. Microcirc.* 42, 259–268. doi:10.3233/CH-2009-1195
- Paukert, M., Agarwal, A., Cha, J., Doze, V.A., Kang, J.U., Bergles, D.E., 2014. Norepinephrine controls astroglial responsiveness to local circuit activity. *Neuron* 82, 1263–1270. doi:10.1016/j.neuron.2014.04.038
- Paul, M., Printz, M.P., Harms, E., Unger, T., Lang, R.E., Ganten, D., 1985. Localization of renin (EC 3.4.23) and converting enzyme (EC 3.4.15.1) in nerve endings of rat brain. *Brain Res.* 334, 315–324.
- Pelisch, N., Hosomi, N., Ueno, M., Nakano, D., Hitomi, H., Mogi, M., Shimada, K., Kobori, H., Horiuchi, M., Sakamoto, H., Matsumoto, M., Kohno, M., Nishiyama, A., 2011. Blockade of AT1 receptors protects the blood-brain barrier and improves cognition in Dahl salt-sensitive hypertensive rats. *Am. J. Hypertens.* 24, 362–368. doi:10.1038/ajh.2010.241
- Petersen, R.C., Smith, G.E., Waring, S.C., Ivnik, R.J., Tangalos, E.G., Kokmen, E., 1999. Mild cognitive impairment: clinical characterization and outcome. *Arch. Neurol.* 56, 303–308.
- Peterson, J.R., Sharma, R.V., Davison, R.L., 2006. Reactive oxygen species in the neuropathogenesis of hypertension. *Curr. Hypertens. Rep.* 8, 232–241.
- Petrella, R.J., Shlyakhto, E., Konradi, A.O., Berrou, J.-P., Sedefdjian, A., Pathak, A., OSCAR Publication Group, 2012. Blood pressure responses to hypertension treatment and trends in cognitive function in patients with initially difficult-to-treat hypertension: a retrospective subgroup analysis of the Observational Study on Cognitive Function and SBP Reduction (OSCAR) study. *J. Clin. Hypertens. Greenwich Conn* 14, 78–84. doi:10.1111/j.1751-7176.2011.00577.x
- Phillips, S.J., Whisnant, J.P., 1992. Hypertension and the brain. The National High Blood Pressure Education Program. *Arch. Intern. Med.* 152, 938–945.
- Postel-Vinay, N., 1996. [History of hypertension and of vascular risk: at the origins of change of contemporary medicine]. *Hist. Sci. Médicales* 30, 235–241.
- Pueyo, M.E., Gonzalez, W., Nicoletti, A., Savoie, F., Arnal, J.F., Michel, J.B., 2000. Angiotensin II stimulates endothelial vascular cell adhesion molecule-1 via nuclear factor-kappaB activation induced by intracellular oxidative stress. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 20, 645–651.
- Rahimi, K., Emdin, C.A., MacMahon, S., 2015. The Epidemiology of Blood Pressure and Its Worldwide Management. *Circ. Res.* 116, 925–936. doi:10.1161/CIRCRESAHA.116.304723
- Randomised trial of a perindopril-based blood-pressure-lowering regimen among 6105 individuals with previous stroke or transient ischaemic attack, 2001. *The Lancet* 358, 1033–1041. doi:10.1016/S0140-6736(01)06178-5
- Ravenni, R., Jabre, J.F., Casiglia, E., Mazza, A., 2011. Primary stroke prevention and hypertension treatment: which is the first-line strategy? *Neurol. Int.* 3. doi:10.4081/ni.2011.e12

- Raz, L., Knoefel, J., Bhaskar, K., 2016. The neuropathology and cerebrovascular mechanisms of dementia. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 36, 172–186. doi:10.1038/jcbfm.2015.164
- Reinhardt, C.A., Gloor, S.M., 1997. Co-culture blood-brain barrier models and their use for pharmacotoxicological screening. *Toxicol. Vitro Int. J. Publ. Assoc. BIBRA* 11, 513–518.
- Reisberg, B., Ferris, S.H., de Leon, M.J., Crook, T., 1982. The Global Deterioration Scale for assessment of primary degenerative dementia. *Am. J. Psychiatry* 139, 1136–1139. doi:10.1176/ajp.139.9.1136
- Rose, J.M., Audus, K.L., 1998. Receptor-mediated angiotensin II transcytosis by brain microvessel endothelial cells. *Peptides* 19, 1023–1030.
- Rosenblum, W.I., 1986. Aspects of endothelial malfunction and function in cerebral microvessels. *Lab. Investig. J. Tech. Methods Pathol.* 55, 252–268.
- Rountree, S.D., Waring, S.C., Chan, W.C., Lupo, P.J., Darby, E.J., Doody, R.S., 2007. Importance of subtle amnesic and nonamnesic deficits in mild cognitive impairment: prognosis and conversion to dementia. *Dement. Geriatr. Cogn. Disord.* 24, 476–482. doi:10.1159/000110800
- Ruitenbergh, A., den Heijer, T., Bakker, S.L.M., van Swieten, J.C., Koudstaal, P.J., Hofman, A., Breteler, M.M.B., 2005. Cerebral hypoperfusion and clinical onset of dementia: the Rotterdam Study. *Ann. Neurol.* 57, 789–794. doi:10.1002/ana.20493
- Ruiz-Ortega, M., Lorenzo, O., Rupérez, M., König, S., Wittig, B., Egido, J., 2000. Angiotensin II activates nuclear transcription factor kappaB through AT(1) and AT(2) in vascular smooth muscle cells: molecular mechanisms. *Circ. Res.* 86, 1266–1272.
- Saavedra, J.M., 2005. Brain angiotensin II: new developments, unanswered questions and therapeutic opportunities. *Cell. Mol. Neurobiol.* 25, 485–512. doi:10.1007/s10571-005-4011-5
- Saavedra, J.M., Correa, F.M., Seltzer, A., Pinto, J.E., Viglione, P., Tsutsumi, K., 1992. Enhanced angiotensin converting enzyme binding in arteries from spontaneously hypertensive rats. *J. Hypertens.* 10, 1353–1359.
- Sacco, R.L., Benjamin, E.J., Broderick, J.P., Dyken, M., Easton, J.D., Feinberg, W.M., Goldstein, L.B., Gorelick, P.B., Howard, G., Kittner, S.J., Manolio, T.A., Whisnant, J.P., Wolf, P.A., 1997. Risk Factors. *Stroke* 28, 1507–1517. doi:10.1161/01.STR.28.7.1507
- 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. *J. Am. Heart Assoc.* 2, e000224. doi:10.1161/JAHA.113.000224
- Sagare, A.P., Bell, R.D., Zlokovic, B.V., 2013. Neurovascular defects and faulty amyloid- $\beta$  vascular clearance in Alzheimer's disease. *J. Alzheimers Dis. JAD* 33 Suppl 1, S87-100. doi:10.3233/JAD-2012-129037
- Sakaguchi, S., Sakaguchi, N., Asano, M., Itoh, M., Toda, M., 1995. Immunologic self-tolerance maintained by activated T cells expressing IL-2 receptor alpha-chains (CD25). Breakdown of a single mechanism of self-tolerance causes various autoimmune diseases. *J. Immunol. Baltim. Md* 155, 1151–1164.
- Sakaguchi, S., Wing, K., Onishi, Y., Prieto-Martin, P., Yamaguchi, T., 2009. Regulatory T cells: how do they suppress immune responses? *Int. Immunol.* 21, 1105–1111. doi:10.1093/intimm/dxp095
- Savaskan, E., Hock, C., Olivieri, G., Bruttel, S., Rosenberg, C., Hulette, C., Müller-Spahn, F., 2001. Cortical alterations of angiotensin converting enzyme, angiotensin II and AT1 receptor in Alzheimer's dementia. *Neurobiol. Aging* 22, 541–546.
- Saxby, B.K., Harrington, F., McKeith, I.G., Wesnes, K., Ford, G.A., 2003. Effects of hypertension on attention, memory, and executive function in older adults. *Health Psychol. Off. J. Div. Health Psychol. Am. Psychol. Assoc.* 22, 587–591. doi:10.1037/0278-6133.22.6.587

- Schiffrin, E.L., 2010. T lymphocytes: a role in hypertension? *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* 19, 181–186. doi:10.1097/MNH.0b013e3283360a2e
- Schmitt, U., Tanimoto, N., Seeliger, M., Schaeffel, F., Leube, R.E., 2009. Detection of behavioral alterations and learning deficits in mice lacking synaptophysin. *Neuroscience* 162, 234–243. doi:10.1016/j.neuroscience.2009.04.046
- Schmued, L.C., Hopkins, K.J., 2000. Fluoro-Jade B: a high affinity fluorescent marker for the localization of neuronal degeneration. *Brain Res.* 874, 123–130.
- Schneider, L.S., 2016. Reduce vascular risk to prevent dementia? *Lancet Lond. Engl.* 388, 738–740. doi:10.1016/S0140-6736(16)31129-1
- Sewnath, M.E., Olszyna, D.P., Birjmohun, R., ten Kate, F.J., Gouma, D.J., van Der Poll, T., 2001. IL-10-deficient mice demonstrate multiple organ failure and increased mortality during *Escherichia coli* peritonitis despite an accelerated bacterial clearance. *J. Immunol. Baltim. Md* 1950 166, 6323–6331.
- Shackman, A.J., Sarinopoulos, I., Maxwell, J.S., Pizzagalli, D.A., Lavric, A., Davidson, R.J., 2006. Anxiety selectively disrupts visuospatial working memory. *Emotion* 6, 40–61. doi:10.1037/1528-3542.6.1.40
- Shen, C., Chen, Y., Liu, H., Zhang, K., Zhang, T., Lin, A., Jing, N., 2008. Hydrogen peroxide promotes Abeta production through JNK-dependent activation of gamma-secretase. *J. Biol. Chem.* 283, 17721–17730. doi:10.1074/jbc.M800013200
- Shim, Y., Yoon, B., Shim, D.S., Kim, W., An, J.-Y., Yang, D.-W., 2015. Cognitive Correlates of Cerebral Vasoreactivity on Transcranial Doppler in Older Adults. *J. Stroke Cerebrovasc. Dis. Off. J. Natl. Stroke Assoc.* doi:10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2015.01.031
- Silva-Filho, J.L., Souza, M.C., Ferreira-Dasilva, C.T., Silva, L.S., Costa, M.F.S., Padua, T.A., Henriques, M. das G., Morrot, A., Savino, W., Caruso-Neves, C., Pinheiro, A.A.S., 2013. Angiotensin II is a new component involved in splenic T lymphocyte responses during *Plasmodium berghei* ANKA infection. *PloS One* 8, e62999. doi:10.1371/journal.pone.0062999
- Silva-Filho, J.L., Souza, M.C., Henriques, M. das G., Morrot, A., Savino, W., Nunes, M.P., Caruso-Neves, C., Pinheiro, A.A.S., 2011. AT1 receptor-mediated angiotensin II activation and chemotaxis of T lymphocytes. *Mol. Immunol.* 48, 1835–1843. doi:10.1016/j.molimm.2011.05.008
- Simões e Silva, A.C., Silveira, K.D., Ferreira, A.J., Teixeira, M.M., 2013. ACE2, angiotensin-(1-7) and Mas receptor axis in inflammation and fibrosis. *Br. J. Pharmacol.* 169, 477–492. doi:10.1111/bph.12159
- Smith, T.D., Adams, M.M., Gallagher, M., Morrison, J.H., Rapp, P.R., 2000. Circuit-specific alterations in hippocampal synaptophysin immunoreactivity predict spatial learning impairment in aged rats. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 20, 6587–6593.
- Sokolova, I.A., Manukhina, E.B., Blinkov, S.M., Koshelev, V.B., Pinelis, V.G., Rodionov, I.M., 1985. Rarefaction of the arterioles and capillary network in the brain of rats with different forms of hypertension. *Microvasc. Res.* 30, 1–9.
- Stanimirovic, D.B., Friedman, A., 2012. Pathophysiology of the neurovascular unit: disease cause or consequence? *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 32, 1207–1221. doi:10.1038/jcbfm.2012.25
- Stefani, A., Sancesario, G., Pierantozzi, M., Leone, G., Galati, S., Hainsworth, A.H., Diomed, M., 2009. CSF biomarkers, impairment of cerebral hemodynamics and degree of cognitive decline in Alzheimer's and mixed dementia. *J. Neurol. Sci.* 283, 109–115. doi:10.1016/j.jns.2009.02.343
- Straub, S.V., Nelson, M.T., 2007. Astrocytic calcium signaling: the information currency coupling neuronal activity to the cerebral microcirculation. *Trends Cardiovasc. Med.* 17, 183–190. doi:10.1016/j.tcm.2007.05.001



- Stroobant, N., Van Nooten, G., Vingerhoets, G., 2004. Effect of cardiovascular disease on hemodynamic response to cognitive activation: a functional transcranial Doppler study. *Eur. J. Neurol.* 11, 749–754. doi:10.1111/j.1468-1331.2004.00873.x
- Sumners, C., Fleegal, M.A., Zhu, M., 2002. Angiotensin At1 Receptor Signalling Pathways In Neurons. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 29, 483–490. doi:10.1046/j.1440-1681.2002.03660.x
- Sun, W., McConnell, E., Pare, J.-F., Xu, Q., Chen, M., Peng, W., Lovatt, D., Han, X., Smith, Y., Nedergaard, M., 2013. Glutamate-dependent neuroglial calcium signaling differs between young and adult brain. *Science* 339, 197–200. doi:10.1126/science.1226740
- Suzuki, H., Motley, E.D., Frank, G.D., Utsunomiya, H., Eguchi, S., 2005. Recent progress in signal transduction research of the angiotensin II type-1 receptor: protein kinases, vascular dysfunction and structural requirement. *Curr. Med. Chem. Cardiovasc. Hematol. Agents* 3, 305–322.
- Sze, C.I., Troncoso, J.C., Kawas, C., Mouton, P., Price, D.L., Martin, L.J., 1997. Loss of the presynaptic vesicle protein synaptophysin in hippocampus correlates with cognitive decline in Alzheimer disease. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 56, 933–944.
- Takata, F., Dohgu, S., Yamauchi, A., Matsumoto, J., Machida, T., Fujishita, K., Shibata, K., Shinozaki, Y., Sato, K., Kataoka, Y., Koizumi, S., 2013. In Vitro Blood-Brain Barrier Models Using Brain Capillary Endothelial Cells Isolated from Neonatal and Adult Rats Retain Age-Related Barrier Properties. *PLoS ONE* 8. doi:10.1371/journal.pone.0055166
- Tallini, Y.N., Brekke, J.F., Shui, B., Doran, R., Hwang, S., Nakai, J., Salama, G., Segal, S.S., Kotlikoff, M.I., 2007. Propagated endothelial Ca<sup>2+</sup> waves and arteriolar dilation in vivo: measurements in Cx40BAC GCaMP2 transgenic mice. *Circ. Res.* 101, 1300–1309. doi:10.1161/CIRCRESAHA.107.149484
- Tampellini, D., Capetillo-Zarate, E., Dumont, M., Huang, Z., Yu, F., Lin, M.T., Gouras, G.K., 2010. Effects of synaptic modulation on  $\beta$ -amyloid, synaptophysin and memory performance in Alzheimer's disease transgenic mice. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 30, 14299–14304. doi:10.1523/JNEUROSCI.3383-10.2010
- Tang, Q., Bluestone, J.A., 2006. Regulatory T-cell physiology and application to treat autoimmunity. *Immunol. Rev.* 212, 217–237. doi:10.1111/j.0105-2896.2006.00421.x
- Tarantini, S., Hertelendy, P., Tucsek, Z., Valcarcel-Ares, M.N., Smith, N., Menyhart, A., Farkas, E., Hodges, E.L., Towner, R., Deak, F., Sonntag, W.E., Csiszar, A., Ungvari, Z., Toth, P., 2015. Pharmacologically-Induced Neurovascular Uncoupling is Associated with Cognitive Impairment in Mice. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 35, 1871–1881. doi:10.1038/jcbfm.2015.162
- Teyler, T.J., DiScenna, P., 1986. The hippocampal memory indexing theory. *Behav. Neurosci.* 100, 147–154.
- Tham, D.M., Martin-McNulty, B., Wang, Y., Wilson, D.W., Vergona, R., Sullivan, M.E., Dole, W., Rutledge, J.C., 2002. Angiotensin II is associated with activation of NF-kappaB-mediated genes and downregulation of PPARs. *Physiol. Genomics* 11, 21–30. doi:10.1152/physiolgenomics.00062.2002
- Tian, N., Moore, R.S., Braddy, S., Rose, R.A., Gu, J.-W., Hughson, M.D., Manning, R.D., 2007. Interactions between oxidative stress and inflammation in salt-sensitive hypertension. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 293, H3388–3395. doi:10.1152/ajpheart.00981.2007
- Tota, S., Goel, R., Pachauri, S.D., Rajasekar, N., Najmi, A.K., Hanif, K., Nath, C., 2013. Effect of angiotensin II on spatial memory, cerebral blood flow, cholinergic neurotransmission, and brain derived neurotrophic factor in rats. *Psychopharmacology (Berl.)* 226, 357–369. doi:10.1007/s00213-012-2913-8

