



UNIVERSITE DE LILLE - DROIT ET SANTE

Année : 2018-2019

THESE

**Présentée pour l'obtention du grade de
DOCTEUR DE L'UNIVERSITE**

Spécialité : Neurosciences

**Maladie d'Alzheimer et cognition : influence des microhémorragies, du
sexe et de la modulation pharmacologique :
Données cliniques et expérimentales**

Soutenu publiquement le 7 décembre 2018

Par Yaohua CHEN

JURY

Examineurs :

Madame le Professeur Sonia ALAMOWITCH – Paris VI

Madame le Docteur Odile VILTART – Lille

Rapporteurs :

Monsieur le Professeur Yannick BEJOT – Bourgogne

Monsieur le Professeur Luc ZIMMER – Lyon I

Directeur de Thèse :

Madame le Docteur Sophie GAUTIER – Lille

Madame le Professeur Florence PASQUIER – Lille

Thèse réalisée au sein de l'unité de recherche INSERM U1171 « Troubles cognitifs dégénératifs et vasculaires ».

Là où la montagne prend fin et le ruisseau atteint sa source, on soupçonne qu'il n'y a plus de route ; mais dans l'ombre des saules et dans l'éclosion des fleurs, un autre village apparaît

Tiré de recueils de poèmes de Tao Yuanming, an 365-427, « La source aux fleurs de pêcher ».

Remerciements

Je tiens à remercier les membres du jury :

Madame le Docteur Sophie GAUTIER,

Je te remercie d'avoir accepté d'encadrer mon travail, dès sa conception, il y a cinq ans.

Je te remercie de ta confiance, ton humanité, et ta disponibilité à toute épreuve.

Je te remercie pour ton soutien, tes conseils toujours avisés sur le plan professionnel et personnel.

Ta perspicacité et ton optimisme seront toujours une source d'inspiration pour moi.

Madame le Professeur Florence PASQUIER,

Je vous remercie d'avoir accepté d'encadrer ce travail. Je vous remercie pour votre bienveillance, votre confiance et vos conseils très utiles tout au long de la thèse.

Je vous remercie également de m'avoir accueillie dans votre service, et de m'avoir soutenue et accompagnée en toutes circonstances sur le plan professionnel et personnel.

Veillez trouver ici toute ma reconnaissance.

Monsieur le Professeur Yannick BEJOT,

Vous me faites l'honneur d'avoir accepté d'être rapporteur de ce travail et de faire partie du jury.

Je vous remercie également de votre présence et de vos conseils utiles lors des Comités de suivi de thèse.

Veillez trouver ici toute mon estime et mon profond respect.

Monsieur le Professeur Luc ZIMMER,

Vous me faites l'honneur d'avoir accepté d'être rapporteur de ce travail et de faire partie du jury.

Veillez trouver ici toute mon estime et mon profond respect.

Madame le Docteur Odile VILART,

Vous me faites l'honneur d'avoir accepté d'être examinateur du travail et de faire partie du jury.

Je vous remercie également de votre présence et de vos conseils utiles lors des Comités de suivi de thèse.

Veillez trouver ici toute mon estime et mon profond respect.

Madame le Professeur Sonia ALAMOWITCH,

Vous me faites l'honneur d'avoir accepté d'être examinateur du travail et de faire partie du jury.

Veillez trouver ici toute mon estime et mon profond respect.

Je tiens également à remercier mes autres mentors :

Monsieur le Professeur Régis BORDET,

Je vous remercie de m'avoir ouvert les portes de votre laboratoire de recherche il y a cinq ans. Je vous remercie de votre disponibilité et de tous vos précieux conseils.

Veillez trouver ici toute mon estime et mon profond respect.

Monsieur le Professeur Didier LEYS,

Je vous remercie de m'avoir accueillie dans votre service, et de m'avoir initiée à la recherche médicale. Je vous remercie pour votre enseignement tout au long de mon cursus.

Veillez trouver ici toute mon estime et mon profond respect.

Je tiens à remercier toutes les personnes qui m'ont aidé dans ce travail de longue haleine :

Sandrine et Gary,

Sandrine, ce travail n'aurait jamais abouti sans toi. Cette thèse est devenue une aventure humaine grâce à toi. Je te remercie de ton soutien, d'avoir été ma co-thésarde, et d'être mon amie.

Romain,

Je te remercie de m'avoir épaulé pendant ces deux dernières années. Avec toi, je sais que je laisse ce travail entre de bonnes mains !

Thibaud,

C'était un honneur pour moi d'avoir été ton binôme. J'ai énormément appris à tes côtés. Je te remercie pour ta bienveillance, ton soutien, et ton amitié.

Julie, Charlotte, Kelly et Camille,

Je vous remercie de vos conseils avisés et de votre aide pendant toutes ces années

Florent, Nicolas, et Clémence,

Je vous remercie d'avoir aidé à l'acquisition, le traitement et l'interprétation des données d'imagerie préclinique.

L'ensemble de l'équipe de l'U1171, qui m'a tant aidée pendant les cinq ans passés au laboratoire, en particulier Jackie, Marion, JC, Aurélie, Maud, Cédric, Thavarak, Flore, Thibaud, Johana, Louise, Michèle, Olivier, Vincent, Dominique, David, Anne-Sophie, Christian...

Christine, Grégory, ainsi que toute l'équipe de la plateforme d'imagerie clinique : Julien, Renaud, Romain, Clément, et le Professeur Jean-Pierre PRUVO, de m'avoir autant facilité et aidé pour la partie concernant l'imagerie clinique. Je tiens particulièrement à remercier Christine, Grégory, et Julien qui ont interprété les IRMs en un temps records.

Emilie,

Je te remercie d'avoir réalisé toutes les analyses statistiques avec toujours autant d'efficacité.

Marina et Marion,

Je vous remercie de m'avoir aidé dans la collecte des données. Vous avez été des étudiantes modèles !

Le Professeur Charlotte CORDONNIER, le Docteur Laura RAVASI,

Je vous remercie de m'avoir accompagné dans les débuts de ce projet, qui aboutira, j'espère, à des collaborations futures.

L'ensemble du personnel du CMRR de m'avoir facilité l'accès à l'ensemble des dossiers des patients de la cohorte COMAJ, en particulier Nathalie, qui m'a aidé à collecter les données jusqu'au dernier jour avant son départ à la retraite.

L'ensemble du personnel de l'animalerie du DHURE et de la High-tech pour avoir pris soin de mes petites souris pendant cinq ans. Je tiens à remercier en particulier Franck, qui a accepté de prendre du temps pour le dosage du cholestérol.

Je tiens à remercier tout mon entourage, mes amis, ma famille de m'avoir soutenu depuis le début :

Mes grand- parents partis trop tôt,

Vous avez été mes modèles, et vous avez rempli mon enfance d'amour et de chaleur. Sans vous, je ne serai pas la personne que je suis aujourd'hui.

Mes parents,

Vous m'avez encouragée et soutenue en toutes circonstances. Vous m'avez appris la curiosité, l'indépendance, la patience et la tolérance. Sans vous, je n'aurai jamais eu la possibilité de découvrir autant d'horizons différents.

Michelle et René,

Je vous remercie de m'avoir acceptée à bras ouverts, de nous avoir tant aidé cette année, et de m'avoir permis de rester concentrée sur la thèse. René, je te remercie de ta lecture pour les fautes d'orthographe.

Amandine et Mathias,

Je vous remercie de tout votre soutien et votre bonne humeur depuis toujours.

Le club des 7 et son cercle élargi, Clémence et Anaïs, Solène et Arnaud, Adeline, Lucie et Fabien, Mélanie et Sébastien, et Armelle et Nicolas.

Je savoure chaque instant passé en votre compagnie exceptionnelle ! La distance entre nous est bien plus courte qu'on imagine.

Mes amis de Lyon,

Lisa, Claudia et Sylvain, Bénédicte, Anne-Sophie A, Anne-Laure, Alice, Yves, Maïté, Mirianna, Julien B, Julien Y et Marie, Evgueni et Anne-Sophie.

Mes amis de Lille,

Michèle, Mathieu A, Benjamin, Aude et Pierre, Monique, Josette, Claire, Lucie P, Farid, Ali, Vanessa et Benoît, Alexis et Carlyne. Marie D et Stéphane, Matthieu B et Wen, Rachel et Wout, Mélanie, Julie, Mamadou

Mes collègues actuels et futurs,

Marie-Anne, Stéphanie, Adeline, Vincent, Pascaline, Florence, Aurélien

Le Professeur Eric BOULANGER, le Professeur François PUISIEUX, JB, Cédric, Jennifer

Je vous remercie de votre compréhension et du temps que vous m'avez laissée pour mener à bien ce projet.

A Céleste,

Grâce à toi, j'ai trouvé la force de continuer. Je te remercie d'illuminer chaque instant de ma vie, et même pendant toutes ces nuits blanches. Je te dédie cette thèse.

A Olivier,

Je te dédie évidemment cette thèse. Je te remercie d'avoir lu et relu la thèse à des heures perdues. Je mesure toute la chance que j'ai de t'avoir rencontré. Les mots ne suffisent pas pour exprimer tout ce que tu représentes pour moi. Je te remercie de m'avoir supportée pendant toutes ces années, et d'avoir la patience de me supporter encore pour le reste de notre vie.

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION	19
A. La maladie d'Alzheimer : quelle place pour la dysfonction vasculaire ?.....	20
1. Caractéristiques générales de la maladie d'Alzheimer	20
a. La définition	20
b. Les données épidémiologiques	21
c. Les signes cliniques	22
d. Les biomarqueurs	25
e. Les stratégies thérapeutiques	26
2. La physiopathologie de la maladie d'Alzheimer	27
a. Les lésions élémentaires neurodégénératives	27
b. Le processus multifactoriel de la MA.....	28
c. La dysfonction vasculaire.....	28
i. Le poids des lésions vasculaires	29
ii. Le poids des facteurs de risque vasculaire.....	30
iii. Le cas particulier des patients jeunes.....	32
3. Conclusion de cette partie.....	33
B. Le poids des microhémorragies dans la cognition.....	33
1. Les microhémorragies : les facteurs de risque	34
2. Les données cliniques sur l'impact des microhémorragies	34
a. Chez les sujets sains	34
b. Chez les patients atteints de la MA	36
3. Microhémorragies : pistes mécanistiques de leurs conséquences	37
4. Modélisation préclinique des microhémorragies.....	39
5. Conclusion de cette partie.....	40
C. Influence du sexe féminin sur la cognition.....	43
1. L'influence du sexe féminin sur les données épidémiologiques	43
2. Les spécificités cliniques et paracliniques liées au sexe féminin dans la maladie d'Alzheimer et la dysfonction vasculaire	44
3. Rôle des œstrogènes sur la cognition	46
a. Œstrogènes et MA	46
b. Hormonothérapie et MA.....	47
4. MA et sexe : données précliniques	48
a. Différences comportementales et morphologiques en fonction du sexe	48
b. Les mécanismes impliqués	50
5. Conclusion	50
D. Influence pharmacologique par les statines sur des troubles cognitifs.....	51
1. Les différents types de statines	51
2. Mécanisme d'action.....	51
a. Action métabolique des statines	51
b. Action des statines sur la cognition	53
i. Amélioration de la fonction endothéliale des vaisseaux et augmentation du flux sanguin cérébral.....	53
ii. Amélioration de la fonction synaptique dans la mémorisation.....	53
iii. Effets anti-thrombotiques et anti-inflammatoires	54
iv. La diminution du stress oxydant	54
v. La diminution des dépôts amyloïdes	55
3. Les données cliniques sur l'utilisation des statines à visée cognitive	55
a. Chez les sujets sains	55
b. Chez les patients présentant une maladie d'Alzheimer	57
4. Les données précliniques.....	59
5. Conclusion de cette partie.....	59

Objectifs de la thèse	62
MATERIEL ET METHODES	63
Partie expérimentale	63
A. Les animaux.....	64
1. Description de la lignée animale utilisée.....	64
2. Elevage.....	65
3. Génotypage.....	65
a. Extraction de l'ADN génomique.....	65
b. PCR quantitative en temps réel.....	65
4. Stabulation.....	66
B. Protocole expérimental.....	67
C. Modulation pharmacologique par Atorvastatine.....	68
D. Chirurgie et induction de la lésion microhémorragique au niveau cortical (MHC).....	68
E. Imagerie par résonance magnétique (IRM).....	70
1. Préparation de l'animal.....	70
2. Acquisition des images 24h après la chirurgie.....	70
3. Acquisition des images de fin de suivi à 1,5 mois, 6 mois et 12 mois.....	71
F. Tomodensitométrie par émission de positons (TEP).....	72
1. Acquisition des images à 1,5 mois, 6 mois et 12 mois lors du suivi cinétique.....	72
2. Post traitement des images.....	73
G. Tests neurocomportementaux.....	74
1. Actimétrie : évaluation de l'activité locomotrice spontanée.....	74
2. Le labyrinthe en croix surélevé : évaluation du niveau d'anxiété.....	75
3. Labyrinthe en Y : test d'alternance spontanée pour l'évaluation de la mémoire de travail.....	75
4. Touchscreen®, système automatisé : Paired-associate learning (PAL) task pour l'évaluation de la mémoire visuo-spatiale.....	76
5. Test de reconnaissance d'objet (Novel object recognition (NOR)).....	81
H. Sacrifice et préparation des tissus.....	83
1. Etude immunohistologique.....	83
2. Etude de biologie moléculaire.....	84
3. Prélèvements sanguins.....	85
I. Dosages plasmatiques.....	85
1. Dosage du cholestérol total.....	85
2. Dosage du taux plasmatique d'œstrogène par ELISA.....	85
J. Evaluation de l'expression génique des récepteurs aux œstrogènes par PCR quantitative en temps réel.....	87
1. Extraction de l'ARN.....	87
2. Synthèse des ADN complémentaires (ADNc).....	88
3. La PCR quantitative en temps réel.....	88
K. Statistiques.....	89
L. Ethiques.....	90
MATERIELS ET METHODES	91
Partie clinique	91
A. Critères de sélection des patients.....	92
1. La cohorte COMAJ.....	92
2. La base de données du réseau de centres mémoire du Nord Pas-de-Calais.....	93
3. Critères de sélection des patients COMAJ et de la base des données du réseau de centres mémoire dans notre étude.....	93
B. Variables cliniques étudiés.....	95
C. Examens paracliniques étudiés :.....	96
D. Analyses statistiques.....	99