- Traub, Y.M., Shapiro, A.P., Dujovny, M., Nelson, D., 1982. Cerebral blood flow changes with diuretic therapy in elderly subjects with systolic hypertension. *Clin. Exp. Hypertens. A.* 4, 1193–1201.
- Tzourio, C., Dufouil, C., Ducimetière, P., Alpérovitch, A., 1999. Cognitive decline in individuals with high blood pressure: a longitudinal study in the elderly. EVA Study Group. *Epidemiology of Vascular Aging. Neurology* 53, 1948–1952.
- Uversky, V.N., Dunker, A.K., 2013. The case for intrinsically disordered proteins playing contributory roles in molecular recognition without a stable 3D structure. *F1000 Biol. Rep.* 5, 1. doi:10.3410/B5-1
- Vermeij, A., Kessels, R.P.C., Heskamp, L., Simons, E.M.F., Dautzenberg, P.L.J., Claassen, J.A.H.R., 2016. Prefrontal activation may predict working-memory training gain in normal aging and mild cognitive impairment. *Brain Imaging Behav.* doi:10.1007/s11682-016-9508-7
- Vicenzini, E., Ricciardi, M.C., Altieri, M., Puccinelli, F., Bonaffini, N., Di Piero, V., Lenzi, G.L., 2007. Cerebrovascular reactivity in degenerative and vascular dementia: a transcranial Doppler study. *Eur. Neurol.* 58, 84–89. doi:10.1159/000103642
- Villela, D.C., Passos-Silva, D.G., Santos, R.A.S., 2014. Alamandine: a new member of the angiotensin family. *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* 23, 130–134. doi:10.1097/01.mnh.0000441052.44406.92
- Vorhees, C.V., Williams, M.T., 2006. Morris water maze: procedures for assessing spatial and related forms of learning and memory. *Nat. Protoc.* 1, 848–858. doi:10.1038/nprot.2006.116
- Vytal, K.E., Cornwell, B.R., Letkiewicz, A.M., Arkin, N.E., Grillon, C., 2013. The complex interaction between anxiety and cognition: insight from spatial and verbal working memory. *Front. Hum. Neurosci.* 7. doi:10.3389/fnhum.2013.00093
- Walsh, D.M., Klyubin, I., Fadeeva, J.V., Cullen, W.K., Anwyl, R., Wolfe, M.S., Rowan, M.J., Selkoe, D.J., 2002. Naturally secreted oligomers of amyloid beta protein potently inhibit hippocampal long-term potentiation in vivo. *Nature* 416, 535–539. doi:10.1038/416535a
- Wang, G., Anrather, J., Glass, M.J., Tarsitano, M.J., Zhou, P., Frys, K.A., Pickel, V.M., Iadecola, C., 2006. Nox2, Ca<sup>2+</sup>, and protein kinase C play a role in angiotensin II-induced free radical production in nucleus tractus solitarius. *Hypertens. Dallas Tex* 1979 48, 482–489. doi:10.1161/01.HYP.0000236647.55200.07
- Wang, P., Wu, P., Siegel, M.I., Egan, R.W., Billah, M.M., 1995. Interleukin (IL)-10 inhibits nuclear factor kappa B (NF kappa B) activation in human monocytes. IL-10 and IL-4 suppress cytokine synthesis by different mechanisms. *J. Biol. Chem.* 270, 9558–9563.
- Watanabe, T., Barker, T.A., Berk, B.C., 2005. Angiotensin II and the Endothelium. *Hypertension* 45, 163–169. doi:10.1161/01.HYP.0000153321.13792.b9
- Wattanapitayakul, S.K., Weinstein, D.M., Holycross, B.J., Bauer, J.A., 2000. Endothelial dysfunction and peroxynitrite formation are early events in angiotensin-induced cardiovascular disorders. *FASEB J. Off. Publ. Fed. Am. Soc. Exp. Biol.* 14, 271–278.
- Wei, T.-M., Wang, L., 2006. Anxiety symptoms in patients with hypertension: a community-based study. *Int. J. Psychiatry Med.* 36, 315–322.
- Weissman, B.A., Jones, C.L., Liu, Q., Gross, S.S., 2002. Activation and inactivation of neuronal nitric oxide synthase: characterization of Ca(2+)-dependent [125I]Calmodulin binding. *Eur. J. Pharmacol.* 435, 9–18.
- Wiltfang, J., Esselmann, H., Bibl, M., Hüll, M., Hampel, H., Kessler, H., Frölich, L., Schröder, J., Peters, O., Jessen, F., Luckhaus, C., Perneczky, R., Jahn, H., Fiszer, M., Maler, J.M., Zimmermann, R., Bruckmoser, R., Kornhuber, J., Lewczuk, P., 2007. Amyloid beta peptide ratio 42/40 but not A beta 42 correlates with phospho-Tau in patients with low- and high-CSF A beta 40 load. *J. Neurochem.* 101, 1053–1059. doi:10.1111/j.1471-4159.2006.04404.x

- Wölfle, S.E., Chaston, D.J., Goto, K., Sandow, S.L., Edwards, F.R., Hill, C.E., 2011. Non-linear relationship between hyperpolarisation and relaxation enables long distance propagation of vasodilatation. *J. Physiol.* 589, 2607–2623. doi:10.1113/jphysiol.2010.202580
- Yano, Y., Ning, H., Allen, N., Reis, J.P., Launer, L.J., Liu, K., Yaffe, K., Greenland, P., Lloyd-Jones, D.M., 2014. Long-Term Blood Pressure Variability Throughout Young Adulthood and Cognitive Function in Midlife The Coronary Artery Risk Development in Young Adults (CARDIA) Study. *Hypertension* 64, 983–988. doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.114.03978
- Yilmaz, S., Pekdemir, M., Tural, U., Uygun, M., 2011. Comparison of alprazolam versus captopril in high blood pressure: a randomized controlled trial. *Blood Press.* 20, 239–243. doi:10.3109/08037051.2011.553934
- Zekry, D., Hauw, J.-J., Gold, G., 2002. Mixed dementia: epidemiology, diagnosis, and treatment. *J. Am. Geriatr. Soc.* 50, 1431–1438.
- Zheng, Y., Rudensky, A.Y., 2007. Foxp3 in control of the regulatory T cell lineage. *Nat. Immunol.* 8, 457–462. doi:10.1038/ni1455
- Zhu, D., Shi, J., Zhang, Y., Wang, B., Liu, W., Chen, Z., Tong, Q., 2011. Central angiotensin II stimulation promotes  $\beta$  amyloid production in Sprague Dawley rats. *PLoS One* 6, e16037. doi:10.1371/journal.pone.0016037
- Zimmerman, M.C., Lazartigues, E., Lang, J.A., Sinnayah, P., Ahmad, I.M., Spitz, D.R., Davisson, R.L., 2002. Superoxide mediates the actions of angiotensin II in the central nervous system. *Circ. Res.* 91, 1038–1045.
- Zimmerman, M.C., Lazartigues, E., Sharma, R.V., Davisson, R.L., 2004. Hypertension caused by angiotensin II infusion involves increased superoxide production in the central nervous system. *Circ. Res.* 95, 210–216. doi:10.1161/01.RES.0000135483.12297.e4

## Figure legends

**Fig. 1a.** Th cells injections decrease the response to whisker stimulations in unperfused mice compared to PBS. Treg injections did not change this response (One-way ANOVA, Tukey's multiple comparison test;  $**p < 0.001$  vs PBS;  $n = 6-10$ ). **Fig. 1b.** None of the treatments significantly changed the response to acetylcholine, however, Th cells slightly lowered this response ( $p = 0.067$ ) (One-way ANOVA, Tukey's multiple comparison test;  $n = 4-6$ ). **Fig. 1c.** Th or Treg did not attenuate the response to SNP ( $n = 4-7$ ). **Fig. 1d.** T cells do not change blood pressure. (One-way ANOVA, Bonferroni multiple comparison test;  $n = 6-7$ ).

**Fig. 2a.** Ang II perfusion decreases the response to whiskers stimulations. Treg injections restore this response to control level (One-way ANOVA, Tukey's multiple comparison test;  $**p < 0.005$  vs PBS,  $\#p < 0.05$  vs Ang II;  $n = 7-9$ ). **Fig. 2b.** Treg injections prevented the attenuated response to acetylcholine induced by Ang II-perfusion (One-way ANOVA, Tukey's multiple comparison test;  $*p < 0.05$  vs PBS,  $\#p < 0.05$  vs Ang II;  $n = 4-6$ ). **Fig. 2c.** Treg injections increased the SNP response above control level. (One-way ANOVA, Tukey's multiple comparison test;  $\#p < 0.05$  vs Ang II;  $n = 4-8$ ). **Fig. 2d.** T cells do not change blood pressure. (One-way ANOVA, Bonferroni multiple comparison test;  $*p < 0.05$  vs PBS;  $n = 6-7$ ).

**Fig. 3.a.** Treg from IL-10 knock out mice (Treg IL-10<sup>-/-</sup>) decreased the response to whiskers stimulations in unperfused mice and did not restore this response in ang II-perfused mice (Two-ways ANOVA, Tukey's multiple comparison test;  $*p < 0.05$  vs PBS;  $n = 5-9$ ). **Fig. 3.b** Treg IL-10<sup>-/-</sup> lowered the response to acetylcholine in unperfused mice and did not restore this response in ang II-perfused mice (Two-ways ANOVA, Tukey's multiple comparison test;  $*p < 0.05$  vs PBS;  $n = 4-6$ ). **Fig. 3.c** Treg IL-10<sup>-/-</sup> increased the SNP response in ang II-perfused mice. (Two-ways ANOVA, Tukey's multiple comparison test;  $\#p < 0.05$  vs Ang II: Treg IL-10<sup>-/-</sup>;  $n = 5-8$ ). **Fig. 3d.** T cells do not change blood pressure. (One-way ANOVA, Bonferroni multiple comparison test;  $*p < 0.05$  vs PBS,  $+p < 0.05$  vs Sham: Treg IL-10<sup>-/-</sup>;  $n = 6-7$ ).

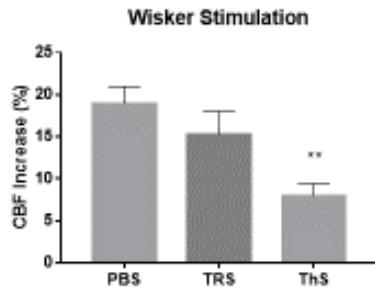
**Fig. 4.a.** IL-10 perfusion restored the response to whiskers stimulations (One-way ANOVA, Tukey's multiple comparison test;  $***p < 0.001$  vs PBS,  $##p < 0.05$  vs Ang II;  $n = 5-9$ ). **Fig. 4.b.** IL-10 did not reverse the attenuated response to acetylcholine in ang II-perfused mice (One-way ANOVA, Tukey's multiple comparison test;  $***p < 0.001$  vs PBS;  $n = 4-6$ ). **Fig. 4.c.** IL-10 did

not change the SNP response (n=4-8). **Fig. 4d.** IL-10 does not change blood pressure. (One-way ANOVA, Bonferroni multiple comparison test; \* $p < 0.05$  vs PBS; n=5-8).

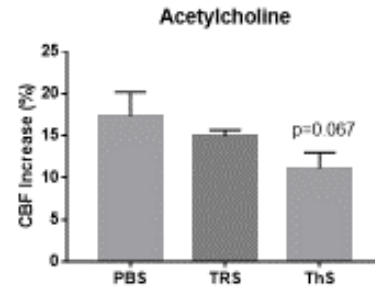
# Figures

## Figure 1

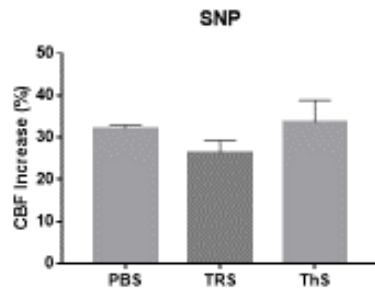
1a



1b



1c



1d

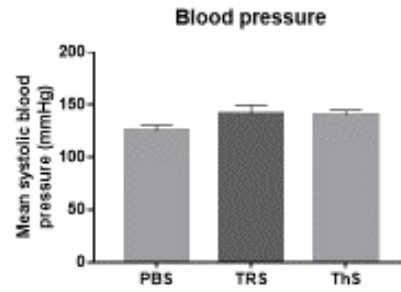
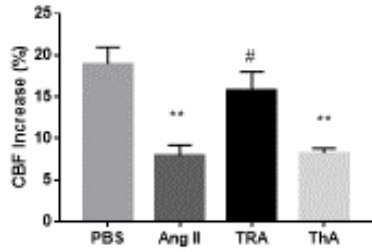


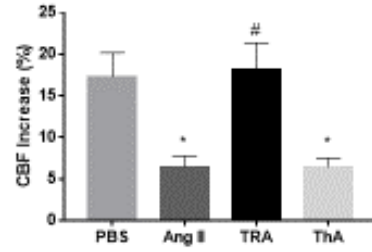
Figure 2

2a Wisker Stimulation



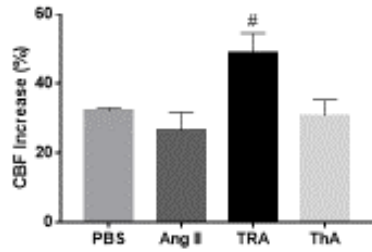
\*\* p<0.005 vs Sham  
# p<0.05 vs Ang II

2b Acetylcholine



\* p<0.05 vs PBS  
# p<0.05 vs Ang II

2c SNP



2d Blood pressure

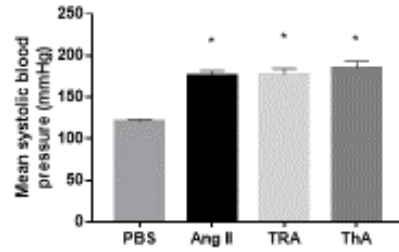
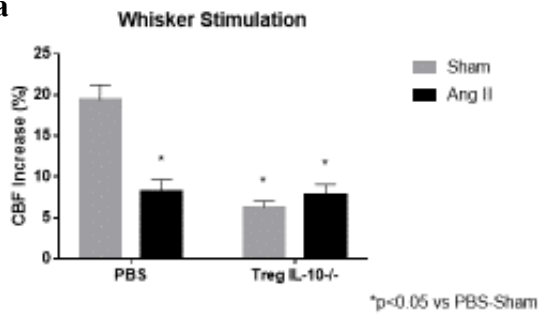
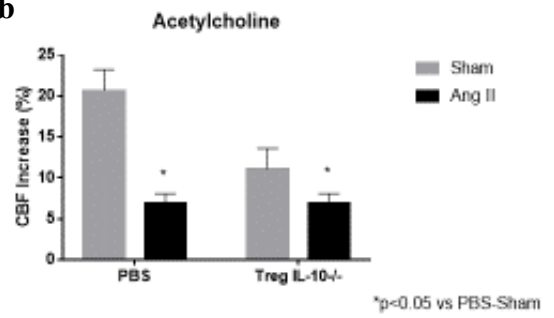