RESULTATS	100
Partie expérimentale.....	100
A. Rappel des résultats sur la mise au point du modèle chez les souris mâles (Bergeron et Chen, 2017)	101
B. Suivi des animaux.....	102
1. Mortalité après la chirurgie.....	103
2. Mortalité durant le suivi	103
C. Impact à court terme de la lésion microhémorragique et de la modulation pharmacologique	104
1. Impact neurocomportemental	104
a. Activité locomotrice spontanée	104
b. Anxiété	105
c. Mémoire de travail.....	105
d. Mémoire de reconnaissance.....	106
e. Mémoire visuo-spatiale	107
2. Impact sur la volumétrie et le métabolisme cérébraux	111
a. Résultats au niveau cortical	111
b. Résultats au niveau hippocampique	112
3. Impact sur l'expression génique du récepteur aux oestrogènes α (Esr α) et β (Esr β) au niveau cérébral	114
a. L'expression génique des Esr α au niveau cortical.....	114
b. L'expression génique des Esr β au niveau cortical.....	115
c. L'expression génique des Esr α au niveau hippocampique	116
d. L'expression génique des Esr β au niveau hippocampique	116
D. Impact à moyen terme de la lésion microhémorragique et de la modulation pharmacologique	117
1. Impact neurocomportemental	117
a. Activité locomotrice spontanée	117
b. Anxiété	118
c. Mémoire de travail.....	119
d. Mémoire de reconnaissance.....	119
2. Impact sur la volumétrie et le métabolisme cérébraux	120
a. Résultats au niveau cortical	120
b. Résultats au niveau hippocampique	122
E. Impact à long terme de la lésion microhémorragique et de la modulation pharmacologique	123
1. Impact neurocomportemental	123
a. Activité locomotrice spontanée	123
b. Anxiété	124
c. Mémoire de travail.....	125
d. Mémoire de reconnaissance.....	125
2. Impact sur la volumétrie et le métabolisme cérébraux	126
a. Résultats au niveau cortical	126
b. Résultats au niveau hippocampique	128
F. Récapitulatif des modifications neurocomportementales, morphologiques et moléculaires.....	130
G. Estimation du taux d'œstrogène plasmatique chez les souris femelles	133
H. Evaluation de l'effet hypolipémiant de l'atorvastatine.....	133
RESULTATS	135
Partie clinique	135
A. Description de la population.....	136
1. Données de l'IRM	136

2.	Données concernant la prescription des statines	137
3.	Récapitulatif des 3 analyses.....	138
B.	Comparaison entre les patients présentant ou non des microhémorragies	138
1.	Les caractéristiques au début du suivi	138
2.	L'impact des microhémorragies sur l'évolution des patients	139
C.	Comparaison entre les patients selon le sexe	142
1.	Les caractéristiques au début du suivi	142
2.	L'impact du sexe sur l'évolution des patients.....	143
D.	Comparaison entre les patients traités ou non par des statines.....	147
1.	Les caractéristiques au début du suivi	147
2.	L'impact du traitement par statines sur l'évolution des patients	148
DISCUSSION		152
A.	Microhémorragie : un impact cognitif différentiel selon la condition pathologique et le temps.....	154
1.	MH : acteur du déficit cognitif	154
a.	En condition saine, sans pathologie sous-jacente	154
b.	En condition pathologique de la MA.....	156
2.	MH : collaborateur du déficit cognitif.....	158
a.	Dans le modèle préclinique	158
b.	Dans l'étude clinique	159
3.	MH, dysfonction vasculaire, MA : approche originale et limites.....	162
B.	L'effet de la modulation pharmacologique par atorvastatine sur la microhémorragie : une neuroprotection au-delà de l'effet hypolipémiant.....	164
1.	Statines : modulateur des effets de la MH	164
2.	Statines : modulateur de la dysfonction vasculaire et rôle de la neuroprotection en phase précoce de la MA.....	168
3.	L'action hypolipémiante des statines : preuve de l'effet, nos points forts et limites 170	
C.	Les spécificités du sexe féminin : des effets compensatoires dans le modèle préclinique, et un profil vasculaire différent dans l'étude clinique	172
1.	Le rôle de l'estradiol.....	172
a.	Dans le modèle préclinique	172
b.	Dans l'étude clinique	175
2.	Dysfonction vasculaire spécifique du sexe féminin	176
3.	Nos points forts et limites	177
D.	Limites et Perspectives	178
ANNEXES		182
A.	Annexe 1 : Article : Role of cortical microbleeds in cognitive impairment : In vivo behavioral and imaging characterization of a novel murine model. <i>Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism</i> . 2018	183
B.	Annexe 2 : Les modélisations expérimentales de la maladie d'Alzheimer et de la dysfonction vasculaire	195
REFERENCES		196

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Le protocole expérimental du suivi pendant 12 mois après la chirurgie	68
Figure 2 : Description de la chirurgie stéréotaxique	69
Figure 3: Coupes coronales du cerveau murin en IRM T2*	71
Figure 4: Exemple de délimitation de zone d'intérêt sur une coupe coronale en 3DT2.	72
Figure 5: Visualisation des zones d'intérêt sur les images TEP.....	74
Figure 6: Représentation du labyrinthe en Y afin d'explorer la mémoire de travail par le taux d'alternance spontanée	76
Figure 7: : Photo du dispositif du Touch screen®.....	77
Figure 8: Représentation des différentes étapes d'habitation et de conditionnement avant le test dPAL.....	77
Figure 9: Exemple de deux essais durant la phase test de dPAL.....	80
Figure 10 : Exemple de courbe standard suite à la lecture par spectrophotométrie.....	87
Figure 11 : Organigramme représentant les critères d'inclusion et d'exclusion pour cette étude	95
Figure 12: Echelle semi-quantitative de Fazekas.....	98
Figure 13: Exemple de segmentation automatisée l'aide du logiciel VolBrain® pour calculer le volume hippo-campique	99
Figure 14: Comparaison de la taille lésionnelle ainsi que du ratio de la vitesse de relaxation zone lésée/zone saine sur la séquence T2* en IRM cérébrale en fonction de la concentration de la col-lagénase	101
Figure 15: Différents aspects de la lésion induite en fonction de la concentration.....	102
Figure 16: La distance totale parcourue et le nombre total de redressements évalués par l'actimétrie, six semaines après la chirurgie.	104
Figure 17: Le pourcentage de temps passé dans les bras ouverts du labyrinthe en croix surélevé par rapport au temps passé dans les bras ouverts et fermés, six semaines après la chirurgie.....	105
Figure 18: Le pourcentage d'alternance dans les trois bras du labyrinthe en Y, 1,5 mois après la chirurgie.....	106
Figure 19: L'indice de discernement en pourcentage dans le test de reconnaissance d'objet, six semaines après la chirurgie.....	107
Figure 20: L'évolution du nombre total d'essais réalisés durant les 30 jours du test dPAL (object-location paired-associate learning task) au Touch screen®	108
Figure 21: L'évolution du nombre total d'essais de correction réalisés durant les 30 jours du test dPAL (object-location paired-associate learning task) au Touch screen®	108
Figure 22: L'évolution du pourcentage d'essais corrects au cours des 30 jours du test dPAL (object-location paired-associate learning task) au Touchscreen®,chez les souris WT.....	109
Figure 23: L'évolution du pourcentage d'essais corrects au cours des 30 jours du test dPAL (object-location paired-associate learning task) au Touchscreen®, chez les souris APP.....	110
Figure 24: L'évolution du nombre total d'essais de correction, et du pourcentage d'essais corrects au cours des 30 jours du test dPAL (object-location paired-associate learning task) au Touchscreen®, chez les souris WT et APP.....	111
Figure 25: L'évolution du volume cortical six semaines après la chirurgie.....	111
Figure 26: L'évolution du métabolisme cortical, six semaines après la chirurgie.	112
Figure 27: L'évolution du volume hippocampique un mois et demi après la chirurgie.....	113
Figure 28: L'évolution du métabolisme hippocampique, un mois et demi après la chirurgie.	114
Figure 29: Le pourcentage de l'expression relative de l'ARNm des Esr α au niveau cortical, six semaines après la chirurgie chez les souris WT	115

Figure 30: Le pourcentage de l'expression relative de l'ARNm des Esr β au niveau cortical, six semaines après la chirurgie chez les souris WT	116
Figure 31: Le pourcentage de l'expression relative de l'ARNm des Esr α au niveau hippocampique, six semaines après la chirurgie chez les souris WT	116
Figure 32: Le pourcentage de l'expression relative de l'ARNm des Esr β au niveau hippocampique, six semaines après la chirurgie chez les souris WT	117
Figure 33: La distance totale parcouru et le nombre total de redressements évalués par l'actimétrie, six mois après la chirurgie.	118
Figure 34: Le pourcentage de temps passé dans les bras ouverts du labyrinthe en croix surélevé par rapport au temps passé dans les bras ouverts et fermés, six mois après la chirurgie	118
Figure 35: Le pourcentage d'alternance dans les trois bras du labyrinthe en Y, six mois après la chirurgie.....	119
Figure 36: L'indice de discernement en pourcentage dans le test de reconnaissance d'objet, 6 mois après la chirurgie	120
Figure 37: L'évolution du volume cortical six mois après la chirurgie.....	121
Figure 38: L'évolution du métabolisme cortical, six mois après la chirurgie	121
Figure 39: L'évolution du volume hippocampique six mois après la chirurgie	122
Figure 40: L'évolution du métabolisme hippocampique, 6 mois après la chirurgie	123
Figure 41: La distance totale parcourue et le nombre total de redressements évalués par l'actimétrie, 12 mois après la chirurgie	124
Figure 42: Le pourcentage de temps passé dans les bras ouverts du labyrinthe en croix surélevé par rapport au temps passé dans les bras ouverts et fermés, 12 mois après la chirurgie.....	124
Figure 43: Le pourcentage d'alternance dans les trois bras du labyrinthe en Y, 12 mois après la chirurgie.....	125
Figure 44: L'indice de discernement en pourcentage dans le test de reconnaissance d'objet, 12 mois après la chirurgie.	126
Figure 45: L'évolution du volume cortical un an après la chirurgie	127
Figure 46 : L'évolution du métabolisme cortical, un an après la chirurgie	128
Figure 47: L'évolution du volume hippocampique un an après la chirurgie.....	129
Figure 48: L'évolution du métabolisme hippocampique un an après la chirurgie	130
Figure 49: Taux d'œstrogène plasmatique chez les différents groupes de souris à un mois et demi et douze mois après la chirurgie	133
Figure 50: Dosage du taux de cholestérol total plasmatique à un mois et demi et à douze mois après la chirurgie.	134
Figure 51: Le déclin du score de MMSE dans le temps selon la présence ou non d'une microhémorragie.	142
Figure 52: Le déclin du score de MMSE dans le temps selon le sexe	147
Figure 53: Le déclin du score de MMSE dans le temps selon l'administration ou non de statines	151

LISTE DES SCHEMAS

Schéma 1 Proposition du nouveau concept de cadre diagnostique pour la maladie d'Alzheimer (D'après Jack, 2018)	21
Schéma 2 : Modèle hypothétique de la physiopathologie de la maladie d'Alzheimer, d'après Sperling, 2011.....	28
Schéma 3: Résumé original des principaux mécanismes physiopathologiques consécutifs aux MH, potentiellement responsables des conséquences cliniques. BHE : barrière hémato-encéphalique.....	38
Schéma 4: Résumé original des effets pléiotropes principaux des statines en dehors de l'effet hypolipémiant.....	55
Schéma 5: Le déroulement du dPal lors d'une session, issu de Horner et al, 2013	81
Schéma 6: Déroulement du test de reconnaissance d'objet	82
Schéma 7: Localisation des coupes de cerveau d'après l'atlas de Paxinos et Watson	84
Schéma 8: Représentation des plans de dissections des cerveaux permettant d'isoler les structures d'intérêt.....	85
Schéma 9: Les différentes étapes d'ELISA par compétition pour doser l'œstradiol.	86
Schéma 10: L'effectif réel pour les analyses de comparaison en fonction des MH, du genre, et du traitement sous analyses	138
Schéma 11: Proposition des interactions entre les microhémorragies (MH), les statines, l'œstradiol (E2) sur le déclin cognitif chez les sujets sains et les patients avec la maladie d'Alzheimer (MA).....	178