Figure 3

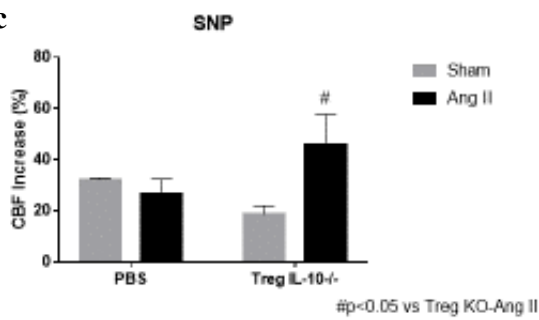
3a



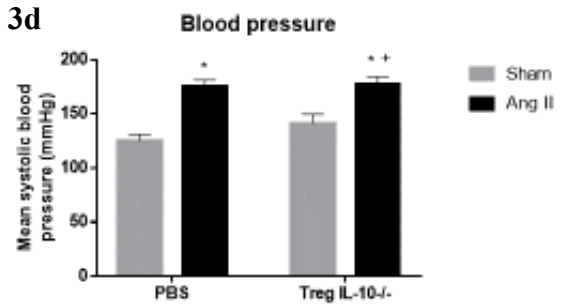
3b



3c

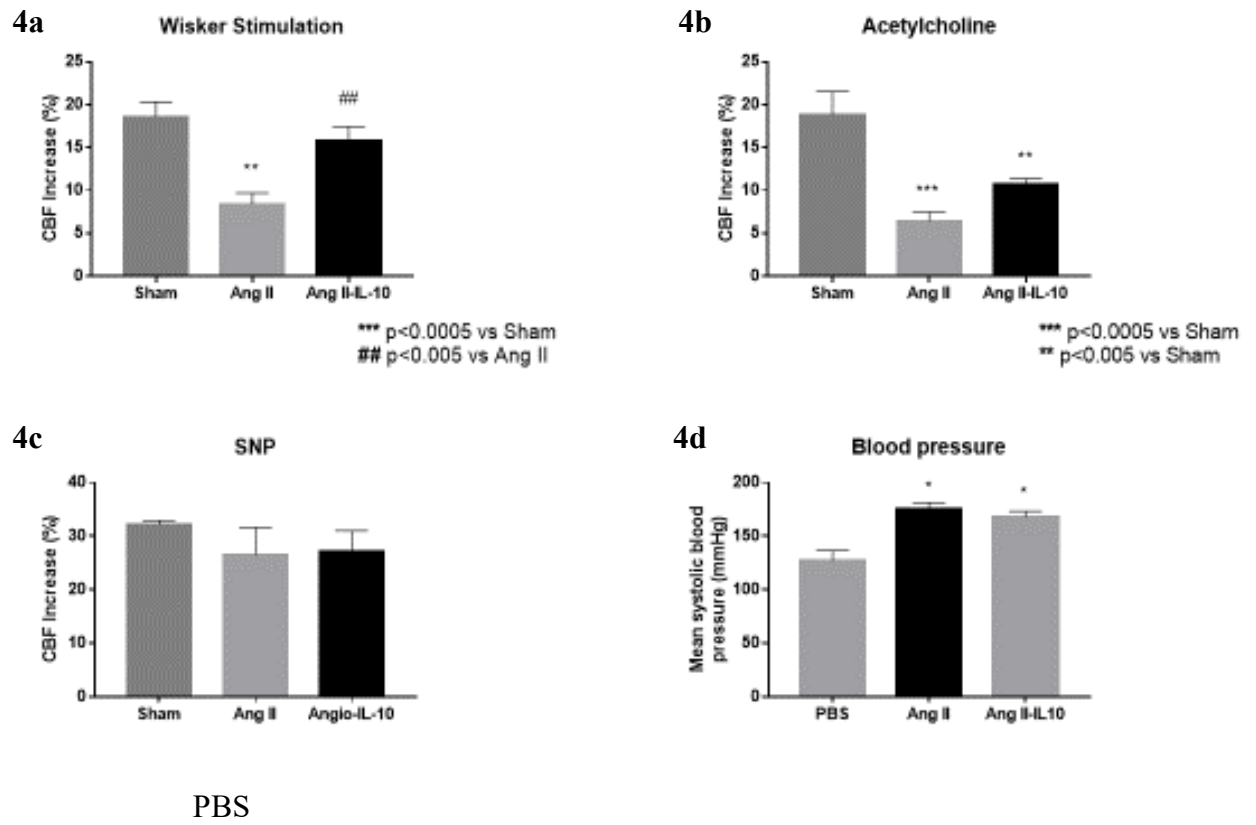


3d





**Figure 4**



## Troisième partie : Discussion

Dans le but d'améliorer la compréhension de l'effet de l'hypertension artérielle sur les fonctions cérébrales nous avons, en premier lieu, démontré l'effet de l'Ang II sur la mémoire. Dans un second temps, nous avons établi que l'Ang II seul avait un effet sur l'activité de la synaptophysine et sur la formation de  $\beta$ -amyloïdes. Par la suite, nous nous sommes penché sur le fonctionnement du couplage neurovasculaire, en présence d'Ang II, et nous avons déterminé que cette interaction pouvait être modulée par le système immunitaire acquis.

La première étude publiée, mettant en cause l'effet de l'hypertension artérielle sur les fonctions cognitives, était le résultat d'une manipulation génétique qui augmentait l'activité du SRA (Inaba et al., 2009). Cette étude a démontré que l'activation excessive du SRA causait des difficultés d'apprentissage. Des études ont également démontrées que l'injection intraventriculaire aiguë d'Ang II améliore de la capacité d'apprentissage. Toutefois, ces travaux ne prenaient pas en compte l'aspect chronique de l'hypertension artérielle (Georgiev and Yonkov, 1985). Le modèle de perfusion d'Ang II nous a permis de simuler l'augmentation continue de l'activité du SRA, sans modifications génétiques, et ainsi d'éviter les effets compensateurs d'un modèle génétique sans conditionnement ciblé.

Nous avons choisi d'utiliser une perfusion chronique d'Ang II pour pouvoir, par la suite, différencier l'effet de l'augmentation du SRA, de l'augmentation de la pression artérielle, sur les fonctions cérébrales. Dans cette première étude nous avons donc établi que l'augmentation continue de l'Ang II cause un déficit cognitif. La raison pour laquelle, ceux-ci ne sont visibles que lorsque nous testons les souris à partir du 21<sup>ème</sup> jour de perfusion est encore à l'étude. N'ayant mesuré la capacité d'apprentissage qu'à partir de 14 et 21 jours de perfusion, il n'est pas possible de savoir si les dysfonctions cognitives observées ne se manifestent pas quelques jours avant. Pour s'assurer du temps précis nécessaire au développement de ces dysfonctions, il faudrait commencer le test de la piscine de Morris, à une journée d'intervalle, entre le 14<sup>ème</sup> et le 21<sup>ème</sup> jour de perfusion de l'Ang II. En attendant, il est raisonnable de dire que la mémoire semble affectée entre le 19<sup>ème</sup> jour, qui est le dernier jour d'apprentissage dans le groupe testé après 14 jours de perfusion, et le 21<sup>ème</sup> jour, date de début des tests pour le groupe perfusé 21 jours avant le début des tests.

Trois différentes concentrations d'Ang II ont été utilisées dans cette étude. Dans le premier article, nous avons choisi une concentration d'Ang II de 1900ng/kg/mn. Cette concentration, précédemment utilisée par Girouard et al., augmentait la pression artérielle rapidement et la maintenait élevée pendant toute la durée de l'expérience, soit 7 jours dans le cas de l'étude de Girouard et al. (Girouard et al., 2008). Dans les études suivantes nous avons diminué la concentration d'Ang II hypertensive, à 1000ng/kg/mn, dans le but de travailler avec la plus petite concentration pouvant engendrer une hypertension rapide et stable. La concentration de 200 ng/kg/mn a été choisie car c'est la dose maximale qui augmente le stress oxydant, sans augmenter la pression artérielle (Kawada et al., 2002). L'augmentation de la pression artérielle a été mesurée dans nos modèles utilisant les doses hypertensives d'Ang II (1900 et 1000 ng/kg/mn). Dans les deux modèles, la pression atteint son maximum au 3<sup>ème</sup> jour et se maintient entre 150 et 200 mmHg jusqu'au 28<sup>ème</sup> jour de perfusion, qui correspond à la durée de vie de la pompe osmotique.

Il a également été démontré que les espèces réactives de l'oxygène sont augmentées, dans ce modèle d'hypertension artérielle, par le biais de la NADPH oxydase qui est activée lors de la liaison de l'Ang II aux récepteurs AT1 (Girouard et al., 2007). Dans les modèles d'hypertension artérielle, la source principale d'espèces réactives de l'oxygène cérébrovasculaire est l'activation de la NADPH oxydase (Iadecola and Davisson, 2008). Le sous-type de NADPH oxydase dans le cerveau est la NOX2, composé des sous-unités gp91phox et p22phox (Wang et al., 2006); (Garrido and Griendling, 2009). Le stress oxydant, ainsi produit, participe aux dysfonctions vasculaires observées dans les artères périphériques et cérébrales (Barhoumi et al., 2011; Kazama et al., 2004). Les études précédentes ont démontrées que les concentrations de 1000 ng/kg/mn et de 200 ng/kg/mn d'Ang II augmentent l'activité de la NADPH oxydase, et la production subséquente d'espèces réactives de l'oxygène, dans les artères mésentériques et cérébrales, après 14 jours de perfusion (Barhoumi et al., 2011); (Capone et al., 2011). Le stress oxydant, présent dans les OCV, aurait un impact sur l'augmentation de la pression artérielle et l'inflammation vasculaire. En effet, l'injection intracérébroventriculaire de superoxyde dismutase ou l'inhibition de la sous-unité p22phox, en présence d'Ang II, empêche l'augmentation de la pression artérielle, l'activation de la NADPH oxydase et la production d'espèces réactives de l'oxygène dans les OCV, ainsi que l'infiltration et l'activation

des lymphocytes T dans les artères périphériques (Zimmerman et al., 2002, 2004); (Lob et al., 2013). Nous n'avons malheureusement pas pu présenter de résultats sur l'activité de la NADPH oxydase dans nos modèles par manque de temps et de matériels nécessaires à ce protocole. Néanmoins, pour la suite de cette étude, il a été prévu que l'activité de la NADPH oxydase serait mesurée, dans chaque région d'intérêt du cerveau, par chimiluminescence de la lucigénine, tel que décrit précédemment par Miller et al. (Miller et al., 2005) et par la quantification du dihydroéthidium (DHE).

Chez les souris perfusées avec 1000 ng/kg/mn et 200 ng/kg/mn d'Ang II, l'augmentation de la NADPH oxydase cérébrale est accompagnée d'une diminution de la réponse endothéliale cérébrovasculaire et du CNV (Capone et al., 2011; Girouard et al., 2006). Notre étude confirme ces résultats, dans le modèle de souris hypertendues (1000 ng/kg/mn), et étend le champ de connaissances sur ce domaine en démontrant que ces fonctions sont restaurées par l'injection de Treg. L'effet des Treg sur le CNV a été démontré pour la première fois dans notre laboratoire. Cependant, les précédents travaux, ont établi que les Treg restaurent les fonctions endothéliales et réduisent l'activité de la NADPH oxydase, dans les artères mésentériques du modèle d'hypertension provoquée par l'Ang II (Barhoumi et al., 2011). Le mécanisme par lequel les Treg rétablissent ces fonctions n'a, néanmoins, pas encore été identifié. Ces cellules pouvant agir de plusieurs manières pour rétablir les fonctions cérébrovasculaires, nous avons choisi d'explorer l'effet de l'IL-10, qui est une cytokine anti-inflammatoire produite par les Treg (Groux et al., 1997). Pour cela nous avons injecté des cellules Treg provenant de souris ne produisant pas d'IL-10 (Treg IL-10  $-/-$ ). Nous avons ainsi pu déterminer que les Treg, ne produisant pas d'IL-10, n'avaient pas la possibilité de restaurer la réponse endothéliale diminuée par l'Ang II. Notre étude confirme ainsi les résultats obtenus par Kassan *et al* dans les artères mésentériques (Kassan et al., 2011). Ces derniers avaient démontré que les souris IL-10  $-/-$ , et de type sauvage, perfusées à l'Ang II avaient une diminution de la réponse endothéliale, contrairement aux souris ne recevant pas d'Ang II, et que cet effet était restauré en présence de Treg provenant de souris de type sauvage. Nous n'avons cependant pas utilisé le même modèle, car les souris IL-10  $-/-$  sont un modèle de maladie inflammatoire de l'intestin, dont le système immunitaire est déjà compromis. Les souris IL-10  $-/-$  sont sensibles aux infections (Sewnath et al., 2001), et ont une augmentation naturelle de l'expression de plusieurs cytokines pro-

inflammatoire dont l'IL-6, l'IL-1b et du TNF-alpha (Cohen et al., 2004). Pour ne pas ajouter de facteurs inflammatoires supplémentaire dans nos expériences, nous n'avons donc utilisé que les cellules Treg isolées à partir de la rate de ces souris.

Dans le but de confirmer ces résultats, nous avons utilisé des souris recevant une perfusion d'Ang II avec 1000 ng d'IL-10, une dose précédemment utilisé par Kassan et al. Ce traitement à rétabli la réponse du CNV, mais n'a eu qu'un effet partiel sur la réponse endothéliale. Une des raisons de l'utilisation du modèle d'Ang II/IL-10 et d'Ang II/Treg était de favoriser la biodisponibilité des Treg, pour savoir si les dysfonctions vasculaires de l'Ang II seraient causées par un déséquilibre des lymphocytes T en faveur des Th. En effet, l'hypertension provoquée par l'Ang II entraîne la production de cytokines pro-inflammatoires telles que l'IL6, le TNF $\alpha$  et l'INF- $\gamma$  (Barhoumi et al., 2011). Hors, ces cytokines favorisent la différenciation des CD4<sup>+</sup> en Th17 plutôt qu'en Treg. Madhur et al. ont démontrés que les Th17, produisant l'IL17, participent à l'infiltration de Th dans la paroi des artères, au maintien de l'hypertension artérielle, au stress oxydant et aux dysfonctions endothéliales en présence d'Ang II (Madhur et al., 2010). La suite de ce projet pourrait donc également inclure la mesure de la concentration d'IL-17 plasmatique et du ratio Th17/Treg dans nos modèles. Dans ce cas, la récupération des fonctions cérébrovasculaires par l'injection de Treg et/ou la perfusion d'IL-10 serait dû au rétablissement de ce ratio.

Néanmoins, l'étude de Kassan et al. ayant démontré que la perfusion d'IL-10, chez les souris perfusées à l'Ang II, rétablissant la réponse endothéliale dans les artères mésentériques, nous avons été surpris de n'avoir qu'un rétablissement partiel de cette réponse dans les artères cérébrales. La différence de résultats sur l'endothélium entre l'étude de Kassan et al. et la nôtre, peut s'expliquer, soit par le fait que la dose ne soit pas suffisamment élevée, soit par le fait que l'IL-10 utilise d'autres mécanismes d'actions que ceux identifiés dans la littérature. Pour approfondir ces mécanismes il serait d'abord intéressant de quantifier le taux d'IL-10 plasmatique présent pendant les 14 jours de perfusion, pour savoir si l'IL-10 perfusée est métabolisée, si cette cytokine s'accumule dans le système ou si elle est éliminée telle quelle. Par la suite, pour valider notre modèle et vérifier s'il est possible de rétablir l'effet observé avec les injections de Treg, il serait également intéressant d'ajouter un groupe de souris, recevant une injection de Treg IL-10<sup>-/-</sup>, en plus d'une perfusion à l'Ang II et à l'IL-10.

La seconde partie de l'étude sur les lymphocytes T nous a permis de démontrer, pour la première fois, que les Th causent une dysfonction du CNV et atténuent la réponse cérébrovasculaire. Sachant que notre étude a été faite avec des injections provenant de CD4 CD25-, sans différenciation pour les Th1, Th2 ou Th17, la suite de ce projet, en plus de quantifier le ratio Th17/Treg, pourrais également inclure un groupe supplémentaire utilisant des injections de Th17 isolés pour valider le rôle de ces cellules dans CNV et dans la réponse endothéliale cérébrovasculaire.

Notre étude démontre que l'Ang II participe à l'augmentation de la formation de  $\beta$ -amyloïdes libres, sans pour autant contribuer à la formation de plaques amyloïdes. En effet, nous nous attendions à observer la formation de plaques dans notre modèle puisque, une étude récente, utilisant des souris hypertendues par le biais d'une coarctation trans-aortique, a montré une augmentation du dépôt de plaques amyloïdes dans le cortex et l'hippocampe (Carnevale et al., 2012b). La raison de cette différence entre nos études pourrait être due au fait que nous ayons regardé après trois semaines de perfusion seulement, contrairement à l'étude de Carnevale et al. qui a observé ces effets après quatre semaines. La suite de ce projet pourrait ainsi inclure la vérification de la présence de plaques amyloïdes par le Congo red et la Thioflavine-s après quatre semaines de perfusion d'Ang II.

Notre étude confirme que les déficits cognitifs précèdent la formation de plaques amyloïdes. Ce qui est en accord avec les études faites chez les patients Alzheimer, mais contraire aux résultats de la plupart des études utilisant des modèles animaux transgéniques de la maladie d'Alzheimer. L'étude de Cifuentes et al., par exemple, qui a démontré que chez les souris APPPS1 (surexprimant le précurseur de la protéine amyloïde humaine et de la préséniline), la perfusion d'Ang II accélérât l'apparition de déficits cognitifs et l'augmentation de plaques amyloïdes dans le cortex (Cifuentes et al., 2015b). Cette étude a cependant également démontré que l'Ang II double le taux d'oligomères de  $\beta$ -amyloïdes, dans le cerveau et le plasma des APPPS1. Ces résultats, ainsi que les nôtres, vont dans le sens de la nouvelle théorie qui stipule que les oligomères de  $\beta$ -amyloïdes seraient responsable des déficits cognitifs dans la maladie d'Alzheimer (Hayden and Teplow, 2013). En effet, nous avons pu observer une augmentation des  $\beta$ -amyloïdes libres en présence d'Ang II, et plus particulièrement de la forme  $\beta$ -amyloïdes 1-40 qui est dix fois plus abondante que celui des  $\beta$ -amyloïde 1-42, dans le cerveau des

personnes atteints de la maladie d'Alzheimer (Mori et al., 1992). Les  $\beta$ -amyloïdes 1-42 libres n'étant augmentés que chez les souris hypertendues, il se pourrait que ces derniers, plus enclin à s'agréger, ne participent qu'à la formation de plaques amyloïdes et non aux dysfonctions cérébrovasculaires et cognitives.

Chez les patients atteints de la maladie d'Alzheimer, la forme  $\beta$ -amyloïdes 1-40 est associée à une diminution de la synaptophysine dans le cortex, elle-même corrélée avec une réduction des fonctions cognitives chez ces patients (Lue et al., 1999); (Sze et al., 1997); (Counts SE 2006). La synaptophysine est la molécule la plus abondante dans les vésicules synaptiques. Cette protéine, localisée exclusivement dans les terminaux présynaptiques, régule la recapture des vésicules synaptiques pendant et après une activité neuronale. Le défaut d'endocytose, suite à la perte de synaptophysine, mène à une dépression synaptique et retarde le remplissage des vésicules synaptiques libérables (Kwon S.E. 2011). Notre étude confirme les observations de Schmitt et al. qui ont démontré que la diminution de synaptophysine est corrélée avec un déficit de mémoire spatiale et d'apprentissage (Schmitt et al., 2009).

Nous avons choisi d'utiliser la synaptophysine-2 comme indicateur du niveau de plasticité neuronale, bien qu'une étude utilisant des techniques d'électrophysiologie, aurait été une manière plus précise de vérifier celle-ci. Cependant, le processus utilisé en électrophysiologie aurait pu biaiser les résultats en causant une augmentation du stress oxydatif. Toutefois, sachant que la voie perforante de l'hippocampe est affectée, il serait maintenant intéressant d'utiliser d'autres techniques pour confirmer cette expérience avec plus de précision.

Dans cette étude, nous avons utilisé plusieurs protocoles pour mesurer la pression artérielle. Chez l'homme la mesure de la pression artérielle se fait à l'aide d'un sphygmomanomètre et d'un stéthoscope. Le brassard de ce dernier est enroulé au-dessus du coude et gonflé jusqu'à ce que la pression dépasse la pression systolique. La tête du stéthoscope est posée sur l'artère brachiale au niveau du coude et le brassard est dégonflé jusqu'à ce que le premier battement, qui correspond à la pression systolique, se fasse entendre. Lorsque la pression du brassard égale celle de l'artère, le dernier battement entendu correspond à la pression diastolique. Cette méthode nécessite que le sujet soit calme et ne bouge pas pendant la prise, c'est pourquoi d'autres méthodes doivent être utilisées chez les souris, notre modèle d'étude,

qui sont des animaux particulièrement nerveux. Dans les travaux présentés nous avons utilisé deux méthodes de mesure de pression artérielle : une invasive et une non-invasive.

La méthode non-invasive consiste à utiliser un système de pléthysmographie par manchons, placés autour de la queue, alors que l'animal est installé dans un tube qui restreint ses mouvements. La queue de l'animal est exposée à une plaque chauffante (37°C) pour dilater les vaisseaux de la queue et faciliter la prise de pression. L'animal est ensuite laissé au calme pendant 10 à 20 minutes, pour s'habituer à la contention, avant de commencer la récolte de données. La procédure prend 30 à 40 minutes par souris. Ce système permet de mesurer la fréquence cardiaque et la pression artérielle systolique et diastolique. Cette méthode présente plusieurs avantages. Elle est relativement facile à utiliser, ne cause qu'un faible niveau d'anxiété chez l'animal et le coût de l'appareil est peu élevé. Cet instrument a cependant le désavantage de nécessiter un entraînement de plusieurs jours, avant la prise de données, dans le but de diminuer le stress lié à la procédure. Un autre désavantage est que la pression artérielle ne peut être mesurée qu'une fois par jour à cause de la durée de la procédure.

Les méthodes invasives utilisées sont la canulation fémorale et la télémétrie. La télémétrie est une méthode qui permet d'enregistrer la pression artérielle à l'aide d'un cathéter inséré dans la carotide et relié à un émetteur placé sous la peau. L'avantage de cette méthode est qu'elle permet de mesurer la pression artérielle en continu et à distance, minimisant ainsi le stress infligé par la procédure sur l'animal. Les désavantages sont cependant le coût élevé du système, l'impossibilité de réutiliser les implants ainsi que le caractère invasif de la procédure.

La méthode de canulation fémorale se fait sous anesthésie en insérant une canule dans l'artère fémorale. Le capteur de pression reliée à la canule, permet l'enregistrement et la visualisation des données par un logiciel (RapidLab). L'avantage de cette procédure est que, dans le cas de notre étude, il est possible de visualiser, en temps réel, les variations de pression artérielle et de les comparer aux autres données enregistrées en simultané, telle que la réponse cérébrovasculaire. Ces données sont importantes car les variations de la pression artérielle peuvent modifier le débit sanguin cérébral et biaiser les résultats de réponse cérébrovasculaire. Un autre avantage est qu'il est possible de faire des prélèvements sanguins en utilisant la même canule. Un désavantage de cette méthode sont qu'elle doit se faire dans le cas d'une chirurgie terminale, la canule bloquant la circulation du sang dans la pâte, la nécrose de celle-ci est inévitable sur une longue période. Un second désavantage majeur est l'entraînement requis pour



effectuer ce genre de chirurgie qui nécessite une grande dextérité, particulièrement chez la souris.

Dans notre étude, comme dans celle de Kvaken et al., les Treg n'avaient pas d'effet sur l'augmentation de la pression artérielle provoquée par l'Ang II, contrairement à l'étude de Barhoumi et al. dans laquelle les Treg diminuaient la pression artérielle des souris perfusées à l'Ang II (Barhoumi et al., 2011; Kvakan et al., 2009). Cette différence entre notre étude et celle de Barhoumi et al. est surprenante, car notre protocole d'injection de Treg était identique au leur, puisque nous avons collaboré avec leur laboratoire pour réaliser le modèle de souris. Nous avons utilisé la même souche de souris et le même protocole d'isolation et d'injection de cellule. Cet effet serait peut-être dû soit au lieu d'hébergement et au type de nourriture utilisé, soit au protocole de prise de pression. Nous avons utilisé le même appareil de prise de pression par manchon à la queue, cependant leur laboratoire a mesuré la pression trois fois par semaine. Dans notre laboratoire nous avons jugé que, le stress causé par cette procédure pourrait augmenter l'activation des lymphocytes T et participer à l'inflammation vasculaire (Marvar et al., 2012), c'est pourquoi nous avons décidé de prendre la pression artérielle seulement deux fois : le jour avant l'implantation des pompes et le jour précédant la chirurgie. Ce protocole n'a pas augmenté la pression artérielle des souris contrôle. Il est cependant possible qu'il ait eu un effet sur les souris perfusées à l'Ang II qui sont plus sensible au stress (Duchemin et al., 2013).

Nous avons établi que notre modèle montrait également des signes d'anxiété. Des polymorphismes des gènes codant pour l'enzyme de conversion de l'Ang ou le récepteur AT1 sont associés à plusieurs formes d'anxiété (Erhardt et al., 2007; Golding et al., 2011). Il est cependant difficile de savoir si celle-ci a joué un rôle dans les dysfonctions cognitives observées, car nous n'avons pu contrôler cet aspect de l'expérience. Il serait intéressant dans le future d'utiliser un anxiolytique, simultanément à la perfusion d'Ang II, pour déterminer si l'anxiété joue effectivement un rôle dans les dysfonctions cognitives observées. Une autre manière de diminuer l'anxiété chez ces animaux serait de modifier le protocole en prévoyant une période d'habituation aux conditions expérimentales. Le test de la piscine de Morris est excellent pour mesurer les capacités d'apprentissages, cependant les souris sont d'un naturel plus nerveux que d'autres espèces. Un temps d'adaptation supplémentaire pourrait donc diminuer l'effet de cette

variable. L'utilisation du test de Barnes serait également intéressant, car celui-ci n'implique pas de faire nager les animaux, ce qui peut être un facteur de stress en soi.

## **Conclusion**

Le modèle d'hypertension artérielle, causé par l'Ang II, étudié par notre équipe nous a donné la possibilité de mieux caractériser l'effet de l'Ang II sur les fonctions cérébrales. Cette étude nous a permis de différencier l'effet de l'Ang II de l'effet de l'hypertension artérielle sur la formation de  $\beta$ -amyloïdes. En plus de démontrer que la voie perforante de l'hippocampe est affectée par l'Ang II.

Cette étude nous a également permis de déterminer que le CNV est un mécanisme fragile et fortement influencé par le système immunitaire. Nous avons démontré qu'en présence d'Ang II, un déséquilibre de lymphocytes T en faveur des Th, diminue la réactivité cérébrovasculaire. Alors qu'un déséquilibre en faveur des Treg a pour effet d'augmenter cette réponse. Cependant, le rôle de l'IL-10 dans la fonction du CNV reste à étudier dans la mesure où l'effet observé ne se situe qu'au niveau du rétablissement du CNV. Le mécanisme emprunté par celle-ci pour modifier l'effet de l'Ang II restent donc à préciser.

Notre étude met en évidence un point important, qui est que l'implication du système immunitaire est une composante essentielle dans le développement des dysfonctions cérébrovasculaires causé par l'Ang II. Les dysfonctions du système immunitaire, responsables de l'inflammation cérébrale, sont présente dans un grand nombre de pathologies chroniques neurodégénératives telles que la maladie d'Alzheimer, les démences et la sclérose en plaque. Cette dernière participerait donc activement à l'évolution de ces maladies vers divers troubles cognitifs, ainsi que vers les démences. L'interaction du CNV avec le système immunitaire reste jusqu'à présent peu étudiée malgré les implications non-négligeables, tant au niveau clinique que pharmacologique. La compréhension des mécanismes impliqués dans l'altération des fonctions cognitives chez les patients hypertendus serait par conséquent primordiale pour prévenir l'apparition de démences dans cette population.

## Bibliographie

- Abramov, E., Dolev, I., Fogel, H., Ciccotosto, G.D., Ruff, E., Slutsky, I., 2009. Amyloid-beta as a positive endogenous regulator of release probability at hippocampal synapses. *Nat. Neurosci.* 12, 1567–1576. doi:10.1038/nn.2433
- Akdis, C.A., 2009. T cells in health and disease. *J. Allergy Clin. Immunol.* 123, 1022–1023. doi:10.1016/j.jaci.2009.03.034
- Albert, M.S., DeKosky, S.T., Dickson, D., Dubois, B., Feldman, H.H., Fox, N.C., Gamst, A., Holtzman, D.M., Jagust, W.J., Petersen, R.C., Snyder, P.J., Carrillo, M.C., Thies, B., Phelps, C.H., 2011. The diagnosis of mild cognitive impairment due to Alzheimer's disease: Recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement. J. Alzheimers Assoc.* 7, 270–279. doi:10.1016/j.jalz.2011.03.008
- Allen, A.M., Zhuo, J., Mendelsohn, F.A.O., 2000. Localization and function of angiotensin AT1 receptors. *Am. J. Hypertens.* 13, S31–S38. doi:10.1016/S0895-7061(99)00249-6
- Andresen, J., Shafi, N.I., Bryan, R.M., 2006. Endothelial influences on cerebrovascular tone. *J. Appl. Physiol.* 100, 318–327. doi:10.1152/jappphysiol.00937.2005
- Atkinson, R.C., Shiffrin, R.M., 1971. The control of short-term memory. *Sci. Am.* 225, 82–90.
- Baecher-Allan, C., Viglietta, V., Hafler, D.A., 2002. Inhibition of human CD4(+)CD25(+high) regulatory T cell function. *J. Immunol. Baltim. Md 1950* 169, 6210–6217.
- Barhoumi, T., Kasal, D.A., Li, M.W., Shbat, L., Laurant, P., Neves, M.F., Paradis, P., Schiffrin, E.L., 2011. T regulatory lymphocytes prevent angiotensin II-induced hypertension and vascular injury. *Hypertension* 57, 469–476. doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.110.162941
- Bateman, R.J., Munsell, L.Y., Morris, J.C., Swarm, R., Yarasheski, K.E., Holtzman, D.M., 2006. Human amyloid-beta synthesis and clearance rates as measured in cerebrospinal fluid in vivo. *Nat. Med.* 12, 856–861. doi:10.1038/nm1438
- Baumbach, G.L., Heistad, D.D., 1989. Remodeling of cerebral arterioles in chronic hypertension. *Hypertension* 13, 968–972.
- Ben-Ari, E.T., Garrison, J.C., 1988. Regulation of angiotensinogen mRNA accumulation in rat hepatocytes. *Am. J. Physiol.* 255, E70-79.
- Bild, W., Hritcu, L., Stefanescu, C., Ciobica, A., 2013. Inhibition of central angiotensin II enhances memory function and reduces oxidative stress status in rat hippocampus. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 43, 79–88. doi:10.1016/j.pnpbp.2012.12.009
- Bitan, G., Kirkitadze, M.D., Lomakin, A., Vollers, S.S., Benedek, G.B., Teplow, D.B., 2003. Amyloid beta -protein (A $\beta$ ) assembly: A $\beta$  40 and A $\beta$  42 oligomerize through distinct pathways. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 100, 330–335. doi:10.1073/pnas.222681699
- Bloch, S., Obari, D., Girouard, H., 2015. Angiotensin and neurovascular coupling: beyond hypertension. *Microcirculation n/a-n/a*. doi:10.1111/micc.12193
- Bodiga, V.L., Bodiga, S., 2013. Renin Angiotensin System in Cognitive Function and Dementia. *Asian J. Neurosci.* 2013. doi:10.1155/2013/102602
- Bohlen, H.G., 1989. The microcirculation in hypertension. *J. Hypertens. Suppl. Off. J. Int. Soc. Hypertens.* 7, S117-124.
- Bonder, D.E., McCarthy, K.D., 2014. Astrocytic Gq-GPCR-Linked IP3R-Dependent Ca<sup>2+</sup> Signaling Does Not Mediate Neurovascular Coupling in Mouse Visual Cortex In Vivo. *J. Neurosci.* 34, 13139–13150. doi:10.1523/JNEUROSCI.2591-14.2014
- Booth, J., 1977. A short history of blood pressure measurement. *Proc. R. Soc. Med.* 70, 793–799.