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: Revue des méthodes évoquées dans la littérature pour induire une microhémorragie chez les rongeurs.....	42
Tableau 2: Aperçu des études précliniques investiguant les effets pléiotropes des statines.....	61
Tableau 3: Liste des séquences d'amorces utilisées pour le géotypage	66
Tableau 4: Liste des séquences d'amorces utilisées pour l'étude de l'expression génique des récepteurs aux oestrogènes.....	89
Tableau 5: Critères cliniques de diagnostic de MA probable selon McKhann et al, 2011	93
Tableau 6 :Critères diagnostiques de recherche de MA selon McKhann et al, 2011	94
Tableau 7: Les décès au cours du protocole expérimental	104
Tableau 8: Récapitulatif des modifications neurocomportementales chez les souris femelles WT et transgéniques sous l'effet d'une MHC, d'atorvastatine, et de la mutation d'APP (lignée J20).....	131
Tableau 9: Récapitulatif des modifications de la volumétrie et du métabolisme au niveau cortical et hippocampique chez les souris femelles WT et transgéniques sous l'effet d'une MHC, d'atorvastatine, et de la mutation d'APP (lignée J20).....	133
Tableau 10: Analyse univariée des caractéristiques cliniques des patients au début du suivi selon la présence ou non d'une microhémorragie	140
Tableau 11: Analyse univariée des données des biomarqueurs des patients au début du suivi selon la présence ou non d'une microhémorragie	141
Tableau 12: Analyse univariée du taux d'institutionnalisation des patients en fonction de la présence ou non d'une microhémorragie	141
Tableau 13: Analyse univariée des données de l'IRM cérébrale à la fin du suivi.....	142
Tableau 14: Analyse univariée des caractéristiques cliniques des patients au début du suivi selon le sexe.	145
Tableau 15: Analyse univariée des données des biomarqueurs des patients au début du suivi selon le sexe.	146
Tableau 16: Analyse univariée du taux d'institutionnalisation des patients selon le sexe	146
Tableau 17: Analyse univariée des données de l'IRM cérébrale à la fin du suivi.....	147
Tableau 18: Analyse univariée des caractéristiques cliniques des patients au début du suivi selon l'administration ou non de statines	149
Tableau 19: Analyse univariée des données des biomarqueurs des patients au début du suivi selon l'administration ou non de statines.	150
Tableau 20: Analyse univariée du taux d'institutionnalisation des patients selon l'administration ou non de statines.....	150
Tableau 21: Analyse univariée des données de l'IRM cérébrale à la fin du suivi.....	151
Tableau 22: Résumé des effets des MHs en fonction de la condition.	162

Liste des abréviations

AAC : angiopathie amyloïde cérébrale
ADNI : Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative
AIT : accident ischémique transitoire
Akt : protéine kinase B
AMM : autorisation de mise sur le marché
ApoE : Apolipoprotéine E
ApoE4 : L'allèle ϵ 4 du gène Apolipoprotéine E
APP : protéine précurseur de l'amyloïde
AT : atorvastatine
A/T/N : Amyloïde/Tau/Neurodégénérescence
AVC : Accident vasculaire cérébral
BH4 : tétrahydrobioptérine
BHE : Barrière hémato-encéphalique
BREF : Batterie Rapide d'Efficiency Frontale
CA1 : corne d'Ammon 1
CDR : Cognition Dementia Rating Scale
CMRR : Centre Mémoire de Ressources et de Recherche
CNR-MAJ : Centre National de Référence Malades Alzheimer Jeunes
COMAJ : Cohorte Malades Alzheimer Jeunes
CPK : créatine-phosphokinases
DFT : Démence fronto-temporale
DNF: Dégénérescence neurofibrillaire
E1 : estrone
E2 : estradiol
EDF : Echelle de Dysfonctionnement frontal
Esr α : récepteur aux œstrogènes α
Esr β : récepteur aux œstrogènes β
FDA : Food and Drug Administration
FDG : Fluoro-Désoxy-Glucose
FDRV : Facteur de risque vasculaire
FOV : Field of view
GTP : small guanosine triphosphate binding protein
HAS : haute autorité de santé
HDL : high density lipoprotein
HMG-CoA réductase: Hydroxy-méthylglutaryl-Coenzyme A réductase
HTA : hypertension artérielle
IADL : Instrumental Activities of Daily Living
ICAM-1 : InterCellular Adhesion Molecule-1
IDM: infarctus du myocarde
IMC : Indice de masse corporelle
IRM : imagerie par résonance magnétique
IQR : interquartiles
LCS: liquide cérébro-spinal
LDL : low density lipoprotein
LPS : lipopolysaccharides
MA : Maladie d'Alzheimer
MGE : multi gradient echo
MH : microhémorragie
MI : microinfarctus

MMP : métalloprotéinase matricielles
MMSE : Mini Mental State Examination
MOCA : Montréal Cognitive Assessment
NIA-AA : National Institute of Aging and Alzheimer's Association
NINCDS-ADRDA : National Institute of Neurological and Communicative Diseases and Stroke/Alzheimer's Disease and Related Disorders Association
NMDA: acide N-méthyl-D-aspartique
NOR : novel object recognition
eNOS : oxydes nitriques synthétases endothéliales
NPI : Neuro Psychiatric Inventory
dPAL: object-location paired-associate learning task
PAQUID : Personnes âgées quid
PCR : polymérase chain reaction
PDGF β Platelet Derived Growth Factor β
PFA : paraformaldéhyde
PI3K : phosphoinositol 3 kinase
PiB: Pittsburgh Compound B
PL : ponction lombaire
PPAR : Peroxysome proliferator-activated receptor
PS1 : préséniline 1
SB-PV : substance blanche périventriculaire
SB-SC : substance blanche sous-corticale
SUV : standardized uptake value
TBP : TATA Binding Protein
TCL : troubles cognitifs légers
TEP : Tomodensitométrie par émission de positons
TNF : tumor necrosis factor
WT : wild-type

INTRODUCTION

En 1907, Alois Alzheimer évoquait une description de la symptomatologie d'Auguste D, qui présentait des troubles du langage, des troubles comportementaux, avec des hallucinations paranoïdes, et une anxiété. La perte de mémoire était présente mais n'était pas le signe prédominant. Au décès de la patiente, il décrit des lésions histologiques de dégénérescences neurofibrillaires, et de dépôts amyloïdes, qui deviendront des lésions pathognomoniques de la maladie d'Alzheimer (MA) (Stelzmann et al., 1995).

De nos jours, les connaissances sur la maladie ont beaucoup évolué. Dans les années 2000, grâce aux avancées de la recherche sur les biomarqueurs et l'approfondissement des connaissances sur les signes cliniques, la notion de TCL (troubles cognitifs légers) a été introduite (Winblad et al., 2004), permettant une prise en charge plus précoce. Il a également été établi que les changements physiopathologiques de la MA commencent de nombreuses années avant les premières manifestations cliniques de la maladie. Les critères de diagnostic de la MA ont été revus en 2011 (McKhann et al., 2011), ce qui a permis entre autres, l'intégration plus souple des notions de formes atypiques, non amnésiques. Les critères de recherche de 2011 ont également accordé une place importante aux biomarqueurs. Les nouvelles classifications du NIA-AA basées sur le système A (Amyloïde)/T (Tau) /N (neurodégénérescence) de 2018 ont ainsi proposé une définition biologique de la maladie (Jack et al., 2018). Elles sont cependant encore loin d'être consensuelles dans la communauté scientifique.

Malgré d'innombrables travaux de recherches cliniques et précliniques, la MA reste incurable. La complexité de la maladie, vraisemblablement d'origine multifactorielle et de présentation assez hétérogène, rend difficile la prise en charge. Ce travail de thèse s'est attaché à contribuer à une meilleure caractérisation des troubles cognitifs de la maladie d'Alzheimer par une approche transversale associant données cliniques et données expérimentales et en étudiant spécifiquement certains facteurs potentiels d'influence comme les microhémorragies, le sexe ou encore la modulation pharmacologique.

A. La maladie d'Alzheimer : quelle place pour la dysfonction vasculaire ?

1. Caractéristiques générales de la maladie d'Alzheimer

a. La définition

La MA est une maladie neurodégénérative lentement progressive. Nos connaissances sur la MA ne cessant d'évoluer, la définition de la MA est également devenue un concept dynamique (Scheltens et al., 2016). Il y a plus de 30 ans, en l'absence d'exploration paracli-

nique, la MA était définie par des critères clinico-pathologiques (McKhann et al., 1984). Le diagnostic était considéré comme possible ou probable en fonction d'un ensemble de signes cliniques et la maladie était qualifiée de certaine lorsque qu'ensuite, les lésions histologiques typiques étaient observées à l'autopsie. Aujourd'hui, la maladie est plutôt considérée comme un continuum clinico-biologique (Jack et al., 2018, 2016) (Schéma 1). Pour autant, les signes et les syndromes cliniques gardent toute leur importance pour prendre en charge les patients au stade du déclin cognitif.

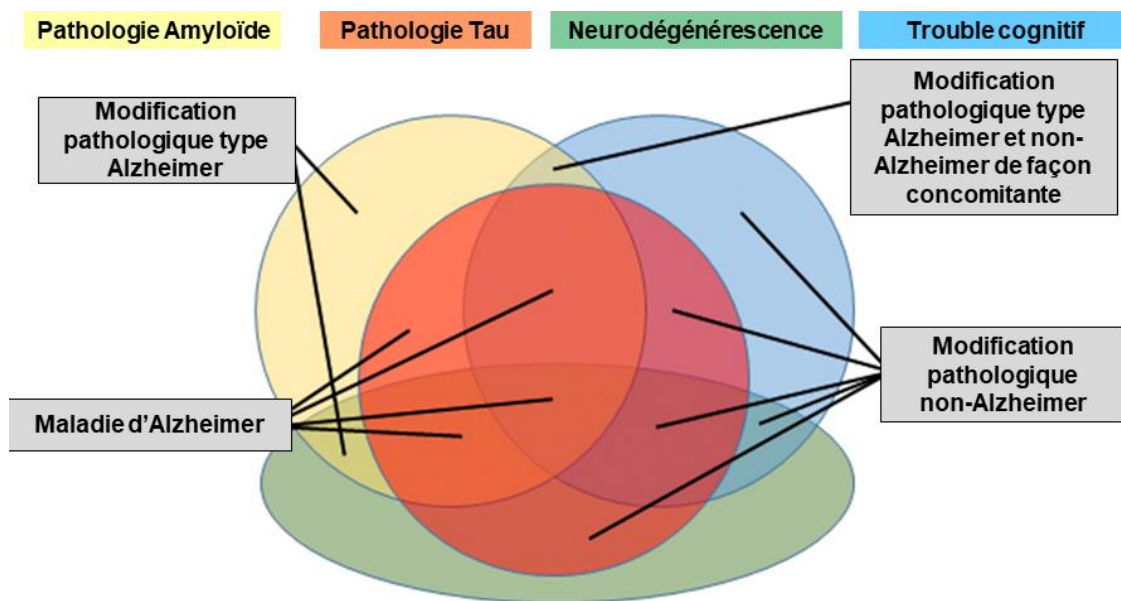


Schéma 1 Proposition du nouveau concept de cadre diagnostique pour la maladie d'Alzheimer (D'après Jack, 2018)

Comment la dysfonction vasculaire intervient-elle dans cette pathologie ? Comment influence-t-elle la présentation clinique lors de la phase du déclin cognitif ? Faut-il l'inclure dans le système A/T/N (Pathologie amyloïde/Pathologie Tau/Neurodégénérescence), ou proposer le concept du système A/T/V/N (Pathologie amyloïde/Pathologie Tau/Lésions vasculaires/Neurodégénérescence) comme le suggère les nouvelles définitions du NIA-AA ?

b. Les données épidémiologiques

En 2015, le nombre de personnes souffrant de démence dans le monde a été estimé à plus de 46 millions. Et il pourrait atteindre 131,5 millions en 2050 (Prince et al., 2015). En France, les personnes présentant une démence seraient plus d'un million ("Alzheimer's and Dementia in France," 2018). Les enjeux socio-économiques sont évidemment majeurs. Envi-

ron 35 255 euros sont dépensés par an et par patient en Europe (Prince et al., 2015). Néanmoins, l'incidence a plutôt tendance à rester stable, voire à diminuer dans les pays occidentaux (Grasset et al., 2016; Langa, 2015; Satizabal et al., 2016). Cette diminution de l'incidence pourrait être le reflet de modifications du profil de facteurs de risque vasculaire et de facteurs de protection, à l'échelle de la population générale. Un meilleur contrôle de ces facteurs de risque vasculaire en milieu de vie pourrait notamment être en partie responsable (Johansson et al., 2010).

La MA est la cause la plus fréquente de démence tous âges confondus. Au-delà de 65 ans, le taux de prévalence doublerait par tranche d'âge de 5 ans : 0,8% chez les 65-69 ans et jusqu'à 28,5% chez les plus de 90 ans (Lobo et al., 2000). La prévalence et l'incidence seraient plus importantes chez les femmes au-delà de 70 ans. Après 90 ans, plus de 45% de femmes seraient atteintes de la MA (Fratiglioni et al., 2000; Letenneur et al., 1999).

Par ailleurs, le nombre de patients jeunes présentant une démence (i.e dont les premiers symptômes ont débutés avant l'âge de 65 ans) est loin d'être négligeable. Selon les estimations, environ 3 à 5% des démences débutent précocement (Alzheimer's Association, 2013; Harvey et al., 2003). La prévalence de la démence chez ces patients est estimée à 54 pour 100 000 entre 30 et 45 ans, et à 98 pour 100 000 parmi les 45-64 ans. Selon une étude anglaise, l'incidence est estimée à 12 cas pour 100 000 personnes par année pour les 45-64 ans (Mercy et al., 2008). En France, la prévalence des patients jeunes atteints de MA et de maladies apparentées est estimée à 18 000 personnes, dont 5 000 auraient moins de 60 ans (d'après une enquête du Centre National de Référence Malade Alzheimer Jeune (site du CNR-MAJ) en 2010) (Pasquier et al., 2015).