- Braak, H., Braak, E., 1991. Neuropathological staging of Alzheimer-related changes. *Acta Neuropathol. (Berl.)* 82, 239–259.
- Breitve, M.H., Hynninen, M.J., Brønnick, K., Chwiszczuk, L.J., Auestad, B.H., Aarsland, D., Rongve, A., 2016. A longitudinal study of anxiety and cognitive decline in dementia with Lewy bodies and Alzheimer's disease. *Alzheimers Res. Ther.* 8, 3. doi:10.1186/s13195-016-0171-4
- Brouillette, J., 2014. The effects of soluble A $\beta$  oligomers on neurodegeneration in Alzheimer's disease. *Curr. Pharm. Des.* 20, 2506–2519.
- Brown, A.M., Ransom, B.R., 2007. Astrocyte glycogen and brain energy metabolism. *Glia* 55, 1263–1271. doi:10.1002/glia.20557
- Buskila, Y., Abu-Ghanem, Y., Levi, Y., Moran, A., Grauer, E., Amitai, Y., 2007. Enhanced Astrocytic Nitric Oxide Production and Neuronal Modifications in the Neocortex of a NOS2 Mutant Mouse. *PLOS ONE* 2, e843. doi:10.1371/journal.pone.0000843
- Cai, H., Harrison, D.G., 2000. Endothelial dysfunction in cardiovascular diseases: the role of oxidant stress. *Circ. Res.* 87, 840–844.
- Caillon, A., Schiffrin, E.L., 2016. Role of Inflammation and Immunity in Hypertension: Recent Epidemiological, Laboratory, and Clinical Evidence. *Curr. Hypertens. Rep.* 18, 21. doi:10.1007/s11906-016-0628-7
- Capone, C., Faraco, G., Park, L., Cao, X., Davissou, R.L., Iadecola, C., 2011. The cerebrovascular dysfunction induced by slow pressor doses of angiotensin II precedes the development of hypertension. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 300, H397-407. doi:10.1152/ajpheart.00679.2010
- Carnevale, D., Mascio, G., D'Andrea, I., Fardella, V., Bell, R.D., Branchi, I., Pallante, F., Zlokovic, B., Yan, S.S., Lembo, G., 2012a. 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, 188–197. doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.112.195511
- Carnevale, D., Mascio, G., D'Andrea, I., Fardella, V., Bell, R.D., Branchi, I., Pallante, F., Zlokovic, B., Yan, S.S., Lembo, G., 2012b. HYPERTENSION INDUCES BRAIN  $\beta$ -AMYLOID ACCUMULATION, COGNITIVE IMPAIRMENT AND MEMORY DETERIORATION THROUGH ACTIVATION OF RAGE IN BRAIN VASCULATURE. *Hypertension* 60, 188–197. doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.112.195511
- Castrop, H., 2015. A role for AT1 receptor-associated proteins in blood pressure regulation. *Curr. Opin. Pharmacol.* 21, 43–47. doi:10.1016/j.coph.2014.12.009
- Chai, S.Y., Fernando, R., Peck, G., Ye, S.-Y., Mendelsohn, F. a. O., Jenkins, T.A., Albiston, A.L., 2004. The angiotensin IV/AT4 receptor. *Cell. Mol. Life Sci. CMLS* 61, 2728–2737. doi:10.1007/s00018-004-4246-1
- Chaudhry, A., Samstein, R.M., Treuting, P., Liang, Y., Pils, M.C., Heinrich, J.-M., Jack, R.S., Wunderlich, F.T., Brüning, J.C., Müller, W., Rudensky, A.Y., 2011. Interleukin-10 signaling in regulatory T cells is required for suppression of Th17 cell-mediated inflammation. *Immunity* 34, 566–578. doi:10.1016/j.immuni.2011.03.018
- Chen, B.R., Kozberg, M.G., Bouchard, M.B., Shaik, M.A., Hillman, E.M.C., 2014. A Critical Role for the Vascular Endothelium in Functional Neurovascular Coupling in the Brain. *J. Am. Heart Assoc. Cardiovasc. Cerebrovasc. Dis.* 3. doi:10.1161/JAHA.114.000787
- Chen, K.H.M., Henderson, V.W., Stolwyk, R.J., Dennerstein, L., Szoek, C., 2015. Prehypertension in midlife is associated with worse cognition a decade later in middle-aged and older women. *Age Ageing.* doi:10.1093/ageing/afv026

- Chiang, C.-Y., Wang, J., Xie, Y.-F., Zhang, S., Hu, J.W., Dostrovsky, J.O., Sessle, B.J., 2007. Astroglial Glutamate–Glutamine Shuttle Is Involved in Central Sensitization of Nociceptive Neurons in Rat Medullary Dorsal Horn. *J. Neurosci.* 27, 9068–9076. doi:10.1523/JNEUROSCI.2260-07.2007
- Cifuentes, D., Poittevin, M., Dere, E., Broquères-You, D., Bonnin, P., Benessiano, J., Pocard, M., Mariani, J., Kubis, N., Merkulova-Rainon, T., Lévy, B.I., 2015a. Hypertension accelerates the progression of Alzheimer-like pathology in a mouse model of the disease. *Hypertension* 65, 218–224. doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.114.04139
- Cifuentes, D., Poittevin, M., Dere, E., Broquères-You, D., Bonnin, P., Benessiano, J., Pocard, M., Mariani, J., Kubis, N., Merkulova-Rainon, T., Lévy, B.I., 2015b. Hypertension accelerates the progression of Alzheimer-like pathology in a mouse model of the disease. *Hypertens. Dallas Tex* 1979 65, 218–224. doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.114.04139
- Cipolla, M.J., 2009. Regulation of Cerebrovascular Tone. Morgan & Claypool Life Sciences.
- Cohen, S.L., Moore, A.M., Ward, W.E., 2004. Interleukin-10 knockout mouse: a model for studying bone metabolism during intestinal inflammation. *Inflamm. Bowel Dis.* 10, 557–563.
- Crowley, S.D., Song, Y.-S., Lin, E.E., Griffiths, R., Kim, H.-S., Ruiz, P., 2010. Lymphocyte responses exacerbate angiotensin II-dependent hypertension. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 298, R1089-1097. doi:10.1152/ajpregu.00373.2009
- De Ciuceis, C., Amiri, F., Brassard, P., Endemann, D.H., Touyz, R.M., Schiffrin, E.L., 2005. Reduced vascular remodeling, endothelial dysfunction, and oxidative stress in resistance arteries of angiotensin II-infused macrophage colony-stimulating factor-deficient mice: evidence for a role in inflammation in angiotensin-induced vascular injury. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 25, 2106–2113. doi:10.1161/01.ATV.0000181743.28028.57
- Del Prete, G., De Carli, M., Almerigogna, F., Giudizi, M.G., Biagiotti, R., Romagnani, S., 1993. Human IL-10 is produced by both type 1 helper (Th1) and type 2 helper (Th2) T cell clones and inhibits their antigen-specific proliferation and cytokine production. *J. Immunol. Baltim. Md* 1950 150, 353–360.
- Deschepper, C.F., Bouhnik, J., Ganong, W.F., 1986. Colocalization of angiotensinogen and glial fibrillary acidic protein in astrocytes in rat brain. *Brain Res.* 374, 195–198.
- Deshpande, A., Mina, E., Glabe, C., Busciglio, J., 2006. Different Conformations of Amyloid  $\beta$  Induce Neurotoxicity by Distinct Mechanisms in Human Cortical Neurons. *J. Neurosci.* 26, 6011–6018. doi:10.1523/JNEUROSCI.1189-06.2006
- D’Hooge, R., De Deyn, P.P., 2001. Applications of the Morris water maze in the study of learning and memory. *Brain Res. Brain Res. Rev.* 36, 60–90.
- Di Bari, M., Pahor, M., Franse, L.V., Shorr, R.I., Wan, J.Y., Ferrucci, L., Somes, G.W., Applegate, W.B., 2001. Dementia and disability outcomes in large hypertension trials: lessons learned from the systolic hypertension in the elderly program (SHEP) trial. *Am. J. Epidemiol.* 153, 72–78.
- Didion, S.P., Kinzenbaw, D.A., Schrader, L.I., Chu, Y., Faraci, F.M., 2009. Endogenous interleukin-10 inhibits angiotensin II-induced vascular dysfunction. *Hypertension* 54, 619–624. doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.109.137158
- Diz, D.I., 2006. Approaches to Establishing Angiotensin II as a Neurotransmitter Revisited. *Hypertension* 47, 334–336. doi:10.1161/01.HYP.0000203146.72879.c3
- Duchemin, S., Belanger, E., Wu, R., Ferland, G., Girouard, H., 2013. Chronic perfusion of angiotensin II causes cognitive dysfunctions and anxiety in mice. *Physiol. Behav.* 109, 63–68. doi:10.1016/j.physbeh.2012.10.005
- Duling, B.R., Berne, R.M., 1970. Propagated vasodilation in the microcirculation of the hamster cheek pouch. *Circ. Res.* 26, 163–170.

- Dzau, V.J., Ingelfinger, J., Pratt, R.E., Ellison, K.E., 1986. Identification of renin and angiotensinogen messenger RNA sequences in mouse and rat brains. *Hypertension* 8, 544–548.  
doi:10.1161/01.HYP.8.6.544
- Elias, M.F., Wolf, P.A., D’Agostino, R.B., Cobb, J., White, L.R., 1993. Untreated Blood Pressure Level Is Inversely Related to Cognitive Functioning: The Framingham Study. *Am. J. Epidemiol.* 138, 353–364.
- Erhardt, A., Lucae, S., Unschuld, P.G., Ising, M., Kern, N., Salyakina, D., Lieb, R., Uhr, M., Binder, E.B., Keck, M.E., Müller-Myhsok, B., Holsboer, F., 2007. Association of polymorphisms in P2RX7 and CaMKKb with anxiety disorders. *J. Affect. Disord.* 101, 159–168.  
doi:10.1016/j.jad.2006.11.016
- Erkinjuntti, T., Østbye, T., Steenhuis, R., Hachinski, V., 1997. The Effect of Different Diagnostic Criteria on the Prevalence of Dementia. *N. Engl. J. Med.* 337, 1667–1674.  
doi:10.1056/NEJM199712043372306
- Esiri, M.M., 2000. Which vascular lesions are of importance in vascular dementia? *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 903, 239–243.
- Fanselow, M.S., Dong, H.-W., 2010a. Are The Dorsal and Ventral Hippocampus functionally distinct structures? *Neuron* 65, 7. doi:10.1016/j.neuron.2009.11.031
- Fanselow, M.S., Dong, H.-W., 2010b. Are The Dorsal and Ventral Hippocampus functionally distinct structures? *Neuron* 65, 7. doi:10.1016/j.neuron.2009.11.031
- Faraci, F.M., 2011. Protecting against vascular disease in brain. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 300, H1566-1582. doi:10.1152/ajpheart.01310.2010
- Faraco, G., Sugiyama, Y., Lane, D., Garcia-Bonilla, L., Chang, H., Santisteban, M.M., Racchumi, G., Murphy, M., Van Rooijen, N., Anrather, J., Iadecola, C., 2016. Perivascular macrophages mediate the neurovascular and cognitive dysfunction associated with hypertension. *J. Clin. Invest.* doi:10.1172/JCI86950
- Farkas, E., De Jong, G.I., de Vos, R.A., Jansen Steur, E.N., Luiten, P.G., 2000. Pathological features of cerebral cortical capillaries are doubled in Alzheimer’s disease and Parkinson’s disease. *Acta Neuropathol. (Berl.)* 100, 395–402.
- Figuroa, X.F., Duling, B.R., 2009. Gap junctions in the control of vascular function. *Antioxid. Redox Signal.* 11, 251–266. doi:10.1089/ars.2008.2117
- Fogari, R., Mugellini, A., Zoppi, A., Lazzari, P., Destro, M., Rinaldi, A., Preti, P., 2006. Effect of telmisartan/hydrochlorothiazide vs lisinopril/hydrochlorothiazide combination on ambulatory blood pressure and cognitive function in elderly hypertensive patients. *J. Hum. Hypertens.* 20, 177–185. doi:10.1038/sj.jhh.1001964
- Fogari, R., Mugellini, A., Zoppi, A., Marasi, G., Pasotti, C., Poletti, L., Rinaldi, A., Preti, P., 2004. Effects of valsartan compared with enalapril on blood pressure and cognitive function in elderly patients with essential hypertension. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 59, 863–868.  
doi:10.1007/s00228-003-0717-9
- Fontenot, J.D., Gavin, M.A., Rudensky, A.Y., 2003. Foxp3 programs the development and function of CD4+CD25+ regulatory T cells. *Nat. Immunol.* 4, 330–336. doi:10.1038/ni904
- Fontenot, J.D., Rasmussen, J.P., Williams, L.M., Dooley, J.L., Farr, A.G., Rudensky, A.Y., 2005. Regulatory T cell lineage specification by the forkhead transcription factor foxp3. *Immunity* 22, 329–341. doi:10.1016/j.immuni.2005.01.016
- Forette, F., Seux, M.-L., Staessen, J.A., Thijs, L., Babarskiene, M.-R., Babeanu, S., Bossini, A., Fagard, R., Gil-Extremera, B., Laks, T., Kopalava, Z., Sarti, C., Tuomilehto, J., Vanhanen, H., Webster, J., Yodfat, Y., Birkenhäger, W.H., Systolic Hypertension in Europe Investigators, 2002. The

- prevention of dementia with antihypertensive treatment: new evidence from the Systolic Hypertension in Europe (Syst-Eur) study. *Arch. Intern. Med.* 162, 2046–2052.
- Forette, F., Seux, M.L., Staessen, J.A., Thijs, L., Birkenhäger, W.H., Babarskiene, M.R., Babeanu, S., Bossini, A., Gil-Extremera, B., Girerd, X., Laks, T., Lilov, E., Moisseiev, V., Tuomilehto, J., Vanhanen, H., Webster, J., Yodfat, Y., Fagard, R., 1998. Prevention of dementia in randomised double-blind placebo-controlled Systolic Hypertension in Europe (Syst-Eur) trial. *Lancet Lond. Engl.* 352, 1347–1351.
- Franceschi, C., Valensin, S., Bonafè, M., Paolisso, G., Yashin, A.I., Monti, D., De Benedictis, G., 2000. The network and the remodeling theories of aging: historical background and new perspectives. *Exp. Gerontol.* 35, 879–896.
- Funato, H., Yoshimura, M., Kusui, K., Tamaoka, A., Ishikawa, K., Ohkoshi, N., Namekata, K., Okeda, R., Ihara, Y., 1998. Quantitation of amyloid beta-protein (A beta) in the cortex during aging and in Alzheimer's disease. *Am. J. Pathol.* 152, 1633–1640.
- Garcia-Osta, A., Alberini, C.M., 2009. Amyloid beta mediates memory formation. *Learn. Mem.* 16, 267–272. doi:10.1101/lm.1310209
- Garrido, A.M., Griendling, K.K., 2009. NADPH Oxidases and Angiotensin II Receptor Signaling. *Mol. Cell. Endocrinol.* 302, 148–158. doi:10.1016/j.mce.2008.11.003
- Gentile, M.T., Poulet, R., Di Pardo, A., Cifelli, G., Maffei, A., Vecchione, C., Passarelli, F., Landolfi, A., Carullo, P., Lembo, G., 2009. Beta-amyloid deposition in brain is enhanced in mouse models of arterial hypertension. *Neurobiol. Aging* 30, 222–228. doi:10.1016/j.neurobiolaging.2007.06.005
- Georgiev, V., Yonkov, D., 1985. Participation of angiotensin II in learning and memory. I. Interaction of angiotensin II with saralasin. *Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol.* 7, 415–418.
- Girouard, H., Bonev, A.D., Hannah, R.M., Meredith, A., Aldrich, R.W., Nelson, M.T., 2010. Astrocytic endfoot Ca<sup>2+</sup> and BK channels determine both arteriolar dilation and constriction. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 107, 3811–3816. doi:10.1073/pnas.0914722107
- Girouard, H., Lessard, A., Capone, C., Milner, T.A., Iadecola, C., 2008. The neurovascular dysfunction induced by angiotensin II in the mouse neocortex is sexually dimorphic. *Am. J. Physiol. - Heart Circ. Physiol.* 294, H156–H163. doi:10.1152/ajpheart.01137.2007
- Girouard, H., Park, L., Anrather, J., Zhou, P., Iadecola, C., 2007. Cerebrovascular nitrosative stress mediates neurovascular and endothelial dysfunction induced by angiotensin II. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 27, 303–309. doi:10.1161/01.ATV.0000253885.41509.25
- Girouard, H., Park, L., Anrather, J., Zhou, P., Iadecola, C., 2006. Angiotensin II attenuates endothelium-dependent responses in the cerebral microcirculation through nox-2-derived radicals. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 26, 826–832. doi:10.1161/01.ATV.0000205849.22807.6e
- Giuffrida, M.L., Caraci, F., Pignataro, B., Cataldo, S., De Bona, P., Bruno, V., Molinaro, G., Pappalardo, G., Messina, A., Palmigiano, A., Garozzo, D., Nicoletti, F., Rizzarelli, E., Copani, A., 2009. Beta-amyloid monomers are neuroprotective. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 29, 10582–10587. doi:10.1523/JNEUROSCI.1736-09.2009
- Golding, B.J., Overall, A.D., Gard, P.R., 2011. Strain differences and the role of AT(1) receptor expression in anxiety. *Int. J. Mol. Epidemiol. Genet.* 2, 51–55.
- Gottesman, R.F., Schneider, A.L.C., Albert, M., Alonso, A., Bandeen-Roche, K., Coker, L., Coresh, J., Knopman, D., Power, M.C., Rawlings, A., Sharrett, A.R., Wruck, L.M., Mosley, T.H., 2014. Midlife hypertension and 20-year cognitive change: the atherosclerosis risk in communities neurocognitive study. *JAMA Neurol.* 71, 1218–1227. doi:10.1001/jamaneurol.2014.1646
- Grill, J.D., Riddle, D.R., 2002. Age-related and laminar-specific dendritic changes in the medial frontal cortex of the rat. *Brain Res.* 937, 8–21.