L'impact de la maladie est majeur pour les patients, pour leur entourage ainsi que pour la société. Une meilleure compréhension des mécanismes physiopathologiques impliqués est primordiale, afin de permettre une prise en charge globale, efficace, et davantage personnalisée.

c. Les signes cliniques

La MA est une maladie complexe, tant d'un point de vue clinique que sur le plan de l'histopathologie.

L'expression clinique de la maladie évolue de manière insidieuse et progressive. Toutes les sphères de la cognition peuvent être concernées. On distingue classiquement quatre formes de la maladie, en fonction de la fonction cognitive la plus altérée (McKhann et al.,

2011). La principale présentation est mnésique, et les autres sont exécutive, langagière et visuo-spatiale.

Les troubles de la mémoire sont constants au cours de l'évolution de la MA et très souvent ils constituent les premiers symptômes de la maladie. C'est tout d'abord la mémoire épisodique qui est altérée (Amieva et al., 2008). Au fur et à mesure de l'évolution clinique, les déficits mnésiques concernent ensuite successivement la mémoire de travail, la mémoire sémantique et la mémoire procédurale.

Les fonctions exécutives correspondent à la programmation et au contrôle des tâches complexes. Les atteintes se manifestent fréquemment chez les patients par l'abandon d'une activité en cours, par une difficulté d'organisation, par l'impossibilité d'exécuter une double tâche ou par une perplexité (Allain et al., 2013). Le déclin des fonctions exécutives permettrait de prédire le risque d'évolution vers une MA chez les patients présentant des TCL (Amieva et al., 2008). Plus de 75% des patients souffrant de MA au stade léger présenteraient en effet une atteinte des fonctions exécutives (Godefroy et al., 2014).

Les troubles du langage concerneraient environ un tiers des patients lors du diagnostic de MA et la quasi-totalité des malades au stade de démence sévère, leur fréquence et leur sévérité s'accroissant progressivement au cours de l'évolution (Vuorinen et al., 2000).

L'aphasie présentée par les patients atteints de MA est initialement, dans la grande majorité des cas, d'une sévérité très modérée. Le langage spontané demeure indemne pendant plusieurs années, sans erreur phonologique ni syntaxique majeure. Cependant, il devient de moins en moins informatif par appauvrissement sémantique et utilisation de paraphrasies. A un stade avancé, le recours à un jargon rend la communication verbale difficile (De Lira et al., 2011). Les capacités de répétition sont longtemps préservées pour les mots et les phrases simples, alors qu'elles s'altèrent progressivement pour les phrases complexes. De même, la compréhension du langage élaboré est altérée.

Les patients atteints de MA présenteraient une anosognosie dans 20% à 80% des cas, selon les études. Cette grande disparité pourrait être expliquée par l'hétérogénéité des populations étudiées (Starkstein, 2014). L'anosognosie concernerait l'altération des capacités cognitives, la perte d'autonomie et les symptômes psychiatriques. Elle serait partagée par la très grande majorité des patients jeunes ou présentant une forme débutante de la MA. Toutefois, un tiers des patients au stade de démence sévère, garderait une certaine conscience des troubles occasionnés par la MA (Starkstein et al., 2006).

L'agnosie qui est décrite dans la MA peut concerner la reconnaissance visuelle des images complexes, des visages, et de certains objets. La présence simultanée d'agnosie vi-

suelle, d'asimultagnosie, et de négligence visuo-spatiale constitue le syndrome de Balint et peut représenter la sémiologie dominante pendant plusieurs années (Tang-Wai et al., 2004).

Au début de la maladie, les troubles d'orientation temporo-spatiale concernent surtout les lieux nouveaux, ainsi que les dates. Au fil de l'évolution, les patients perdent progressivement leurs repères dans les lieux habituels, et ne parviennent plus à se repérer chronologiquement dans la journée.

Les manifestations apraxiques peuvent toucher à des degrés divers l'ensemble des fonctions constituant l'organisation gestuelle (Lesourd et al., 2013). L'apraxie constructive en est probablement une des manifestations les plus constantes, et s'avère souvent précoce. Les apraxies motrice, idéatoire et idéomotrice, ainsi que les apraxies de l'habillage s'observent à un stade plus avancé de la maladie. Les manifestations apraxiques dans leur ensemble augmentent considérablement le risque de chute.

La fréquence des symptômes psychiatriques est souvent sous-estimée, dès la phase prodromale de la maladie (Holtzer et al., 2005). La dépression et l'anxiété seraient les signes les plus fréquents. La dépression aurait une expression clinique significativement différente de celle des sujets sans démence, caractérisée notamment par une fréquence moindre du sentiment de culpabilité ainsi que par une présence marquée de symptômes délirants ou hallucinatoires (Zubenko et al., 2003). L'apathie, considérée comme un trouble de la motivation, est le symptôme psycho-comportemental le plus fréquent, affectant plus des trois quarts des patients, tous stades confondus (Robert et al., 2004).

Par ailleurs, l'examen neurologique reste longtemps indemne, avec une absence de signe de focalisation. Avec l'évolution de la maladie, des signes neurologiques apparaissent progressivement, tels que des signes extra-pyramidaux, des myoclonies, ou encore une épilepsie.

Particularités cliniques chez les patients jeunes

La présentation clinique peut s'avérer différente chez les patients jeunes. A la première consultation, un tiers des patients jeunes présentent un phénotype clinique non amnésique avec au premier plan une aphasie, une apraxie, un trouble visuo-spatial, un syndrome dysexécutif ou comportemental (Koedam et al., 2010). D'autres présentations atypiques, beaucoup plus rares, existent. Elles sont dans certains cas causées par des mutations génétiques : parapésie spastique, syndrome extrapyramidal prédominant, crise d'épilepsie ou plus rarement ataxie cérébelleuse (Wallon et al., 2012).

De plus, les symptômes initiaux sont souvent attribués à tort à une cause psychologique ou psychiatrique, et la prévalence des troubles comportementaux et des symptômes dépressifs semble plus importante que chez les patients plus âgés (Smits et al., 2012; van Vliet et al., 2013).

d. Les biomarqueurs

Les biomarqueurs de la MA reflètent la présence de deux lésions élémentaires de la maladie, les dépôts amyloïdes et les dégénérescences neurofibrillaires (DNF) dont la physiopathologie sera détaillée plus loin. Trois groupes de biomarqueurs sont ainsi définis :

- Les biomarqueurs de dépôts amyloïdes :

→ Diminution de la concentration du peptide A β 42 dans le liquide cébrospinal (LCS) (Blennow et Hampel, 2003)

→ Fixation corticale anormale de traceur amyloïde en tomographie par émission de positons (TEP) (Villemagne et al., 2018) ;

- les biomarqueurs de la DNF :

→ Elévation des concentrations des protéines Tau totales et Tau phosphorylées dans le LCS (Blennow et Hampel, 2003) ;

→ Fixation corticale anormale de traceur de Tau en TEP (Villemagne et al., 2018) ;

- Les biomarqueurs de dégénérescence neuronale,

→ Atrophie focale principalement hippocampique, en lien avec la perte neuronale visible en imagerie par résonance magnétique (IRM) (Gosche et al., 2002) et hypométabolisme des carrefours temporo-pariétaux du traceur fluoro-deoxy-glucose (FDG) en TEP (Coleman, 2005).

Les 3 principaux biomarqueurs dans le LCS possèdent une sensibilité et une spécificité de 85-90 % au stade prodromal de la MA (Visser et al., 2009). Ils reflètent l'existence d'un continuum de lésions pathologiques de type Alzheimer. Ces biomarqueurs sont également positifs chez des sujets ne présentant aucun signe de déclin cognitif, au stade préclinique (Bateman et al., 2012).

L'IRM permet dans un premier temps d'éliminer les causes secondaires de démence telles qu'une tumeur cérébrale, un hématome sous-dural, une hydrocéphalie à pression normale, et surtout, dans un second temps, de définir la topographie, de quantifier l'atrophie hippocampique, et de rechercher des lésions vasculaires associées.

Chez les patients jeunes, l'atrophie hippocampique classiquement décrite dans la MA du sujet âgé n'est pas toujours présente. Une atrophie du cortex occipital est plus fréquemment identifiée (Shibuya et al., 2013). Ces spécificités peuvent aisément être à l'origine

d'erreurs ou de retards diagnostiques. Pour autant, lorsqu'ils sont analysés, d'autres biomarqueurs de MA (dans le LCS, en TEP au FDG) (Kim et al., 2005), ou aux marqueurs de plaques amyloïdes) objectivent des anomalies spécifiques chez ces patients, indépendamment de leur âge.

e. Les stratégies thérapeutiques

L'accompagnement de la MA a été l'objet de plusieurs recommandations de la HAS (Haute Autorité de Santé) (HAS, 2011). Sa prise en charge médicamenteuse a d'ailleurs été sujet à controverse suite à une décision de non-remboursement des médicaments dits anti-Alzheimer (HAS, 2018; Krolak-Salmon et al., 2018).

Les stratégies thérapeutiques actuelles peuvent se résumer en deux volets :

- Prise en charge médicamenteuse :

→ Médicaments dit anti-Alzheimer : deux classes de médicaments ont l'AMM : les anticholinestérasiques : Donépézil, Rivastigmine, et Galantamine ; et les antagonistes des récepteurs NMDA : Mémantine ;

→ Médicaments symptomatiques, principalement contre les troubles de l'humeur et du comportement : les anxiolytiques et les antidépresseurs, notamment sérotoninergiques ;

→ Médicaments de prévention secondaire permettant de contrôler les FDRV : les antihypertenseurs, les hypolipémiants, les antidiabétiques, etc ;

→ Médicaments en cours de développement dits « disease-modifier » : intervenant dans la cascade amyloïde, ou dans la pathologie Tau ;

- Prise en charge non médicamenteuse :

→ Prise en charge sociale et financière : reconnaissance de maladie de longue durée, protection juridique, aide financière, allocation pour autonomie, etc ;

→ Renforcement des aides humaines : auxiliaires de vie, infirmiers à domicile, sécurisation de l'environnement à domicile, etc ;

→ Stimulation cognitive : prise en charge orthophonique, renforcement de l'activité physique, accueil de jour avec activités cognitives diverses, etc ;

→ Aide aux aidants équipes de soins à domicile, plateforme de répit.

Le schéma thérapeutique est à adapter en fonction du profil de chaque patient, non seulement en fonction du stade de la MA, mais également en fonction des comorbidités, et des signes associés.

2. La physiopathologie de la maladie d'Alzheimer

a. Les lésions élémentaires neurodégénératives

Sur le plan histologique, la MA est caractérisée par la présence dans le cortex cérébral de deux lésions neuropathologiques particulières : des dépôts amyloïdes sous forme de plaques amyloïdes, et des neurones en dégénérescence neurofibrillaire (DNF) consécutive à l'agrégation de protéines Tau hyperphosphorylées. Ces deux lésions contribuent in fine à la dégénérescence neuronale qui se manifeste par une atrophie cérébrale sur le plan macroscopique et par une perte des neurones et de connexions neuronales sur le plan microscopique (Braak et Braak, 1994).

Les plaques séniles sont extracellulaires et sont constituées d'un cœur dense fibrillaire A β et d'une couronne périphérique de cellules inflammatoires et de neurites dystrophiques. Elles sont responsables d'une altération des fonctions synaptiques, d'une activation de réponse inflammatoire, et de stress oxydatif (Blennow et al., 2015). La dégénérescence neurofibrillaire est quant à elle induite par l'agrégation de la protéine Tau intracellulaire hyperphosphorylée. Ces atteintes lésionnelles par DNF empruntent un chemin de progression spatiale bien stéréotypée, depuis le locus coeruleus vers les aires primaires, en passant par les zones transentorhinales, l'hippocampe, les structures paralimbiques et les aires associatives (Braak et Braak, 1991).

Grâce aux études épidémiologiques portant sur les formes génétiques de la MA, ainsi qu'au recours à des biomarqueurs permettant de mesurer la charge lésionnelle chez les sujets, nous savons que la maladie évolue de manière lente et progressive et que ces lésions peuvent rester « silencieuses » durant une dizaine d'années avant le début des premiers signes cliniques de la maladie (Bateman et al., 2012; Fagan et al., 2014; Jack et Holtzman, 2013).

Les mécanismes déclencheurs des lésions sont encore largement méconnus, et diffèrent certainement en fonction de l'âge auquel survient la maladie (Jack et Holtzman, 2013). L'une des principales hypothèses est la survenue d'une cascade amyloïde (Hardy et Selkoe, 2002). La protéine précurseur d'amyloïde, anormalement clivée, conduirait à un déséquilibre entre la production et l'élimination des protéines A β , lesquelles s'accumuleraient dans le parenchyme, provoquant in fine la formation des plaques amyloïdes. Ces plaques activeraient alors le processus de DNF, se propageant de proche en proche et conduisant à la mort neuronale.

b. Le processus multifactoriel de la MA

Même si le phénomène de cascade amyloïde fait certainement partie des mécanismes déclencheurs de la maladie, il ne permet pas d'appréhender toute la complexité de la MA. De fait, la physiopathologie de la maladie pourrait être liée à un ensemble de dysfonctionnements complexes, notamment dans sa forme sporadique (Schéma 2). Interviennent certainement l'âge, les susceptibilités génétiques, les facteurs de risque vasculaires (FDRV), les maladies cérébro-vasculaires et cardio-vasculaires, la réserve cognitive, et les facteurs environnementaux (Sperling et al., 2011).