- Grossman, E., Nadler, M., Sharabi, Y., Thaler, M., Shachar, A., Shamiss, A., 2005. Antianxiety treatment in patients with excessive hypertension. *Am. J. Hypertens.* 18, 1174–1177. doi:10.1016/j.amjhyper.2005.03.728
- Groux, H., O’Garra, A., Bigler, M., Rouleau, M., Antonenko, S., de Vries, J.E., Roncarolo, M.G., 1997. A CD4<sup>+</sup> T-cell subset inhibits antigen-specific T-cell responses and prevents colitis. *Nature* 389, 737–742. doi:10.1038/39614
- Guzik, T.J., Hoch, N.E., Brown, K.A., McCann, L.A., Rahman, A., Dikalov, S., Goronzy, J., Weyand, C., Harrison, D.G., 2007. Role of the T cell in the genesis of angiotensin II–induced hypertension and vascular dysfunction. *J. Exp. Med.* 204, 2449–2460. doi:10.1084/jem.20070657
- Haight, T.J., Bryan, R.N., Erus, G., Davatzikos, C., Jacobs, D.R., D’Esposito, M., Lewis, C.E., Launer, L.J., 2015. Vascular risk factors, cerebrovascular reactivity, and the default-mode brain network. *NeuroImage*. doi:10.1016/j.neuroimage.2015.04.039
- Hajjar, I., Hart, M., Chen, Y.-L., Mack, W., Novak, V., C Chui, H., Lipsitz, L., 2013. Antihypertensive therapy and cerebral hemodynamics in executive mild cognitive impairment: results of a pilot randomized clinical trial. *J. Am. Geriatr. Soc.* 61, 194–201. doi:10.1111/jgs.12100
- Hardy, J., Selkoe, D.J., 2002. The amyloid hypothesis of Alzheimer’s disease: progress and problems on the road to therapeutics. *Science* 297, 353–356. doi:10.1126/science.1072994
- Harrison, D.G., Marvar, P.J., Titze, J.M., 2012. Vascular Inflammatory Cells in Hypertension. *Front. Physiol.* 3. doi:10.3389/fphys.2012.00128
- Haruyama, N., Fujisaki, K., Yamato, M., Eriguchi, M., Noguchi, H., Torisu, K., Tsuruya, K., Kitazono, T., 2014. Improvement in spatial memory dysfunction by telmisartan through reduction of brain angiotensin II and oxidative stress in experimental uremic mice. *Life Sci.* 113, 55–59. doi:10.1016/j.lfs.2014.07.032
- Hayden, E.Y., Teplow, D.B., 2013. Amyloid  $\beta$ -protein oligomers and Alzheimer’s disease. *Alzheimers Res. Ther.* 5, 60. doi:10.1186/alzrt226
- Hecker, M., 2000. Endothelium-Derived Hyperpolarizing Factor—Fact or Fiction? *Physiology* 15, 1–5.
- Hendrie, H.C., Hake, A., Lane, K., Purnell, C., Unverzagt, F., Smith-Gamble, V., Murrell, J., Ogunniyi, A., Baiyewu, O., Callahan, C., Saykin, A., Taylor, S., Hall, K., Gao, S., 2015. Statin Use, Incident Dementia and Alzheimer Disease in Elderly African Americans. *Ethn. Dis.* 25, 345–354. doi:10.18865/ed.25.3.345
- Hillman, E.M.C., 2014. Coupling Mechanism and Significance of the BOLD Signal: A Status Report. *Annu. Rev. Neurosci.* 37, 161–181. doi:10.1146/annurev-neuro-071013-014111
- Hoch, N.E., Guzik, T.J., Chen, W., Deans, T., Maalouf, S.A., Gratze, P., Weyand, C., Harrison, D.G., 2009. Regulation of T-cell function by endogenously produced angiotensin II. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 296, R208–216. doi:10.1152/ajpregu.90521.2008
- Hori, S., Nomura, T., Sakaguchi, S., 2003. Control of regulatory T cell development by the transcription factor Foxp3. *Science* 299, 1057–1061. doi:10.1126/science.1079490
- Hsia, A.Y., Masliah, E., McConlogue, L., Yu, G.Q., Tatsuno, G., Hu, K., Kholodenko, D., Malenka, R.C., Nicoll, R.A., Mucke, L., 1999. Plaque-independent disruption of neural circuits in Alzheimer’s disease mouse models. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 96, 3228–3233.
- Huber, S., Gagliani, N., Esplugues, E., O’Connor, W., Huber, F.J., Chaudhry, A., Kamanaka, M., Kobayashi, Y., Booth, C.J., Rudensky, A.Y., Roncarolo, M.G., Battaglia, M., Flavell, R.A., 2011. Th17 cells express interleukin-10 receptor and are controlled by Foxp3<sup>+</sup> and Foxp3<sup>+</sup> regulatory CD4<sup>+</sup> T cells in an interleukin-10-dependent manner. *Immunity* 34, 554–565. doi:10.1016/j.immuni.2011.01.020
- Iadecola, C., Davisson, R.L., 2008. Hypertension and cerebrovascular dysfunction. *Cell Metab.* 7, 476–484. doi:10.1016/j.cmet.2008.03.010



- Inaba, S., Iwai, M., Furuno, M., Tomono, Y., Kanno, H., Senba, I., Okayama, H., Mogi, M., Higaki, J., Horiuchi, M., 2009. Continuous Activation of Renin-Angiotensin System Impairs Cognitive Function in Renin/Angiotensinogen Transgenic Mice. *Hypertension* 53, 356–362. doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.108.123612
- Jankovic, D., Kullberg, M.C., Feng, C.G., Goldszmid, R.S., Collazo, C.M., Wilson, M., Wynn, T.A., Kamanaka, M., Flavell, R.A., Sher, A., 2007. Conventional T-bet(+)Foxp3(-) Th1 cells are the major source of host-protective regulatory IL-10 during intracellular protozoan infection. *J. Exp. Med.* 204, 273–283. doi:10.1084/jem.20062175
- Ji, J., Maren, S., 2008. Differential roles for hippocampal areas CA1 and CA3 in the contextual encoding and retrieval of extinguished fear. *Learn. Mem.* 15, 244–251. doi:10.1101/lm.794808
- Johnson, R.J., Feig, D.I., Nakagawa, T., Sanchez-Lozada, L.G., Rodriguez-Iturbe, B., 2008. Pathogenesis of essential hypertension: historical paradigms and modern insights. *J. Hypertens.* 26, 381–391. doi:10.1097/HJH.0b013e3282f29876
- Kang, Y.-M., Ma, Y., Elks, C., Zheng, J.-P., Yang, Z.-M., Francis, J., 2008. Cross-talk between cytokines and renin-angiotensin in hypothalamic paraventricular nucleus in heart failure: role of nuclear factor-kappaB. *Cardiovasc. Res.* 79, 671–678. doi:10.1093/cvr/cvn119
- Kassan, M., Galan, M., Partyka, M., Trebak, M., Matrougui, K., 2011. Interleukin-10 released by CD4(+)CD25(+) natural regulatory T cells improves microvascular endothelial function through inhibition of NADPH oxidase activity in hypertensive mice. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 31, 2534–2542. doi:10.1161/ATVBAHA.111.233262
- Kawada, N., Imai, E., Karber, A., Welch, W.J., Wilcox, C.S., 2002. A Mouse Model of Angiotensin II Slow Pressor Response: Role of Oxidative Stress. *J. Am. Soc. Nephrol.* 13, 2860–2868. doi:10.1097/01.ASN.0000035087.11758.ED
- Kazama, K., Anrather, J., Zhou, P., Girouard, H., Frys, K., Milner, T.A., Iadecola, C., 2004. Angiotensin II impairs neurovascular coupling in neocortex through NADPH oxidase-derived radicals. *Circ. Res.* 95, 1019–1026. doi:10.1161/01.RES.0000148637.85595.c5
- Kesner, R.P., 2007. Behavioral functions of the CA3 subregion of the hippocampus. *Learn. Mem. Cold Spring Harb. N* 14, 771–781. doi:10.1101/lm.688207
- Kesner, R.P., Lee, I., Gilbert, P., 2004. A behavioral assessment of hippocampal function based on a subregional analysis. *Rev. Neurosci.* 15, 333–351.
- Kheirbek, M.A., Hen, R., 2011. Dorsal vs Ventral Hippocampal Neurogenesis: Implications for Cognition and Mood. *Neuropsychopharmacology* 36, 373–374. doi:10.1038/npp.2010.148
- Kimura, A., Kishimoto, T., 2010. IL-6: regulator of Treg/Th17 balance. *Eur. J. Immunol.* 40, 1830–1835. doi:10.1002/eji.201040391
- Kizilbash, A.H., Vanderploeg, R.D., Curtiss, G., 2002. The effects of depression and anxiety on memory performance. *Arch. Clin. Neuropsychol.* 17, 57–67. doi:10.1016/S0887-6177(00)00101-3
- Koehler, R.C., Gebremedhin, D., Harder, D.R., 2006. Role of astrocytes in cerebrovascular regulation. *J. Appl. Physiol. Bethesda Md* 100, 307–317. doi:10.1152/jappphysiol.00938.2005
- Kunzelmann, P., Schröder, W., Traub, O., Steinhäuser, C., Dermietzel, R., Willecke, K., 1999. Late onset and increasing expression of the gap junction protein connexin30 in adult murine brain and long-term cultured astrocytes. *Glia* 25, 111–119.
- Kuusisto, J., Koivisto, K., Mykkänen, L., Helkala, E.L., Vanhanen, M., Hänninen, T., Pyörälä, K., Riekkinen, P., Laakso, M., 1993. Essential hypertension and cognitive function. The role of hyperinsulinemia. *Hypertension* 22, 771–779. doi:10.1161/01.HYP.22.5.771

- Kuwabara, Y., Ichiya, Y., Sasaki, M., Yoshida, T., Fukumura, T., Masuda, K., Ibayashi, S., Fujishima, M., 1996. Cerebral blood flow and vascular response to hypercapnia in hypertensive patients with leukoaraiosis. *Ann. Nucl. Med.* 10, 293–298.
- Kvakan, H., Kleinewietfeld, M., Qadri, F., Park, J.-K., Fischer, R., Schwarz, I., Rahn, H.-P., Plehm, R., Wellner, M., Elitok, S., Grätze, P., Dechend, R., Luft, F.C., Müller, D.N., 2009. Regulatory T cells ameliorate angiotensin II-induced cardiac damage. *Circulation* 119, 2904–2912. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.108.832782
- Kwon, S.E., Chapman, E.R., 2011. Synaptophysin regulates the kinetics of synaptic vesicle endocytosis in central neurons. *Neuron* 70, 847–854. doi:10.1016/j.neuron.2011.04.001
- Lange, A., Gebremedhin, D., Narayanan, J., Harder, D., 1997. 20-Hydroxyeicosatetraenoic Acid-induced Vasoconstriction and Inhibition of Potassium Current in Cerebral Vascular Smooth Muscle Is Dependent on Activation of Protein Kinase C. *J. Biol. Chem.* 272, 27345–27352. doi:10.1074/jbc.272.43.27345
- Lassen, N.A., Agnoli, A., 1972. The upper limit of autoregulation of cerebral blood flow--on the pathogenesis of hypertensive encephalopathy. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 30, 113–116.
- Lavric, A., Rippon, G., Gray, J.R., 2003. Threat-Evoked Anxiety Disrupts Spatial Working Memory Performance: An Attentional Account. *Cogn. Ther. Res.* 27, 489–504. doi:10.1023/A:1026300619569
- Lee, I., Kesner, R.P., 2004. Encoding versus retrieval of spatial memory: double dissociation between the dentate gyrus and the perforant path inputs into CA3 in the dorsal hippocampus. *Hippocampus* 14, 66–76. doi:10.1002/hipo.10167
- León, K., Pérez, R., Lage, A., Carneiro, J., 2000. Modelling T-cell-mediated suppression dependent on interactions in multicellular conjugates. *J. Theor. Biol.* 207, 231–254. doi:10.1006/jtbi.2000.2169
- Lind, W., Swanson, L.W., Ganten, D., 2004. Organization of Angiotensin II Immunoreactive Cells and Fibers in the Rat Central Nervous System. *Neuroendocrinology* 40, 2–24. doi:10.1159/000124046
- Lithell, H., Hansson, L., Skoog, I., Elmfeldt, D., Hofman, A., Olofsson, B., Trenkwalder, P., Zanchetti, A., SCOPE Study Group, 2003. The Study on Cognition and Prognosis in the Elderly (SCOPE): principal results of a randomized double-blind intervention trial. *J. Hypertens.* 21, 875–886. doi:10.1097/01.hjh.0000059028.82022.89
- Liu, X., Miller, M.J., Joshi, M.S., Sadowska-Krowicka, H., Clark, D.A., Lancaster, J.R., 1998. Diffusion-limited reaction of free nitric oxide with erythrocytes. *J. Biol. Chem.* 273, 18709–18713.
- Lob, H.E., Schultz, D., Marvar, P.J., Davisson, R.L., Harrison, D.G., 2013. Role of the NADPH oxidases in the subfornical organ in angiotensin II-induced hypertension. *Hypertens. Dallas Tex* 1979 61, 382–387. doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.111.00546
- Love, S., 2005. Neuropathological investigation of dementia: a guide for neurologists. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 76, v8–v14. doi:10.1136/jnnp.2005.080754
- Lovren, F., Triggle, C., 2000. Nitric oxide and sodium nitroprusside-induced relaxation of the human umbilical artery. *Br. J. Pharmacol.* 131, 521–529. doi:10.1038/sj.bjp.0703588
- Lucas, F.V., Skrinska, V.A., Chisolm, G.M., Hesse, B.L., 1986. Stability of prostacyclin in human and rabbit whole blood and plasma. *Thromb. Res.* 43, 379–387.
- Lue, L.F., Kuo, Y.M., Roher, A.E., Brachova, L., Shen, Y., Sue, L., Beach, T., Kurth, J.H., Rydel, R.E., Rogers, J., 1999. Soluble amyloid beta peptide concentration as a predictor of synaptic change in Alzheimer's disease. *Am. J. Pathol.* 155, 853–862.

- Madhur, M.S., Lob, H.E., McCann, L.A., Iwakura, Y., Blinder, Y., Guzik, T.J., Harrison, D.G., 2010. Interleukin 17 promotes angiotensin II-induced hypertension and vascular dysfunction. *Hypertens. Dallas Tex* 1979 55, 500–507. doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.109.145094
- Marieb, E., 2008. *Biologie humaine: Principes d’anatomie et de physiologie*. Pearson.
- Marvar, P.J., Thabet, S.R., Guzik, T.J., Lob, H.E., McCann, L.A., Weyand, C., Gordon, F.J., Harrison, D.G., 2010. Central and Peripheral Mechanisms of T-Lymphocyte Activation and Vascular Inflammation Produced by Angiotensin II–Induced Hypertension. *Circ. Res.* 107, 263–270. doi:10.1161/CIRCRESAHA.110.217299
- Marvar, P.J., Vinh, A., Thabet, S., Lob, H.E., Geem, D., Ressler, K.J., Harrison, D.G., 2012. T lymphocytes and vascular inflammation contribute to stress-dependent hypertension. *Biol. Psychiatry* 71, 774–782. doi:10.1016/j.biopsych.2012.01.017
- Matavelli, L.C., Siragy, H.M., 2015. AT2 receptor activities and pathophysiological implications. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 65, 226–232. doi:10.1097/FJC.0000000000000208
- Matrougui, K., Abd Elmageed, Z., Zakaria, A.E., Kassan, M., Choi, S., Nair, D., Gonzalez-Villalobos, R.A., Chentoufi, A.A., Kadowitz, P., Belmadani, S., Partyka, M., 2011. Natural regulatory T cells control coronary arteriolar endothelial dysfunction in hypertensive mice. *Am. J. Pathol.* 178, 434–441. doi:10.1016/j.ajpath.2010.11.034
- McLaughlin, T., Geissler, E.C., Wan, G.J., 2003. Comorbidities and associated treatment charges in patients with anxiety disorders. *Pharmacotherapy* 23, 1251–1256.
- Miller, A.A., Drummond, G.R., Schmidt, H.H.H.W., Sobey, C.G., 2005. NADPH Oxidase Activity and Function Are Profoundly Greater in Cerebral Versus Systemic Arteries. *Circ. Res.* 97, 1055–1062. doi:10.1161/01.RES.0000189301.10217.87
- Min, L.-J., Mogi, M., Iwanami, J., Sakata, A., Jing, F., Tsukuda, K., Ohshima, K., Horiuchi, M., 2011. Angiotensin II and aldosterone-induced neuronal damage in neurons through an astrocyte-dependent mechanism. *Hypertens. Res. Off. J. Jpn. Soc. Hypertens.* 34, 773–778. doi:10.1038/hr.2011.38
- Miwa, C., Ueki, A., Shinjo, H., Simode, H., Morita, Y., 2001. Long-term synaptic alteration in the rat hippocampal CA3 field following an entorhinal cortex lesion. *Psychiatry Clin. Neurosci.* 55, 573–578. doi:10.1046/j.1440-1819.2001.00908.x
- Mori, H., Takio, K., Ogawara, M., Selkoe, D.J., 1992. Mass spectrometry of purified amyloid beta protein in Alzheimer’s disease. *J. Biol. Chem.* 267, 17082–17086.
- Moser, M.B., Moser, E.I., Forrest, E., Andersen, P., Morris, R.G., 1995. Spatial learning with a minislab in the dorsal hippocampus. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 92, 9697–9701.
- Mucke, L., Masliah, E., Yu, G.Q., Mallory, M., Rockenstein, E.M., Tatsuno, G., Hu, K., Kholodenko, D., Johnson-Wood, K., McConlogue, L., 2000. High-level neuronal expression of abeta 1-42 in wild-type human amyloid protein precursor transgenic mice: synaptotoxicity without plaque formation. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 20, 4050–4058.
- Muller, D.N., Shagdarsuren, E., Park, J.-K., Dechend, R., Mervaala, E., Hampich, F., Fiebeler, A., Ju, X., Finckenberg, P., Theuer, J., Viedt, C., Kreuzer, J., Heidecke, H., Haller, H., Zenke, M., Luft, F.C., 2002. Immunosuppressive treatment protects against angiotensin II-induced renal damage. *Am. J. Pathol.* 161, 1679–1693. doi:10.1016/S0002-9440(10)64445-8
- Nakazawa, K., McHugh, T.J., Wilson, M.A., Tonegawa, S., 2004. NMDA receptors, place cells and hippocampal spatial memory. *Nat. Rev. Neurosci.* 5, 361–372. doi:10.1038/nrn1385
- Nakazawa, K., Quirk, M.C., Chitwood, R.A., Watanabe, M., Yeckel, M.F., Sun, L.D., Kato, A., Carr, C.A., Johnston, D., Wilson, M.A., Tonegawa, S., 2002. Requirement for hippocampal CA3 NMDA receptors in associative memory recall. *Science* 297, 211–218. doi:10.1126/science.1071795

- Näslund, J., Schierhorn, A., Hellman, U., Lannfelt, L., Roses, A.D., Tjernberg, L.O., Silberring, J., Gandy, S.E., Winblad, B., Greengard, P., 1994. Relative abundance of Alzheimer A beta amyloid peptide variants in Alzheimer disease and normal aging. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 91, 8378–8382.
- Nataraj, C., Oliverio, M.I., Mannon, R.B., Mannon, P.J., Audoly, L.P., Amuchastegui, C.S., Ruiz, P., Smithies, O., Coffman, T.M., 1999. Angiotensin II regulates cellular immune responses through a calcineurin-dependent pathway. *J. Clin. Invest.* 104, 1693–1701. doi:10.1172/JCI7451
- Neuwelt, E.A., Bauer, B., Fahlke, C., Fricker, G., Iadecola, C., Janigro, D., Leybaert, L., Molnar, Z., O'Donnell, M., Povlishock, J., Saunders, N., Sharp, F., Stanimirovic, D., Watts, R., Drewes, L., 2011. Engaging Neuroscience to Advance Translational Research in Brain Barrier Biology. *Nat. Rev. Neurosci.* 12, 169–182. doi:10.1038/nrn2995
- Niedbala, W., Besnard, A.-G., Jiang, H.R., Alves-Filho, J.C., Fukada, S.Y., Nascimento, D., Mitani, A., Pushparaj, P., Alqahtani, M.H., Liew, F.Y., 2013. Nitric oxide-induced regulatory T cells inhibit Th17 but not Th1 cell differentiation and function. *J. Immunol. Baltim. Md 1950* 191, 164–170. doi:10.4049/jimmunol.1202580
- Niedbala, W., Cai, B., Liu, H., Pitman, N., Chang, L., Liew, F.Y., 2007. Nitric oxide induces CD4+CD25+ Foxp3 regulatory T cells from CD4+CD25 T cells via p53, IL-2, and OX40. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 104, 15478–15483. doi:10.1073/pnas.0703725104
- Niwa, K., Carlson, G.A., Iadecola, C., 2000. Exogenous A beta1-40 reproduces cerebrovascular alterations resulting from amyloid precursor protein overexpression in mice. *J. Cereb. Blood Flow Metab. Off. J. Int. Soc. Cereb. Blood Flow Metab.* 20, 1659–1668. doi:10.1097/00004647-200012000-00005
- Nizar, K., Uhlirova, H., Tian, P., Saisan, P.A., Cheng, Q., Reznichenko, L., Weldy, K.L., Steed, T.C., Sridhar, V.B., MacDonald, C.L., Cui, J., Gratiy, S.L., Sakadzić, S., Boas, D.A., Beka, T.I., Einevoll, G.T., Chen, J., Masliah, E., Dale, A.M., Silva, G.A., Devor, A., 2013. In vivo stimulus-induced vasodilation occurs without IP3 receptor activation and may precede astrocytic calcium increase. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 33, 8411–8422. doi:10.1523/JNEUROSCI.3285-12.2013
- Obisesan, T.O., 2009. Hypertension and Cognitive Function. *Clin. Geriatr. Med.* 25, 259–288. doi:10.1016/j.cger.2009.03.002
- O'Brien, M.D., 1988. Vascular dementia is underdiagnosed. *Arch. Neurol.* 45, 797–798.
- O'Farrell, A.M., Liu, Y., Moore, K.W., Mui, A.L., 1998. IL-10 inhibits macrophage activation and proliferation by distinct signaling mechanisms: evidence for Stat3-dependent and -independent pathways. *EMBO J.* 17, 1006–1018. doi:10.1093/emboj/17.4.1006
- Ongali, B., Nicolakakis, N., Tong, X.-K., Aboukassim, T., Papadopoulos, P., Rosa-Neto, P., Lecrux, C., Imboden, H., Hamel, E., 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, 126–136. doi:10.1016/j.nbd.2014.04.018
- O'Reilly, K.C., Flatberg, A., Islam, S., Olsen, L.C., Krüge, I.U., Witter, M.P., 2015. Identification of dorsal-ventral hippocampal differentiation in neonatal rats. *Brain Struct. Funct.* 220, 2873–2893. doi:10.1007/s00429-014-0831-8
- Otsu, Y., Couchman, K., Lyons, D.G., Collot, M., Agarwal, A., Mallet, J.-M., Pfrieger, F.W., Bergles, D.E., Charpak, S., 2015. Calcium dynamics in astrocyte processes during neurovascular coupling. *Nat. Neurosci.* 18, 210–218. doi:10.1038/nn.3906
- Padurariu, M., Ciobica, A., Mavroudis, I., Fotiou, D., Baloyannis, S., 2012. Hippocampal neuronal loss in the CA1 and CA3 areas of Alzheimer's disease patients. *Psychiatr. Danub.* 24, 152–158.

- Paiardi, S., Rodella, L.F., De Ciuceis, C., Porteri, E., Boari, G.E.M., Rezzani, R., Rizzardi, N., Platto, C., Tiberio, G.A.M., Giulini, S.M., Rizzoni, D., Agabiti-Rosei, E., 2009. Immunohistochemical evaluation of microvascular rarefaction in hypertensive humans and in spontaneously hypertensive rats. *Clin. Hemorheol. Microcirc.* 42, 259–268. doi:10.3233/CH-2009-1195
- Paukert, M., Agarwal, A., Cha, J., Doze, V.A., Kang, J.U., Bergles, D.E., 2014. Norepinephrine controls astroglial responsiveness to local circuit activity. *Neuron* 82, 1263–1270. doi:10.1016/j.neuron.2014.04.038
- Paul, M., Printz, M.P., Harms, E., Unger, T., Lang, R.E., Ganten, D., 1985. Localization of renin (EC 3.4.23) and converting enzyme (EC 3.4.15.1) in nerve endings of rat brain. *Brain Res.* 334, 315–324.
- Pelisch, N., Hosomi, N., Ueno, M., Nakano, D., Hitomi, H., Mogi, M., Shimada, K., Kobori, H., Horiuchi, M., Sakamoto, H., Matsumoto, M., Kohno, M., Nishiyama, A., 2011. Blockade of AT1 receptors protects the blood-brain barrier and improves cognition in Dahl salt-sensitive hypertensive rats. *Am. J. Hypertens.* 24, 362–368. doi:10.1038/ajh.2010.241
- Petersen, R.C., Smith, G.E., Waring, S.C., Ivnik, R.J., Tangalos, E.G., Kokmen, E., 1999. Mild cognitive impairment: clinical characterization and outcome. *Arch. Neurol.* 56, 303–308.
- Peterson, J.R., Sharma, R.V., Davissou, R.L., 2006. Reactive oxygen species in the neuropathogenesis of hypertension. *Curr. Hypertens. Rep.* 8, 232–241.
- Petrella, R.J., Shlyakhto, E., Konradi, A.O., Berrou, J.-P., Sedefdjan, A., Pathak, A., OSCAR Publication Group, 2012. Blood pressure responses to hypertension treatment and trends in cognitive function in patients with initially difficult-to-treat hypertension: a retrospective subgroup analysis of the Observational Study on Cognitive Function and SBP Reduction (OSCAR) study. *J. Clin. Hypertens. Greenwich Conn* 14, 78–84. doi:10.1111/j.1751-7176.2011.00577.x
- Phillips, S.J., Whisnant, J.P., 1992. Hypertension and the brain. The National High Blood Pressure Education Program. *Arch. Intern. Med.* 152, 938–945.
- Postel-Vinay, N., 1996. [History of hypertension and of vascular risk: at the origins of change of contemporary medicine]. *Hist. Sci. Médicales* 30, 235–241.
- Pueyo, M.E., Gonzalez, W., Nicoletti, A., Savoie, F., Arnal, J.F., Michel, J.B., 2000. Angiotensin II stimulates endothelial vascular cell adhesion molecule-1 via nuclear factor-kappaB activation induced by intracellular oxidative stress. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 20, 645–651.
- Rahimi, K., Emdin, C.A., MacMahon, S., 2015. The Epidemiology of Blood Pressure and Its Worldwide Management. *Circ. Res.* 116, 925–936. doi:10.1161/CIRCRESAHA.116.304723
- Randomised trial of a perindopril-based blood-pressure-lowering regimen among 6105 individuals with previous stroke or transient ischaemic attack, 2001. *The Lancet* 358, 1033–1041. doi:10.1016/S0140-6736(01)06178-5
- Ravenni, R., Jabre, J.F., Casiglia, E., Mazza, A., 2011. Primary stroke prevention and hypertension treatment: which is the first-line strategy? *Neurol. Int.* 3. doi:10.4081/ni.2011.e12
- Raz, L., Knoefel, J., Bhaskar, K., 2016. The neuropathology and cerebrovascular mechanisms of dementia. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 36, 172–186. doi:10.1038/jcbfm.2015.164
- Reinhardt, C.A., Gloor, S.M., 1997. Co-culture blood-brain barrier models and their use for pharmacotoxicological screening. *Toxicol. Vitro Int. J. Publ. Assoc. BIBRA* 11, 513–518.
- Reisberg, B., Ferris, S.H., de Leon, M.J., Crook, T., 1982. The Global Deterioration Scale for assessment of primary degenerative dementia. *Am. J. Psychiatry* 139, 1136–1139. doi:10.1176/ajp.139.9.1136
- Rose, J.M., Audus, K.L., 1998. Receptor-mediated angiotensin II transcytosis by brain microvessel endothelial cells. *Peptides* 19, 1023–1030.

- Rosenblum, W.I., 1986. Aspects of endothelial malfunction and function in cerebral microvessels. *Lab. Investig. J. Tech. Methods Pathol.* 55, 252–268.
- Rountree, S.D., Waring, S.C., Chan, W.C., Lupo, P.J., Darby, E.J., Doody, R.S., 2007. Importance of subtle amnesic and nonamnesic deficits in mild cognitive impairment: prognosis and conversion to dementia. *Dement. Geriatr. Cogn. Disord.* 24, 476–482. doi:10.1159/000110800
- Ruitenbergh, A., den Heijer, T., Bakker, S.L.M., van Swieten, J.C., Koudstaal, P.J., Hofman, A., Breteler, M.M.B., 2005. Cerebral hypoperfusion and clinical onset of dementia: the Rotterdam Study. *Ann. Neurol.* 57, 789–794. doi:10.1002/ana.20493
- Ruiz-Ortega, M., Lorenzo, O., Rupérez, M., König, S., Wittig, B., Egido, J., 2000. Angiotensin II activates nuclear transcription factor kappaB through AT(1) and AT(2) in vascular smooth muscle cells: molecular mechanisms. *Circ. Res.* 86, 1266–1272.
- Saavedra, J.M., 2005. Brain angiotensin II: new developments, unanswered questions and therapeutic opportunities. *Cell. Mol. Neurobiol.* 25, 485–512. doi:10.1007/s10571-005-4011-5
- Saavedra, J.M., Correa, F.M., Seltzer, A., Pinto, J.E., Viglione, P., Tsutsumi, K., 1992. Enhanced angiotensin converting enzyme binding in arteries from spontaneously hypertensive rats. *J. Hypertens.* 10, 1353–1359.
- Sacco, R.L., Benjamin, E.J., Broderick, J.P., Dyken, M., Easton, J.D., Feinberg, W.M., Goldstein, L.B., Gorelick, P.B., Howard, G., Kittner, S.J., Manolio, T.A., Whisnant, J.P., Wolf, P.A., 1997. Risk Factors. *Stroke* 28, 1507–1517. doi:10.1161/01.STR.28.7.1507
- 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. *J. Am. Heart Assoc.* 2, e000224. doi:10.1161/JAHA.113.000224
- Sagare, A.P., Bell, R.D., Zlokovic, B.V., 2013. Neurovascular defects and faulty amyloid- $\beta$  vascular clearance in Alzheimer's disease. *J. Alzheimers Dis. JAD* 33 Suppl 1, S87-100. doi:10.3233/JAD-2012-129037
- Sakaguchi, S., Sakaguchi, N., Asano, M., Itoh, M., Toda, M., 1995. Immunologic self-tolerance maintained by activated T cells expressing IL-2 receptor alpha-chains (CD25). Breakdown of a single mechanism of self-tolerance causes various autoimmune diseases. *J. Immunol. Baltim. Md* 155, 1151–1164.
- Sakaguchi, S., Wing, K., Onishi, Y., Prieto-Martin, P., Yamaguchi, T., 2009. Regulatory T cells: how do they suppress immune responses? *Int. Immunol.* 21, 1105–1111. doi:10.1093/intimm/dxp095
- Savaskan, E., Hock, C., Olivieri, G., Bruttel, S., Rosenberg, C., Hulette, C., Müller-Spahn, F., 2001. Cortical alterations of angiotensin converting enzyme, angiotensin II and AT1 receptor in Alzheimer's dementia. *Neurobiol. Aging* 22, 541–546.
- Saxby, B.K., Harrington, F., McKeith, I.G., Wesnes, K., Ford, G.A., 2003. Effects of hypertension on attention, memory, and executive function in older adults. *Health Psychol. Off. J. Div. Health Psychol. Am. Psychol. Assoc.* 22, 587–591. doi:10.1037/0278-6133.22.6.587
- Schiffirin, E.L., 2010. T lymphocytes: a role in hypertension? *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* 19, 181–186. doi:10.1097/MNH.0b013e3283360a2e
- Schmitt, U., Tanimoto, N., Seeliger, M., Schaeffel, F., Leube, R.E., 2009. Detection of behavioral alterations and learning deficits in mice lacking synaptophysin. *Neuroscience* 162, 234–243. doi:10.1016/j.neuroscience.2009.04.046
- Schmued, L.C., Hopkins, K.J., 2000. Fluoro-Jade B: a high affinity fluorescent marker for the localization of neuronal degeneration. *Brain Res.* 874, 123–130.
- Schneider, L.S., 2016. Reduce vascular risk to prevent dementia? *Lancet Lond. Engl.* 388, 738–740. doi:10.1016/S0140-6736(16)31129-1