L'âge et les susceptibilités génétiques restant des facteurs non modifiables, de très nombreux travaux se sont concentrés sur l'influence des facteurs environnementaux et des FDRV. Ces études, parfois contradictoires, se sont surtout focalisées sur l'influence des FDRV des patients présentant une MA d'installation tardive, c'est-à-dire après 65 ans, voire plus souvent encore après 75ans (Knopman et al., 2009; Purnell et al., 2009).

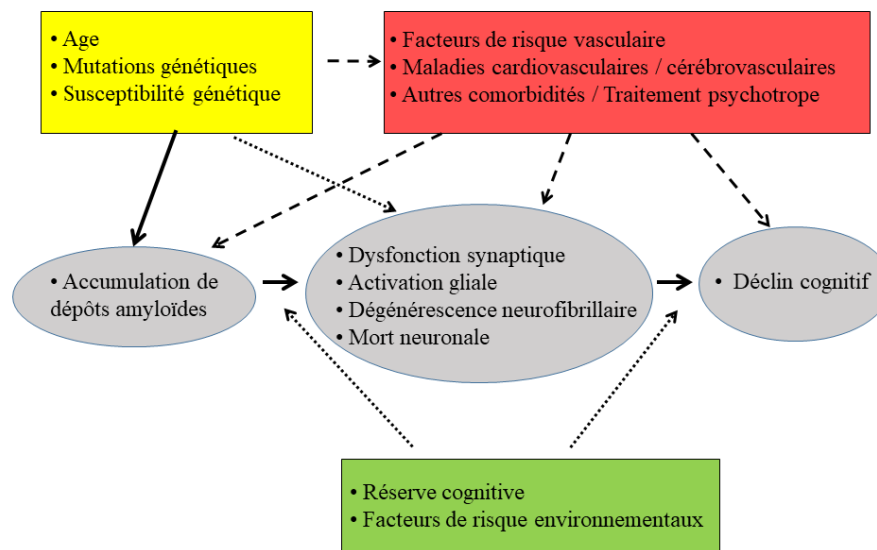


Schéma 2 : Modèle hypothétique de la physiopathologie de la maladie d'Alzheimer, d'après Sperling, 2011

c. La dysfonction vasculaire

Dans ce contexte de processus multifactoriel induisant la MA, l'hypothèse vasculaire fait débat depuis ces dernières années. La MA n'est bien sûr pas une maladie vasculaire primaire. Selon les critères de NIA-AA de 2011, le diagnostic de MA ne devrait pas être posé en

présence d'une maladie cérébrovasculaire substantielle, laquelle serait définie par un déclin cognitif concomitant à un AVC ou à des lésions vasculaires extensives sur l'IRM cérébrale (McKhann et al., 2011). Cependant, les lésions vasculaires, telles que la leucopathie et les lacunes, semblent bien plus fréquentes chez les patients atteints de MA que chez les sujets témoins (Gorelick et al., 2011). De nombreuses études cliniques ont également objectivé une augmentation de l'incidence de la MA dans les suites d'accidents vasculaires ischémiques (Leys et al., 2005). Selon l'hypothèse vasculaire, les lésions initiales des vaisseaux cérébraux induisent une dysfonction de la barrière hémato-encéphalique (BHE), ce qui diminue la perfusion cérébrale, et seraient ainsi à l'origine d'une accumulation d'A β (Sweeney et al., 2018). Se pose ainsi la question du rôle réel joué par ces lésions vasculaires dans l'installation des troubles cognitifs. Quels sont les types de lésions vasculaires impliqués ? Enfin, existe-t-il un continuum entre les maladies cérébrovasculaires et la MA ?

i. Le poids des lésions vasculaires

La relation existant entre les lésions vasculaires et la MA est complexe (Gorelick et al., 2011). Tout d'abord, la prévalence de ces deux entités augmente exponentiellement avec l'âge. MA et lésions vasculaires coexistent donc de façon fréquente chez les mêmes sujets, sans nécessairement toutefois de lien de cause-à-effet. Par ailleurs, ces deux entités se caractérisent par leur grande hétérogénéité. Ainsi, l'impact des lésions vasculaires sur la MA pourrait également s'avérer hétérogène. Ces lésions pourraient, selon les circonstances, la topographie, et le type, être tantôt l'élément déclencheur de la MA, tantôt l'élément aggravant voire tout simplement coexister sans relation directe (Schneider et al., 2009). Néanmoins, même si le lien mécanistique entre les lésions vasculaires et la MA reste à préciser, il devient de plus en plus certain que ces deux entités sont étroitement liées, indépendamment de l'âge. La présence simultanée de pathologie cérébro-vasculaire et de MA est d'une prévalence bien plus élevée que dans n'importe quelle autre maladie neurodégénérative (Toledo et al., 2013). Ainsi, les lésions cérébro-vasculaires sont présentes dans au moins un tiers des cas de MA (Jellinger et Attems, 2007).

L'une des premières lésions vasculaires rencontrées est l'infarctus cérébral. Les infarctus cérébraux sont très fréquents chez les sujets âgés, et leur présence aggrave les troubles cognitifs chez les patients atteints de MA (Schneider et al., 2004), en particulier la mémoire épisodique. En plus des infarctus de grande taille présents chez une partie des patients atteints de MA, les micro-infarctus (MI) sont également présents chez 43% d'entre eux d'après une étude autopsique (Brundel et al., 2012) alors que les MI sont présents chez 33% des personnes

âgées ne présentant aucun signe de démence (Smith et al., 2012). Ces MI se situent dans toutes les régions du cerveau, probablement de manière prépondérante au niveau cortical, et mesurent de 50 µm à 5 mm (Brundel et al., 2012). Ces lésions supposées silencieuses pourraient en réalité induire un déclin cognitif (Hilal et al., 2016; Van Veluw et al., 2015). Une méta analyse récente a montré une augmentation du risque de développer une MA en présence de MI (Liu et al., 2018). Les mécanismes de ce lien ne sont toutefois pas encore élucidés, d'autant que les MI sont de très petite taille. Ces MI pourraient par ailleurs s'avérer n'être que des conséquences loco régionales de la MA, consécutives à l'inflammation, ou à l'altération locale de la BHE.

Les lésions de substance blanche (SB), en général visualisées sur la séquence T2 FLAIR en IRM par une plage hyperintense périventriculaire ou sous-corticale, sont également très fréquentes chez le sujet âgé. Elles sont le reflet de l'artériosclérose dans le cadre de la maladie des petites artères, et sont favorisées par des FDRVs tels que l'hypertension artérielle et le diabète. Ces lésions sont observées plus fréquemment chez les sujets présentant un TCL (Van Der Flier et al., 2005), et chez ceux atteints de MA (Yoshita et al., 2006). Les patients présentant un TCL de type amnésique, seraient plus à risque de déclarer une MA dès lors qu'ils seraient présentés des lésions de la SB-PV (Straaten et al., 2008). Les patients présentant un TCL non amnésique auraient quant à eux tendance à être préservés d'une évolution vers une démence, et ce d'autant plus que leur SB est indemne de lésion (Devine et al., 2013). Chez les patients déments, une étude a mis en évidence un lien entre la présence de lésions de la SB et l'atrophie du cortex entorhinal, suggérant une intervention de ce type de lésions vasculaires dans le processus neurodégénératif (Tosto et al., 2015). La topographie périventriculaire des lésions de SB serait un facteur de risque plus important que celle sous-corticale de ces mêmes lésions pour le développement d'une MA (Kim et al., 2015). Il existerait une relation entre les lésions de substance blanche et la pathologie Aβ chez les patients Alzheimer, mais pas dans la population générale (Liu et al., 2018).

Enfin, les MH cérébrales sont des lésions vasculaires fréquemment retrouvées chez les patients présentant une MA et seront évoquées dans le chapitre suivant (cf **B. Les microhémorragies et la cognition**)

ii. Le poids des facteurs de risque vasculaire

En plus des lésions vasculaires, plusieurs FDRV ont été décrits comme étant des facteurs de risque de développement de MA et ce d'autant plus que sa survenue est tardive (O'Brien et Markus, 2014). Un meilleur contrôle des FDRVs chez les patients âgés permet-

trait de ralentir leur déclin cognitif, et de retarder le début de la maladie (Deschaintre et al., 2009). Selon une récente méta-analyse, un tiers des cas de MA dans le monde pourrait être attribué à 7 facteurs modifiables, dont le niveau d'éducation bas, l'obésité en milieu de vie, l'hypertension en milieu de vie, le diabète, l'inactivité physique, le tabac et la dépression (Norton et al., 2014).

De nombreux travaux et revues ont porté sur les liens existant entre MA et FDRV, avec parfois des résultats contradictoires (Tolppanen et al., 2012). Le poids des facteurs de risque n'est certainement pas le même en fonction de chaque facteur, et ce poids varie probablement en fonction de l'âge du patient.

L'association entre la pression artérielle et la MA dépend fortement de l'âge (Power et al., 2011). Les études longitudinales ont montré qu'il existe une association entre un niveau élevé de pression artérielle en milieu de vie et l'augmentation du risque de MA de survenue tardive (Rönnemaa et al., 2011). Cependant, le niveau de pression artérielle à un âge avancé ne semble pas lié à la survenue de la MA. La diminution de pression artérielle à un âge tardif serait même associée à un risque accru de MA (Qiu et al., 2004). Chez les patients présentant une MA, les lésions de la substance blanche étaient associées à un déclin cognitif plus rapide en présence d'une hypertension artérielle (Chou et al., 2018). Quelques antihypertenseurs auraient par ailleurs des effets pléiotropiques. Certains anti-calciques, au-delà de leur effet vasculaire, seraient par exemple en mesure d'interagir avec les processus histopathologiques de la MA, de par leur action sur la diminution de la production d'A β (Lebouvier, Chen, et al article en préparation). Néanmoins, les essais thérapeutiques n'ont pas été très concluants à ce jour, probablement en raison d'une administration thérapeutique trop tardive (Lawlor et al., 2018; McGuinness et al., 2009).

Tout comme pour l'hypertension artérielle, les relations entre l'hypercholestérolémie et la MA dépendent de l'âge du patient. En effet, un niveau élevé de cholestérol total en milieu de vie serait un facteur de risque de développer une MA, alors qu'il n'existerait pas d'association entre le niveau du cholestérol mesuré à un âge avancé et le risque de MA (Anstey et al., 2008). Des études de cohorte ont mis en évidence une majoration du risque de développer une MA, de l'ordre de deux à trois fois, chez les personnes dont le niveau total de cholestérol dépasse les 6,5 mmol/L en milieu de vie (Kivipelto et al., 2001; Notkola et al., 1998; Solomon et al., 2009). Même si le facteur de susceptibilité génétique le plus puissant pour la MA concerne l'Apolipoprotéine E (APOE), qui est impliquée dans le transport du cholestérol, l'association entre le niveau de cholestérol et la MA semble indépendante du statut génétique de l'ApoE (Notkola et al., 1998). L'utilisation des médicaments hypolipémiants

serait associée à une diminution du risque de déclin cognitif (Li et al., 2011). D'autres essais ont conclu à une absence d'effet (Feldman et al., 2010). Le lien entre les statines et le déclin cognitif sera développé plus loin dans l'introduction.

L'obésité et le diabète en milieu de vie seraient associés à un risque plus élevé de développer une MA, de 1,9 et de 1,4 respectivement selon une récente méta-analyse (Meng et al., 2014). Deux pour cent des cas de démences dans le monde seraient attribués au diabète, et une diminution de 1% de prévalence de diabète permettrait une diminution de 81.000 cas de MA (Barnes et Yaffe, 2011). L'étude de l'interaction entre le diabète de type 2 et la MA est d'une grande complexité. Ainsi, les niveaux de glycémie élevés interviendraient directement dans la genèse des dommages microvasculaires et dans l'aggravation du stress oxydatif par glycation des protéines alors que l'insuline serait impliquée dans la clairance amyloïde au niveau cérébral (Biessels et al., 2006).

iii. Le cas particulier des patients jeunes

Tout comme pour les patients présentant une MA de forme tardive, tous les facteurs contribuant à l'apparition précoce d'une MA sont loin d'être identifiés. La plupart des cas de MA chez les sujets jeunes sont sporadiques ; 60% des patients jeunes environ ont une histoire familiale marquée par l'existence d'une ou plusieurs personnes atteintes de MA, tout âge confondu, mais seulement 13% de ces patients jeunes remplissent les critères stricts de transmission autosomique dominante (Campion et al., 1999).

L'implication des FDRV dans la MA chez les patients âgés est bien connue, tandis que très peu de données sont disponibles chez les patients jeunes.

Les études existantes ont mis en avant une prévalence moins importante des FDRV en comparant les malades jeunes aux malades âgés, à partir de base de données de patients ayant participé à des essais thérapeutiques, ou à partir d'un registre rétrospectif de patients dans un centre mémoire (Carotenuto et al., 2012; Panegyres et Chen, 2014). Cette observation n'est pas surprenante car les FDRV augmentent avec l'âge. Une étude comparant les FDRV de patients jeunes présentant une MA à ceux d'autres patients jeunes présentant une démence fronto-temporale (DFT), mettait en évidence une prévalence plus importante de patients hypertendus et porteurs d'allèle ApoE4 chez les patients présentant une MA. Ces derniers présentaient en revanche moins d'obésité, si ce n'est une maigreur, et étaient moins souvent concernés par le tabagisme actif que les patients atteints de DFT (Atkins et al., 2012). Une cohorte suédoise de sujets sains, suivis à partir de leurs 18 ans, de manière longitudinale pendant au moins 30 années, a mesuré les différents FDRV, de même que certains facteurs environnementaux tels

que le niveau d'étude ou le milieu socioculturel (Nordström et al., 2013; Nyberg et al., 2014). Une diminution de la performance cardiovasculaire au test d'effort et/ou de la performance cognitive aux quatre tests neuropsychologiques proposés représentaient des facteurs de risque indépendants de développement d'une démence.

Dans un travail précédent, nous avons montré que la prévalence des FDRV chez les patients jeunes présentant une MA était similaire à celle des sujets sains appariés en âge et en sexe dans une même région géographique donnée (Chen et al., 2017). Par ailleurs, la présence d'au-moins un FDRV ne modifiait pratiquement pas la présentation clinique du patient, à la différence de la dépression qui semblait être plus fréquente chez les patients avec au-moins un FDRV (Chen et al., 2017). Dans la suite de ce travail, nous avons étudié le profil évolutif des patients jeunes en fonction du statut vasculaire initial (Mémoire de DES d'Aurélien Maureille 2017, article en préparation). Ce statut vasculaire initial ne semblait pas avoir un impact majeur sur le cours évolutif de la maladie, à l'exception près du MMSE à 2 ans qui était moindre d'1,6 point pour les patients avec une hypercholestérolémie, sans que l'effet soit modulé par les statines ($p=0,046$).

L'impact des FDRV semble donc augmenter avec l'âge auquel survient la MA.

3. Conclusion de cette partie

La MA est une pathologie complexe tant sur le plan physiopathologique que sur le plan clinique, chez les patients âgés comme chez les patients jeunes. Les formes de MA non liées à une mutation génétique, semblent relever d'un processus multifactoriel, en partie en lien avec une dysfonction vasculaire au sens large. Il est nécessaire de bien comprendre les mécanismes mis en jeu dans cette interaction entre dysfonction vasculaire et MA, afin d'adapter le traitement à la fois préventif et thérapeutique.

B. Le poids des microhémorragies dans la cognition

Les microhémorragies (MH) sont de petites lésions arrondies apparaissant en hyposignal en IRM en séquence T2* qui correspondent à des lésions de la paroi artérielle des petits vaisseaux cérébraux. Elles sont également visualisées en histologie comme un amas d'hémosidérine péri vasculaire entouré d'une prolifération microgliale. Tout comme les infarctus, les hémorragies de grande taille et les lésions de substance blanche, les MHs sont le reflet d'une dysfonction vasculaire cérébrale (Gorelick et al., 2011). Leur présence chez les

sujets sains (dans une moindre proportion), les patients atteints de maladie cérébrovasculaire (démence vasculaire, angiopathie amyloïde cérébrale), ainsi que chez les patients atteints de MA (Cordonnier et al., 2007; De Reuck et al., 2011), leur confère sans doute un rôle clé dans la compréhension du lien entre la MA et la dysfonction vasculaire.

1. Les microhémorragies : les facteurs de risque

Leur localisation diffère en fonction du mécanisme pathologique. Les lésions cortico sous-corticales évoquent une pathologie amyloïde (Charidimou et al., 2013), caractérisée principalement par des dépôts amyloïdes qui sont localisés au niveau de la paroi des vaisseaux adjacents aux MH dans l'angiopathie amyloïde cérébrale (Schrag et al., 2010). En revanche, les localisations plus profondes témoignent davantage d'une maladie des petits vaisseaux, laquelle est notamment liée à l'hypertension artérielle (Greenberg et al., 2009).

Des facteurs de risque de MH ont été suggérés par plusieurs études épidémiologiques, tels que l'âge, le sexe masculin (Jeerakathil et al., 2004), ou encore l'hypertension artérielle et le tabagisme pour les MHs de localisation profonde (Vernooij et al., 2008; Yubi et al., 2018), et l'allèle $\epsilon 4$ de l'APOE pour les MHs de localisation lobaire (Vernooij et al., 2008). D'autres lésions vasculaires telles que les infarctus lacunaires, et les lésions de SB étaient associées à un risque accru de MHs lobaires et plus encore à celui de MHs profondes, (Vernooij et al., 2008).

Dans une étude longitudinale de huit ans réalisée chez des sujets sains âgés de 18 à 78 ans, la présence de MHs à l'inclusion était associée à un âge plus avancé, et à un syndrome métabolique (association d'une hypercholestérolémie, d'une hypertriglycémie, d'une hyperglycémie veineuse, d'une obésité abdominale, et d'un niveau élevé d'HTA). Il était par ailleurs intéressant de constater que la taille des MHs avait tendance à diminuer au cours du temps, avec une teneur en hémosidérine demeurant en revanche relativement stable (Daugherty et Raz, 2017).

2. Les données cliniques sur l'impact des microhémorragies

a. Chez les sujets sains

Les MH intracérébrales sont fréquentes dans la population générale (5%) (Cordonnier et al., 2007). S'agissant d'une découverte souvent fortuite chez les sujets sains, le poids réel

de ces lésions supposées silencieuses a fait énormément débat dans la littérature récente, du fait de résultats contradictoires.

Dans une étude japonaise ayant inclus des sujets sans maladie neurologique apparente, recrutés à partir d'une base de données de service de neurologie, et âgés en moyenne de 56 ans, les personnes avec un score de MMSE inférieur à 27 avaient significativement 2 MHs de plus que les personnes ayant un score de MMSE supérieur à 27 (Yakushiji et al., 2008).

Une méta-analyse sur des études observationnelles transversales a suggéré un effet délétère sur la cognition globale, et sur les fonctions exécutives, de la présence de MH au niveau lobaire, mais aussi au niveau des noyaux gris centraux, et des thalami (Wu et al., 2014). A noter que cette méta-analyse prenait en compte des études qui incluaient entre autres des patients hospitalisés, aux atteintes cognitives probablement plus sévères.

En revanche depuis cette méta-analyse, les données chez les sujets sains se sont enrichies, avec des études comportant des échantillons de population beaucoup plus représentatifs, ainsi qu'un suivi longitudinal. Une étude ayant inclus uniquement des sujets sains asiatiques d'âge moyen a montré que la présence de MH de localisation strictement lobaire était associée à un déficit cognitif global et à un déficit des fonctions exécutives et visuo-spatiales (Chung et al., 2016), tandis que ces déficits ne semblaient pas liés aux MHs situées sur d'autres zones cérébrales. Chez des sujets sains âgés (âge moyen de 79ans), la présence d'au moins une MH était associée à une altération des fonctions exécutives sans atteinte des autres domaines cognitifs (Paradise et al., 2018). Une étude plus ancienne, effectuée également chez des sujets sains, a montré qu'une localisation temporale des MHs était associée à des troubles de mémoire, tandis qu'une localisation frontale était davantage en relation avec un trouble de conceptualisation et un ralentissement psychomoteur et de la fluence verbale (Van Norden et al., 2011). Cette observation suggère ainsi un impact plutôt locorégional des MHs.

L'étude réalisée à partir de la cohorte de Rotterdam a pu mettre en évidence un déclin cognitif plus marqué chez les patients présentant plus de 4 MHs (Akoudad et al., 2016b). Les MHs lobaires étaient associées à un déclin des fonctions exécutives et de la mémoire. En revanche, les MHs situées dans d'autres régions cérébrales étaient associées à un déclin de la vitesse de traitement des informations.

D'un point de vue longitudinal, la présence de MHs s'accompagnait d'une augmentation du risque d'évolution vers une démence de type MA (Akoudad et al., 2016b; Romero et al., 2017a). Une étude islandaise plus récente a confirmé ces mêmes observations concernant le déclin cognitif et l'augmentation du risque d'évolution vers une démence (Ding et al., 2017). En revanche, cette donnée n'a pas été confirmée dans une autre étude de suivi de 2 ans

réalisée chez des personnes âgées de 79 ans en moyenne. Le déclin des fonctions visuospatiales et exécutives était plus rapide en présence d'au-moins une MH, mais ces lésions ne semblaient pas avoir d'impact sur l'incidence des démences toutes causes confondues (Paradise et al., 2018).

Au-delà des conséquences sur la cognition, d'autres études ont également mis en évidence une relation significative entre les MHs de localisation profonde ou mixte et des troubles de la marche (De Laat et al., 2011).

Les études menées sur les relations existant entre les troubles psychocomportementaux et les MHs objectivent généralement un lien significatif (Feng et al., 2014; Wang et al., 2018), et tout particulièrement en ce qui concerne la dépression. Néanmoins, elles n'ont généralement pas pu s'affranchir d'un biais lié au déclin cognitif, car dans ces études, les patients ont en général un score moyen de MMSE ou de MOCA inférieur à 20. De plus, une étude suggère que des antidépresseurs seraient en eux même un facteur favorisant la survenue des MHs, par un probable effet anti-plaquettaire des inhibiteurs de la recapture de la sérotonine (Akoudad et al., 2016a), ce qui rajoute un facteur confondant supplémentaire à la relation entre MH et dépression.

Chez les sujets sains, la présence de MHs était associée à un risque de mortalité toutes causes confondues. Cette association devenait cependant non significative une fois les FDRV ainsi que les traitements de FDRV pris en compte (Romero et al., 2017b).

b. Chez les patients atteints de la MA

Les MH sont présentes chez 16 à 32% des patients atteints de la MA (Cordonnier et al., 2006; Hanyu et al., 2003; Nakata-Kudo et al., 2006; Pettersen et al., 2008), dans les populations asiatiques et non asiatiques. Et 50% de ces patients ont plus de 2 MHs simultanément.

L'impact des MHs sur le statut cognitif des patients atteints de MA est beaucoup plus discuté que pour les sujets sains, d'une part en raison d'un nombre souvent faible de MHs chez les patients présentant une MA, et d'autre part du fait des tests choisis, lesquels ne sont probablement pas assez pertinents pour mettre en évidence l'effet spécifique des MHs par rapport à celui des lésions propres de la MA. Une des premières études portant sur les MH a montré que parmi les patients atteints de MA, ceux ayant de multiples MHs avaient une fonction cognitive plus altérée que ceux sans aucune MH (Goos et al., 2009). D'autres études ont rapporté des résultats mitigés, si ce n'est une absence d'effet, sur la cognition pour certaines d'entre elles. Une récente méta-analyse n'a pas réussi à mettre en évidence de relation significative entre l'existence de MHs et le score de MMSE, les autres paramètres évalués en neu-

ropsychologie n'ayant pu être pris en compte du fait de leur utilisation différente d'une étude à l'autre (Sepehry et al., 2016b). Une autre méta-analyse ayant inclus des sujets sains, des sujets sains à risque et des patients atteints de MA, a montré un effet global délétère des MHs sur la cognition, que cette dernière soit évaluée par la réalisation de scores de MMSE ou de MOCA (Li et al., 2017).

Il existe par ailleurs d'autres études négatives sur l'impact de MH sur la MA. L'équipe qui avait montré un effet sur la cognition dans une étude transversale (Goos et al., 2009), n'a pas retrouvé de lien dans une étude longitudinale entre la MH et le déclin annuel mesuré par le score de MMSE (Van Der Vlies et al., 2012).

En plus des effets sur la cognition, la présence des MHs augmenterait le risque de mortalité chez les patients atteints de MA (Benedictus et al., 2015). Le risque de mortalité liée aux AVC semble plus élevé chez les patients ayant des MHs de localisation lobaire, tandis que celui liée aux événements cardio-vasculaires paraît plus élevé chez les patients ayant des MHs de localisation profonde. Cette observation est en concordance avec les hypothèses physiopathologiques qui diffèrent selon la localisation des MHs.

Deux études ont montré que la localisation postérieure (temporo-occipitale et pariéto-occipitale) des MHs était très similaire lors d'hémorragies intracérébrales liées à l'angiopathie amyloïde (Rosand et al., 2005), et dans la MA (Pettersen et al., 2008). Les origines physiopathologiques de cette localisation postérieure restent inconnues, mais cette concordance suggère l'existence d'une relation étroite entre la MA et l'angiopathie amyloïde.

Le nombre initial de MH serait aussi prédictif d'une augmentation annuelle du nombre de MH lors du suivi (Kantarci et al., 2013; Yates et al., 2014).

3. Microhémorragies : pistes mécanistiques de leurs conséquences

Les mécanismes physiopathologiques amenant aux conséquences cliniques des MHs ne sont pas encore élucidés. Compte tenu de la littérature actuelle, on peut proposer 2 phénomènes principaux qui coexistent (Schéma 3).