- Sewnath, M.E., Olszyna, D.P., Birjmohun, R., ten Kate, F.J., Gouma, D.J., van Der Poll, T., 2001. IL-10-deficient mice demonstrate multiple organ failure and increased mortality during *Escherichia coli* peritonitis despite an accelerated bacterial clearance. *J. Immunol. Baltim. Md* 1950 166, 6323–6331.
- Shackman, A.J., Sarinopoulos, I., Maxwell, J.S., Pizzagalli, D.A., Lavric, A., Davidson, R.J., 2006. Anxiety selectively disrupts visuospatial working memory. *Emotion* 6, 40–61. doi:10.1037/1528-3542.6.1.40
- Shen, C., Chen, Y., Liu, H., Zhang, K., Zhang, T., Lin, A., Jing, N., 2008. Hydrogen peroxide promotes Abeta production through JNK-dependent activation of gamma-secretase. *J. Biol. Chem.* 283, 17721–17730. doi:10.1074/jbc.M800013200
- Shim, Y., Yoon, B., Shim, D.S., Kim, W., An, J.-Y., Yang, D.-W., 2015. Cognitive Correlates of Cerebral Vasoreactivity on Transcranial Doppler in Older Adults. *J. Stroke Cerebrovasc. Dis. Off. J. Natl. Stroke Assoc.* doi:10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2015.01.031
- Silva-Filho, J.L., Souza, M.C., Ferreira-Dasilva, C.T., Silva, L.S., Costa, M.F.S., Padua, T.A., Henriques, M. das G., Morrot, A., Savino, W., Caruso-Neves, C., Pinheiro, A.A.S., 2013. Angiotensin II is a new component involved in splenic T lymphocyte responses during *Plasmodium berghei* ANKA infection. *PLoS One* 8, e62999. doi:10.1371/journal.pone.0062999
- Silva-Filho, J.L., Souza, M.C., Henriques, M. das G., Morrot, A., Savino, W., Nunes, M.P., Caruso-Neves, C., Pinheiro, A.A.S., 2011. AT1 receptor-mediated angiotensin II activation and chemotaxis of T lymphocytes. *Mol. Immunol.* 48, 1835–1843. doi:10.1016/j.molimm.2011.05.008
- Simões e Silva, A.C., Silveira, K.D., Ferreira, A.J., Teixeira, M.M., 2013. ACE2, angiotensin-(1-7) and Mas receptor axis in inflammation and fibrosis. *Br. J. Pharmacol.* 169, 477–492. doi:10.1111/bph.12159
- Smith, T.D., Adams, M.M., Gallagher, M., Morrison, J.H., Rapp, P.R., 2000. Circuit-specific alterations in hippocampal synaptophysin immunoreactivity predict spatial learning impairment in aged rats. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 20, 6587–6593.
- Sokolova, I.A., Manukhina, E.B., Blinkov, S.M., Koshelev, V.B., Pinelis, V.G., Rodionov, I.M., 1985. Rarefaction of the arterioles and capillary network in the brain of rats with different forms of hypertension. *Microvasc. Res.* 30, 1–9.
- Stanimirovic, D.B., Friedman, A., 2012. Pathophysiology of the neurovascular unit: disease cause or consequence? *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 32, 1207–1221. doi:10.1038/jcbfm.2012.25
- Stefani, A., Sancesario, G., Pierantozzi, M., Leone, G., Galati, S., Hainsworth, A.H., Diomed, M., 2009. CSF biomarkers, impairment of cerebral hemodynamics and degree of cognitive decline in Alzheimer's and mixed dementia. *J. Neurol. Sci.* 283, 109–115. doi:10.1016/j.jns.2009.02.343
- Straub, S.V., Nelson, M.T., 2007. Astrocytic calcium signaling: the information currency coupling neuronal activity to the cerebral microcirculation. *Trends Cardiovasc. Med.* 17, 183–190. doi:10.1016/j.tcm.2007.05.001
- Stroobant, N., Van Nooten, G., Vingerhoets, G., 2004. Effect of cardiovascular disease on hemodynamic response to cognitive activation: a functional transcranial Doppler study. *Eur. J. Neurol.* 11, 749–754. doi:10.1111/j.1468-1331.2004.00873.x
- Sumners, C., Fleegal, M.A., Zhu, M., 2002. Angiotensin At1 Receptor Signalling Pathways In Neurons. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 29, 483–490. doi:10.1046/j.1440-1681.2002.03660.x
- Sun, W., McConnell, E., Pare, J.-F., Xu, Q., Chen, M., Peng, W., Lovatt, D., Han, X., Smith, Y., Nedergaard, M., 2013. Glutamate-dependent neuroglial calcium signaling differs between young and adult brain. *Science* 339, 197–200. doi:10.1126/science.1226740
- Suzuki, H., Motley, E.D., Frank, G.D., Utsunomiya, H., Eguchi, S., 2005. Recent progress in signal transduction research of the angiotensin II type-1 receptor: protein kinases, vascular

- dysfunction and structural requirement. *Curr. Med. Chem. Cardiovasc. Hematol. Agents* 3, 305–322.
- Sze, C.I., Troncoso, J.C., Kawas, C., Mouton, P., Price, D.L., Martin, L.J., 1997. Loss of the presynaptic vesicle protein synaptophysin in hippocampus correlates with cognitive decline in Alzheimer disease. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 56, 933–944.
- Takata, F., Dohgu, S., Yamauchi, A., Matsumoto, J., Machida, T., Fujishita, K., Shibata, K., Shinozaki, Y., Sato, K., Kataoka, Y., Koizumi, S., 2013. In Vitro Blood-Brain Barrier Models Using Brain Capillary Endothelial Cells Isolated from Neonatal and Adult Rats Retain Age-Related Barrier Properties. *PLoS ONE* 8. doi:10.1371/journal.pone.0055166
- Tallini, Y.N., Brekke, J.F., Shui, B., Doran, R., Hwang, S., Nakai, J., Salama, G., Segal, S.S., Kotlikoff, M.I., 2007. Propagated endothelial Ca<sup>2+</sup> waves and arteriolar dilation in vivo: measurements in Cx40BAC GCaMP2 transgenic mice. *Circ. Res.* 101, 1300–1309. doi:10.1161/CIRCRESAHA.107.149484
- Tampellini, D., Capetillo-Zarate, E., Dumont, M., Huang, Z., Yu, F., Lin, M.T., Gouras, G.K., 2010. Effects of synaptic modulation on  $\beta$ -amyloid, synaptophysin and memory performance in Alzheimer's disease transgenic mice. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 30, 14299–14304. doi:10.1523/JNEUROSCI.3383-10.2010
- Tang, Q., Bluestone, J.A., 2006. Regulatory T-cell physiology and application to treat autoimmunity. *Immunol. Rev.* 212, 217–237. doi:10.1111/j.0105-2896.2006.00421.x
- Tarantini, S., Hertelendy, P., Tucsek, Z., Valcarcel-Ares, M.N., Smith, N., Menyhart, A., Farkas, E., Hodges, E.L., Towner, R., Deak, F., Sonntag, W.E., Csiszar, A., Ungvari, Z., Toth, P., 2015. Pharmacologically-Induced Neurovascular Uncoupling is Associated with Cognitive Impairment in Mice. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 35, 1871–1881. doi:10.1038/jcbfm.2015.162
- Teyler, T.J., DiScenna, P., 1986. The hippocampal memory indexing theory. *Behav. Neurosci.* 100, 147–154.
- Tham, D.M., Martin-McNulty, B., Wang, Y., Wilson, D.W., Vergona, R., Sullivan, M.E., Dole, W., Rutledge, J.C., 2002. Angiotensin II is associated with activation of NF-kappaB-mediated genes and downregulation of PPARs. *Physiol. Genomics* 11, 21–30. doi:10.1152/physiolgenomics.00062.2002
- Tian, N., Moore, R.S., Braddy, S., Rose, R.A., Gu, J.-W., Hughson, M.D., Manning, R.D., 2007. Interactions between oxidative stress and inflammation in salt-sensitive hypertension. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 293, H3388-3395. doi:10.1152/ajpheart.00981.2007
- Tota, S., Goel, R., Pachauri, S.D., Rajasekar, N., Najmi, A.K., Hanif, K., Nath, C., 2013. Effect of angiotensin II on spatial memory, cerebral blood flow, cholinergic neurotransmission, and brain derived neurotrophic factor in rats. *Psychopharmacology (Berl.)* 226, 357–369. doi:10.1007/s00213-012-2913-8
- Traub, Y.M., Shapiro, A.P., Dujovny, M., Nelson, D., 1982. Cerebral blood flow changes with diuretic therapy in elderly subjects with systolic hypertension. *Clin. Exp. Hypertens. A.* 4, 1193–1201.
- Tzourio, C., Dufouil, C., Ducimetière, P., Alpérovitch, A., 1999. Cognitive decline in individuals with high blood pressure: a longitudinal study in the elderly. EVA Study Group. *Epidemiology of Vascular Aging. Neurology* 53, 1948–1952.
- Uversky, V.N., Dunker, A.K., 2013. The case for intrinsically disordered proteins playing contributory roles in molecular recognition without a stable 3D structure. *F1000 Biol. Rep.* 5, 1. doi:10.3410/B5-1
- Vermeij, A., Kessels, R.P.C., Heskamp, L., Simons, E.M.F., Dautzenberg, P.L.J., Claassen, J.A.H.R., 2016. Prefrontal activation may predict working-memory training gain in normal aging and mild cognitive impairment. *Brain Imaging Behav.* doi:10.1007/s11682-016-9508-7



- Vicenzini, E., Ricciardi, M.C., Altieri, M., Puccinelli, F., Bonaffini, N., Di Piero, V., Lenzi, G.L., 2007. Cerebrovascular reactivity in degenerative and vascular dementia: a transcranial Doppler study. *Eur. Neurol.* 58, 84–89. doi:10.1159/000103642
- Villela, D.C., Passos-Silva, D.G., Santos, R.A.S., 2014. Alamandine: a new member of the angiotensin family. *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* 23, 130–134. doi:10.1097/01.mnh.0000441052.44406.92
- Vorhees, C.V., Williams, M.T., 2006. Morris water maze: procedures for assessing spatial and related forms of learning and memory. *Nat. Protoc.* 1, 848–858. doi:10.1038/nprot.2006.116
- Vytal, K.E., Cornwell, B.R., Letkiewicz, A.M., Arkin, N.E., Grillon, C., 2013. The complex interaction between anxiety and cognition: insight from spatial and verbal working memory. *Front. Hum. Neurosci.* 7. doi:10.3389/fnhum.2013.00093
- Walsh, D.M., Klyubin, I., Fadeeva, J.V., Cullen, W.K., Anwyl, R., Wolfe, M.S., Rowan, M.J., Selkoe, D.J., 2002. Naturally secreted oligomers of amyloid beta protein potently inhibit hippocampal long-term potentiation in vivo. *Nature* 416, 535–539. doi:10.1038/416535a
- Wang, G., Anrather, J., Glass, M.J., Tarsitano, M.J., Zhou, P., Frys, K.A., Pickel, V.M., Iadecola, C., 2006. Nox2, Ca<sup>2+</sup>, and protein kinase C play a role in angiotensin II-induced free radical production in nucleus tractus solitarius. *Hypertens. Dallas Tex* 1979 48, 482–489. doi:10.1161/01.HYP.0000236647.55200.07
- Wang, P., Wu, P., Siegel, M.I., Egan, R.W., Billah, M.M., 1995. Interleukin (IL)-10 inhibits nuclear factor kappa B (NF kappa B) activation in human monocytes. IL-10 and IL-4 suppress cytokine synthesis by different mechanisms. *J. Biol. Chem.* 270, 9558–9563.
- Watanabe, T., Barker, T.A., Berk, B.C., 2005. Angiotensin II and the Endothelium. *Hypertension* 45, 163–169. doi:10.1161/01.HYP.0000153321.13792.b9
- Wattanapitayakul, S.K., Weinstein, D.M., Holycross, B.J., Bauer, J.A., 2000. Endothelial dysfunction and peroxynitrite formation are early events in angiotensin-induced cardiovascular disorders. *FASEB J. Off. Publ. Fed. Am. Soc. Exp. Biol.* 14, 271–278.
- Wei, T.-M., Wang, L., 2006. Anxiety symptoms in patients with hypertension: a community-based study. *Int. J. Psychiatry Med.* 36, 315–322.
- Weissman, B.A., Jones, C.L., Liu, Q., Gross, S.S., 2002. Activation and inactivation of neuronal nitric oxide synthase: characterization of Ca(2+)-dependent [125I]Calmodulin binding. *Eur. J. Pharmacol.* 435, 9–18.
- Wiltfang, J., Esselmann, H., Bibl, M., Hüll, M., Hampel, H., Kessler, H., Frölich, L., Schröder, J., Peters, O., Jessen, F., Luckhaus, C., Perneczky, R., Jahn, H., Fiszer, M., Maler, J.M., Zimmermann, R., Bruckmoser, R., Kornhuber, J., Lewczuk, P., 2007. Amyloid beta peptide ratio 42/40 but not A beta 42 correlates with phospho-Tau in patients with low- and high-CSF A beta 40 load. *J. Neurochem.* 101, 1053–1059. doi:10.1111/j.1471-4159.2006.04404.x
- Wölfle, S.E., Chaston, D.J., Goto, K., Sandow, S.L., Edwards, F.R., Hill, C.E., 2011. Non-linear relationship between hyperpolarisation and relaxation enables long distance propagation of vasodilatation. *J. Physiol.* 589, 2607–2623. doi:10.1113/jphysiol.2010.202580
- Yano, Y., Ning, H., Allen, N., Reis, J.P., Launer, L.J., Liu, K., Yaffe, K., Greenland, P., Lloyd-Jones, D.M., 2014. Long-Term Blood Pressure Variability Throughout Young Adulthood and Cognitive Function in Midlife The Coronary Artery Risk Development in Young Adults (CARDIA) Study. *Hypertension* 64, 983–988. doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.114.03978
- Yilmaz, S., Pekdemir, M., Tural, U., Uygun, M., 2011. Comparison of alprazolam versus captopril in high blood pressure: a randomized controlled trial. *Blood Press.* 20, 239–243. doi:10.3109/08037051.2011.553934

- Zekry, D., Hauw, J.-J., Gold, G., 2002. Mixed dementia: epidemiology, diagnosis, and treatment. *J. Am. Geriatr. Soc.* 50, 1431–1438.
- Zheng, Y., Rudensky, A.Y., 2007. Foxp3 in control of the regulatory T cell lineage. *Nat. Immunol.* 8, 457–462. doi:10.1038/ni1455
- Zhu, D., Shi, J., Zhang, Y., Wang, B., Liu, W., Chen, Z., Tong, Q., 2011. Central angiotensin II stimulation promotes  $\beta$  amyloid production in Sprague Dawley rats. *PloS One* 6, e16037. doi:10.1371/journal.pone.0016037
- Zimmerman, M.C., Lazartigues, E., Lang, J.A., Sinnayah, P., Ahmad, I.M., Spitz, D.R., Davisson, R.L., 2002. Superoxide mediates the actions of angiotensin II in the central nervous system. *Circ. Res.* 91, 1038–1045.
- Zimmerman, M.C., Lazartigues, E., Sharma, R.V., Davisson, R.L., 2004. Hypertension caused by angiotensin II infusion involves increased superoxide production in the central nervous system. *Circ. Res.* 95, 210–216. doi:10.1161/01.RES.0000135483.12297.e4