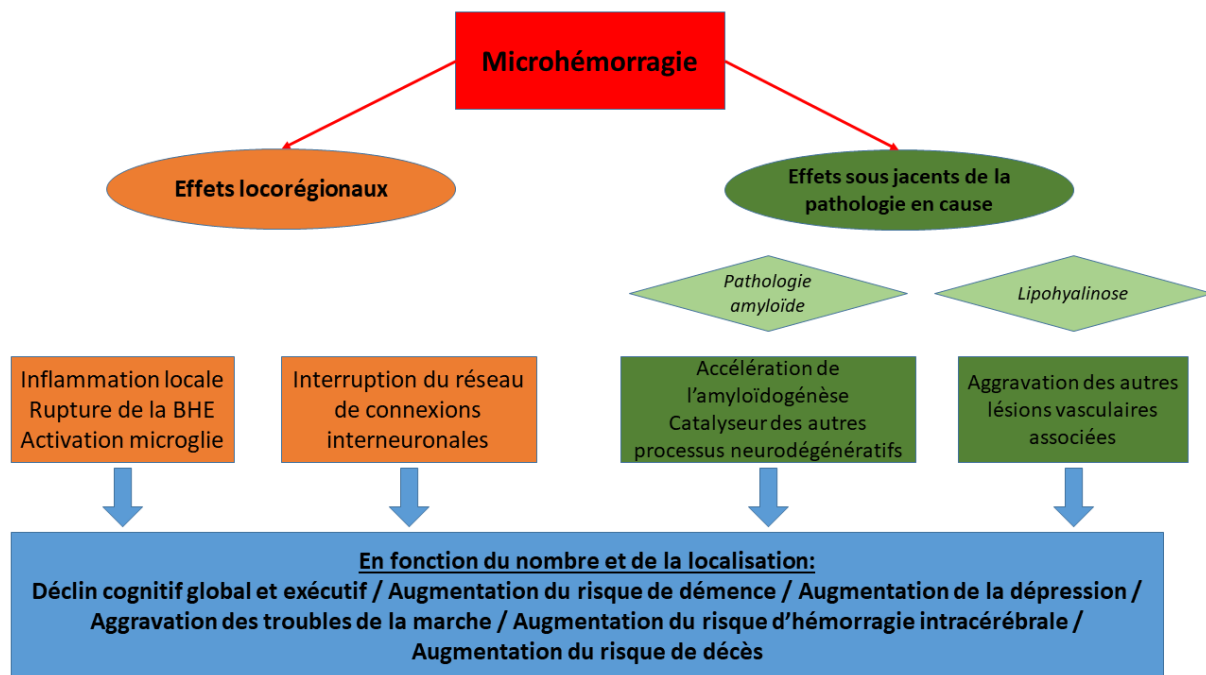


Schéma 3: Résumé original des principaux mécanismes physiopathologiques consécutifs aux MH, potentiellement responsables des conséquences cliniques. BHE : barrière hémato-encéphalique

Les effets loco-régionaux des MH interviennent par rupture de la lame basale, et de l'architecture de la paroi des vaisseaux. Ces lésions focales seraient à l'origine d'une rupture de la BHE et d'une inflammation associant une activation de la microglie et des macrophages périvasculaires (Ungvari et al., 2017). Localement, les MH peuvent également être à l'origine d'une élévation réactionnelle de métalloprotéinases matricielles (MMP) destinées à stabiliser la BHE. Le taux de MMP9 a en effet été mesuré à un niveau plus élevé chez les patients atteints de MA, lorsque ces derniers présentent des MH (Duits et al., 2015). Chez les sujets sains, la présence des MH corticaux semble corrélée à une hypoperfusion cérébrale locale plus marquée, notamment dans les zones pariétales et au niveau du pré-cunéus (Gregg et al., 2015).

Une étude des connexions intracérébrales par la mesure du tenseur de diffusion en IRM chez des patients atteints de MA au stade prodromal ou au stade léger, a montré qu'en présence de 3 MHs ou plus, il existerait des interruptions au niveau des faisceaux de substance blanche, supposant une désorganisation de l'architecture et des connexions neuronales chez ces patients, sans toutefois mettre en évidence un impact sur les différents tests neuropsychologiques (Heringa et al., 2014).

En plus des altérations loco-régionales, il existe également des mécanismes en lien avec des pathologies sous-jacentes des MHs en fonction de leur localisation, qui pourraient

expliquer l'impact des MHs. Une première étude sur un nombre restreint de sujets sains et de patients atteints de MA a mis en évidence une relation significative entre le nombre des MHs lobaires et la charge amyloïde mesurée par la technique de TEP au PiB. Cette charge amyloïde initiale était par ailleurs prédictive du développement ultérieur de MHs lobaires (Yates et al., 2011). Une étude ADNI (Alzheimer's Disease Neuroimagine Initiative) par la technique de TEP au 18F-Florebetapir a également montré un lien significatif entre le nombre de MHs à l'inclusion et l'importance de la charge amyloïde, suggérant l'existence d'un phénomène d'accélération de l'amyloïdogénèse en présence de MHs (Kantarci et al., 2013). Cette hypothèse a été vérifiée par le dosage des biomarqueurs MA dans le LCS dans la même cohorte ADNI incluant à la fois des sujets sains, des sujets avec des TCLs, ainsi que des patients atteints de MA (Chiang et al., 2015). Le taux intrathécal d'A β 1-42 était plus faible en présence de plus de 3 MHs de localisation corticale, suggérant une quantité plus importante de dépôt amyloïdes en intracérébral. Et dans cette même étude, le fait d'avoir une MH lobaire était également lié à un taux intrathécal de protéine Tau plus élevé, suggérant l'existence d'un processus de DNF plus sévère (Chiang et al., 2015). Chez les sujets sains, la présence de MHs lobaires serait associée à une atrophie hippocampique plus sévère, suggérant ainsi l'existence d'un lien entre la pathologie amyloïde et la neurodégénérescence (Chowdhury et al., 2011). Enfin, le déclin annuel cognitif serait également accéléré en présence d'une MH lobaire (Chiang et al., 2015).

4. Modélisation préclinique des microhémorragies

Rares sont les études cliniques ayant organisé un suivi prospectif, à grande échelle, suffisamment précoce pour devancer les premiers signes de la MA. Afin de préciser l'impact réel de ces petites lésions dans le processus du déclin cognitif, il semble indispensable de débiter le suivi des patients plus précocement. Seule l'étude prospective de l'apparition des MH, de leur nombre et de leur localisation permettrait d'identifier un éventuel lien de conséquence sur le déclin cognitif, et d'en appréhender les différents aspects mécanistiques.

Le modèle animal s'avère être particulièrement pertinent pour étudier cette problématique. Il existe dans la littérature de très nombreuses équipes ayant travaillé sur la modélisation des lésions vasculaires, notamment dans la MA (voir annexe 2). Quand ces modèles ne s'intéressaient qu'aux lésions de type hémorragique, il s'agissait de lésions macroscopiques, et de grande taille.

Nous avons relevé trois modèles précliniques d'induction de macrohémorragies développés sur différentes espèces animales (lapins, chats, souris, rats) : par injection de sang auto-

logue (Lin et al., 2010), par insertion de microballon (Abdullah et Husin, 2011), ou par injection de collagénase bactérienne (Hays et al., 2014; James et al., 2008; Masuda et al., 2010; McAuley et al., 2012). Manaenko et al, ont comparé ces modèles chez le rongeur en prenant en compte les aspects techniques des différentes méthodes mais aussi leurs caractéristiques physiopathologiques (Abdullah et Husin, 2011). La modélisation de petites lésions, voire des microlésions ischémiques ou hémorragiques en vue d'étude cognitive est bien plus rare. Quand c'est le cas, il s'agit le plus souvent de souris transgéniques caractérisées par le développement spontané de MHs aux localisations multiples (Beckmann et al., 2011).

Nous avons relevé quatre méthodes d'induction de MH chez les rongeurs WT dans la littérature. Pour ce qui est de la voie intra cérébrale, il existe la méthode de microscopie par laser biphotonique (He et al., 2016; Rosidi et al., 2011) et celle de l'injection stéréotaxique de collagénase (McAuley et al., 2012). La méthode de microscopie par laser permet la rupture du vaisseau d'une artériole pénétrante spécifique ciblée. L'injection de collagénase permet la protéolyse de la lame basale, induisant une hémorragie. En ce qui concerne la voie systémique, il existe l'injection intrapériotonéale de lipopolysaccharides (Liu et al., 2014; Sumbria et al., 2018, 2016), et le régime pauvre en vitamine B9 et B12 et enrichi en méthionine lequel induit une hyperhomocystéinémie (Sudduth et al., 2013). Ces deux méthodes reposent sur l'induction d'une réaction inflammatoire systémique. Ces différentes méthodes présentent chacune des avantages et des inconvénients (Tableau 1).

Seules deux études ont proposé une évaluation comportementale, montrant que les MHs auraient un impact sur la mémoire de référence spatiale (He et al., 2016; Sudduth et al., 2013). Et seule l'étude de He et al a étudié la modulation pharmacologique par déféroxamine dans leur modèle. Les autres études se sont principalement penchées sur la technicité et les conséquences histologiques ou biologiques des MHs.

5. Conclusion de cette partie

Les données actuelles chez les patients et les sujets sains suggèrent l'existence de répercussions des MH sur la cognition des sujets sains et des patients atteints de MA, mais à des degrés différents en fonction du stade de l'évolution de la maladie.

<i>Récapitulatif des études cliniques antérieures sur la relation MHs – cognition chez des sujets sains :</i>

- Il existe un effet délétère des MHs sur la cognition globale, plus particulièrement sur les fonctions exécutives.
- Les effets sont d'autant plus importants que les MHs sont lobaires et nombreux.
- Les effets dépendent en partie de la zone cérébrale impliquée
- L'effet des MHs sur l'incidence de démence toutes causes confondues est incertain, mais il existe probablement un lien entre MHs et l'incidence de la MA.

Récapitulatif des études cliniques antérieures sur la relation MHs – cognition chez les patients atteints de MA :

- L'effet délétère des MHs sur la cognition globale est incertain.
- L'effet, s'il existe, est d'autant plus facile à observer que les MHs sont lobaires et nombreux.
- L'effet des MHs sur la progression clinique de la MA semble être inexistant.

Méthode	Revue	Animaux	Localisation des MH	Evaluation comportementale	Modulation pharmacologique	Avantages	Inconvénients
Microscopie par laser biphotonique	Rosidi, 2011	Souris WT mâles et femelles	Multiples lésions corticales et profondes	Non	Non	- Petite taille de la lésion induite	- Complexité de la procédure
	He, 2016	Souris WT mâles	5 lésions corticales et pariétales	Oui	Oui	- Localisation précise	- Invasif
Injection stéréotaxique de Collagénase	Mc Auley, 2012	Rats WT mâles	Une lésion profonde	Non	Non	- Contrôle de la taille de la lésion - Localisation précise - Relative simplicité de technique	- Invasif - Activité enzymatique
Injection intrapéritonéale de LPS	Liu, 2014	Souris WT, sexe non précisé	Multiples lésions corticales et profondes	Non	Non	- Peu invasif - Technique simple	- Absence de contrôle du nombre et de la localisation de la lésion induite
	Sumbria, 2016	Souris WT mâles et femelles	Multiples lésions corticales et profondes	Non	Non	- Petite taille de la lésion induite	
	Sumbria, 2018	Souris WT mâles et femelles, jeunes et âgées	Multiples lésions corticales et profondes	Non	Non		
Régime alimentaire pour induire une hyperhomocystéinémie	Sudduth, 2013	Souris WT, sexe non précisé	Multiples lésions corticales et profondes	Oui	Non	- Non invasif - Technique simple - Petite taille de la lésion	- Absence de contrôle du nombre et de la localisation de la lésion, - Nécessite 4 mois de régime au préalable

Tableau 1: Revue des méthodes évoquées dans la littérature pour induire une microhémorragie chez les rongeurs. MH : microhémorragie ; WT : wild-type

C. Influence du sexe féminin sur la cognition

Au cours des dix dernières années, l'approche de la MA a profondément changé. Nous nous dirigeons progressivement vers une médecine plus précise, personnalisée, distinguant différents profils de patients à risque. Cependant, l'influence du sexe et du genre n'a pas encore été réellement intégrée dans cette approche personnalisée. La prise en compte de ce facteur paraît indispensable pour améliorer la prise en charge des patients (Ferretti et al., 2018).

Le terme « sexe » se réfère aux différences biologiques et physiologiques entre hommes et femmes, en lien avec les chromosomes sexuels (XX, XY), et aux hormones gonadiques. Le terme « genre » fait référence à une combinaison de facteurs environnementaux, sociaux, et culturels qui influencent différemment les hommes et les femmes. Le sexe et le genre pourraient tous les deux affecter la MA (Nebel et al., 2018). Dans cette partie, nous évoquerons le facteur « sexe ».

1. L'influence du sexe féminin sur les données épidémiologiques

Dès le stade du vieillissement normal, une différence liée au sexe a été constatée (Beeri et al., 2006). Par exemple, les femmes répondent mieux aux tâches sollicitant la mémoire verbale, tandis que les hommes répondent mieux aux tâches sollicitant la mémoire visuo-spatiale (Proust-Lima et al., 2008; Sundermann et al., 2018). Les études de suivi longitudinal sont en revanche, moins catégoriques sur une trajectoire de déclin différente en fonction du sexe, et montrent des résultats contrastés, probablement en raison des spécificités de chaque cohorte, faisant intervenir des événements socio-culturels non mesurables (Proust-Lima et al., 2008). Les études montrent également des résultats hétérogènes quant à la prévalence des TCL chez les femmes et chez les hommes (Mielke et al., 2014). Cette différence liée au sexe n'est pas toujours mise en évidence, probablement du fait de la diversité des types de TCL (Roberts et al., 2012). Dans le groupe des TCL amnésiques, le taux de conversion en MA est en revanche de 2 à 3% supérieur chez les femmes (Tifratene et al., 2015).

La prévalence de la MA est plus élevée chez les femmes après réajustement sur le niveau scolaire et l'espérance de vie. Le sexe ratio serait de 2 femmes pour un homme (Hebert et al., 2013; Letenneur et al., 1999). Dans la cohorte française PAQUID, au-dessus de 90 ans, 46,5% de femmes contre 21,6% d'hommes seraient atteints de la MA (Letenneur et al., 1999). L'incidence de la MA serait également plus importante chez les femmes mais cette différence liée au sexe varierait en fonction de l'âge (Gao et al., 1998). En effet, l'incidence resterait

comparable entre les deux sexes entre 70 et 78 ans, mais augmenterait significativement pour les femmes à partir de 80 ans (Fratiglioni et al., 2000). D'ailleurs, le recul de l'incidence des cas de démence constaté ces dernières années pourrait être plus marqué chez les femmes que chez les hommes (Rocca, 2017). En revanche, certaines études suggèrent que le biais de survie chez les hommes pourrait expliquer en partie cette supériorité d'incidence et de prévalence chez les femmes (Chêne et al., 2015; Dufouil et al., 2014). En effet, la mortalité d'origine cardiovasculaire en milieu de vie chez les hommes expliquerait que les hommes survivants aient un profil vasculaire et cognitif moins défavorable, comparativement aux femmes.

Il est à noter enfin que les femmes présentent un risque plus élevé de développer une MA mais qu'elles constituent également à elles seules la très grande majorité des aidants présents quotidiennement auprès des patients atteints de MA (Mielke et al., 2014).

2. Les spécificités cliniques et paracliniques liées au sexe féminin dans la maladie d'Alzheimer et la dysfonction vasculaire

Une fois le diagnostic de MA établi, les patientes auraient un déclin cognitif et fonctionnel plus rapide que les patients (Tschanz et al., 2011). Le déclin de la mémoire et des fonctions exécutives serait d'autant plus marqué dans le temps chez les femmes que les biomarqueurs du LCS (A β 1-42 et Tau total) sont altérés (Koran et al., 2017). Dans le cadre de la MA, le profil neuropsychologique des femmes serait légèrement différent de celui des hommes, et ce en fonction du stade évolutif de la maladie. En phase prodromale, au même stade d'atrophie hippocampique, les patientes obtiennent de meilleurs scores en ce qui concerne la mémoire verbale. (Sundermann et al., 2016). En revanche, à un stade plus avancé, cette meilleure performance s'estompe, et deviendrait même inférieure à celle des patients selon certains auteurs et ce, d'autant plus que les patientes sont sévèrement atteintes et sont jeunes (Pusswald et al., 2015). Néanmoins, cette différence est contredite par d'autres études, lesquelles mettraient toujours en évidence la persistance d'une meilleure performance en mémoire verbale chez les patientes, même si cette différence est moindre lors des stades sévères (Sundermann et al., 2018). De manière plus discrète mais tout de même significative, une méta analyse a montré que les scores de performance cognitive étaient plus altérés chez les patientes, dans tous les domaines cognitifs étudiés (Irvine et al., 2012). Les troubles de comportement peuvent se manifester différemment chez les femmes, lesquelles ont tendance à être dépressives ou délirantes plutôt qu'agressives ou apathiques (Ferretti et al., 2018). Une étude autopsique a également montré une expression clinique globalement plus sévère chez les pa-

tientes au même stade de développement des lésions histopathologiques de la MA (Barnes et al., 2005). De plus, au même stade de sévérité clinique, les patients auraient un hypométabolisme cérébral plus profond à la TEP au FDG, suggérant une réserve fonctionnelle moins importante chez les femmes (Pernecky et al., 2007).

En ce qui concerne les biomarqueurs reflétant l'amyloïdogénèse, la DNF et la neurodégénérescence, aucune différence liée au sexe n'a été mise en évidence au sein d'un groupe de personnes saines âgées de 50 à 89 ans (Jack et al., 2017). Chez les personnes atteintes de MA, à métabolisme cérébral comparable, la charge amyloïde serait plus importante chez les patientes et l'atrophie hippocampique moins sévère (Sundermann et al., 2018). En revanche, l'évolution dans le temps serait beaucoup plus sévère chez les patientes. L'atrophie hippocampique était plus rapide chez les patientes qui présentaient un taux d'A β 1-42 faible dans le LCS et un taux de Tau total élevé (Koran et al., 2017). Après une année de suivi de la base de données ADNI, la perte de volume cérébral était plus importante et plus rapide chez les patientes (Hua et al., 2010). L'aggravation de l'atrophie de la substance grise serait également plus rapide chez les patientes, avec une perte volumétrique supérieure de 1,5% par an par rapport aux patients (Skup et al., 2011).

Les gènes de susceptibilité de la MA exerceraient également des effets différents selon le sexe. Par exemple, le fait d'avoir un seul allèle $\epsilon 4$ de l'apolipoprotéine E augmente de 4 fois le risque de développer la MA chez les femmes et de 2,6 fois chez les hommes (Farrer, 1997). Au-delà de 80 ans, le risque absolu de développer une MA à 10 ans serait de 24% pour les femmes porteuses de l'allèle $\epsilon 4$, alors qu'il serait de 19% pour les hommes (Rasmussen et al., 2018). Une récente méta-analyse a quant à elle confirmé que l'incidence de la MA chez les porteuses de l'allèle $\epsilon 4$ était plus élevée pour les tranches d'âge plus jeunes, jusqu'à 75 ans, suggérant un effet plus précoce de cet allèle chez les femmes (Neu et al., 2017).

L'impact de la dysfonction vasculaire (lésions vasculaires cérébrales, FDRV) sur la MA en fonction du sexe n'a pas été étudié de manière systématique dans la littérature, mais plusieurs études sur le thème ont été publiées (Ferretti et al., 2018). Le sexe masculin est généralement considéré comme un facteur de risque de développement des MHs (Yubi et al., 2018). L'impact de ces lésions microhémorragiques dans l'installation et la progression des lésions de la MA ne semble cependant pas différer de façon significative en fonction du sexe (Zhang et al., 2018) Néanmoins, de nombreuses études ne réalisent pas de stratification statistique de leurs résultats selon le sexe. La survenue d'infarctus cérébraux chez les patientes âgées contribuerait à une augmentation significative du risque de MA chez les femmes (Snowdon et al., 1997).

De nombreuses études tendent à mettre en évidence un profil de facteurs de risque vasculaire plus sévère chez les hommes que les femmes. Seule l'obésité serait un FDRV plus fréquemment observé chez les femmes (Hayden et al., 2006). Très peu d'études s'intéressent à l'influence des FDRV sur l'incidence de la MA chez les femmes. L'obésité est un facteur de risque de démence quand l'IMC est élevé en milieu de vie. En revanche, l'IMC chute en général quelques années avant le début des premiers signes de démence (Gustafson et al., 2012). Le diabète de type II semble être un facteur de risque de développement de TCL de type amnésique chez les hommes, mais pas chez les femmes (Roberts et al., 2014). L'hypertension vers le milieu de vie, serait un facteur de risque de démence plus marqué chez les femmes que chez les hommes, même si la prévalence de l'hypertension est plus élevée chez les hommes que chez les femmes (Gilsanz et al., 2017). Cependant cette dernière étude n'a pas fait de distinction entre les sous-types de démence. De plus, la première manifestation vasculaire diffère selon le sexe. Les hommes seraient davantage concernés par les maladies cardiovasculaires pour tandis que les femmes seraient plus exposées aux maladies cérébrovasculaires (Leening et al., 2014).

3. Rôle des œstrogènes sur la cognition

Les œstrogènes et la progestérone sont produits périodiquement par les ovaires de façon physiologique. On distingue la période de la péri-ménopause, où sont observées des fluctuations de leur production, de la période de la ménopause, où la déplétion des follicules ovariens conduit à leur réduction drastique. Durant la période de la post ménopause, de faibles concentrations d'estrone (E1) sont dérivées d'androstenedione, laquelle est synthétisée à partir du tissu adipeux notamment. L'estradiol (E2) est dérivé de l'estrone. L'E2 est le type d'œstrogène prédominant avant la ménopause. Mais après la ménopause, son taux sera nettement diminué par rapport à l'E1. Les récepteurs aux œstrogènes font partie des récepteurs nucléaires, et régulent l'expression des gènes impliqués dans la croissance, la différenciation et le développement des organes sexuels. Les œstrogènes agissent sur le cerveau par deux récepteurs : α et β .

a. Œstrogènes et MA

La chute post-ménopausique du taux des œstrogènes, sensés exercer des effets neuroprotecteurs, a été évoquée très naturellement pour expliquer le risque accru de survenue de la MA chez les femmes (Pike, 2017), d'autant que les deux zones cérébrales impliquées dans le

circuit de la mémorisation (l'hippocampe et le cortex frontal) sont particulièrement riches en récepteurs aux œstrogènes, suggérant que les variations ostrogéniques puissent moduler cette fonction (Meyer et al., 2003). Des études mécanistiques plaident aussi en faveur des effets neuroprotecteurs des œstrogènes. En effet, des études en IRM ont montré un effet positif des œstrogènes (hormonothérapie dans cette étude) sur le volume de la substance grise au niveau des régions frontales, préfrontales et temporales (Erickson et al., 2005), et sur le volume hippocampique (Eberling et al., 2003). L'hormonothérapie substitutive pourrait aussi améliorer les fonctions synaptiques cholinergiques (Norbury et al., 2007; Smith et al., 2001).

Cependant, les résultats des études portant sur la relation entre la transition ménopausique et le déclin cognitif restent contrastés (Henderson, 2014). Il semblerait qu'une ménopause chirurgicale par ovariectomie puisse avoir un impact plus délétère sur la cognition et sur l'incidence de la démence qu'une ménopause naturelle survenant en général vers l'âge de 51 ans (Henderson et Sherwin, 2007). Ces différences seraient probablement liées à certains facteurs confondants non pris en compte, tels que l'exposition ostrogénique cumulée, ou la réserve cognitive. De plus, contrairement à une ménopause chirurgicale, une ménopause naturelle est difficile à dater. Il semblerait de plus que la période de la péri-ménopause soit tout aussi propice à l'altération des fonctions cognitives que la période de la post-ménopause (Weber et al., 2012). Par ailleurs, un dysfonctionnement vasculaire peut à la fois accélérer le déclin cognitif, et être à l'origine d'une ménopause plus précoce, comme cela a été montré pour le tabagisme, l'hypercholestérolémie ou l'hypertension artérielle (Kok et al., 2006). Tous ces facteurs ne sont pas encore pris en compte dans les études observationnelles.

b. Hormonothérapie et MA

Les études descriptives s'avèrent insuffisantes pour montrer l'effet des œstrogènes tant la ménopause est un phénomène hétérogène dans son évolution et difficile à appréhender. En ce sens, les essais thérapeutiques d'hormonothérapie pourraient aider à mieux comprendre le lien entre les œstrogènes et la MA.

De nombreuses études randomisées se sont intéressées à l'effet des œstrogènes vis-à-vis de la protection cognitive en post-ménopause chez les femmes indemnes de pathologie cognitive. Les résultats sont inhomogènes. Les études positives utilisaient de l'E2 administré soit en intramusculaire, soit en transdermique, alors que les études négatives proposaient la voie per os (Blanc et al., 2010). Par ailleurs, le délai d'administration par rapport à la ménopause semble également être une variable importante. Les études positives étaient conduites

chez les femmes de moins de 65 ans (Joffe et al., 2006; Maki, 2006), alors que les études négatives concernaient les plus de 65 ans (Grady et al., 2002). Les femmes les plus jeunes étaient donc récemment ménopausées, alors que les femmes les plus âgées avaient reçu une hormonothérapie trop tardivement par rapport à la ménopause. Il semblait donc primordial de débiter l'hormonothérapie durant la période de la péri-ménopause (Abdu et al., 2018).

La présence de l'allèle $\epsilon 4$ de l'APOE serait également d'après certains auteurs, en lien avec une influence plus importante de l'hormonothérapie. Son administration chez les patientes concernées aurait permis une amélioration de la mémoire épisodique (Burkhardt et al., 2004).

Parmi les études observationnelles portant sur l'effet du traitement substitutif hormonal sur la prévention du risque de MA chez des femmes, une méta-analyse a indiqué que le risque chez les femmes ménopausées ayant reçu un tel traitement, était réduit de 29% par rapport aux autres femmes (LeBlanc et al., 2001). Toutefois, les quelques essais de traitement substitutif à visée préventive n'ont pas donné de résultat probant. L'étude MIRAGE (Henderson et al., 2005) a montré qu'un traitement hormonal substitutif pris pendant une durée d'au moins six mois après la ménopause, était associé à une réduction du risque de développement de la MA. Cette relation n'est significative que pour les femmes âgées de 50 à 63 ans. Une étude observationnelle rétrospective a montré une réduction du risque d'apparition de la MA en lien avec l'utilisation d'une hormonothérapie. L'administration de cette hormonothérapie était évaluée de façon déclarative par l'intermédiaire d'un questionnaire renseigné par les patientes 27 ans auparavant (Imtiaz et al., 2017).

Chez les patientes déjà atteintes de MA, la plupart des essais randomisés ont utilisé de l'estradiol en patch transcutané, en plus du traitement standard dans la MA. La moyenne d'âge des participantes était de 72 ans environ. Sur la base de ces essais, une revue de Cochrane a conclu que l'hormonothérapie ne présentait pas de bénéfice global sur la cognition ni d'effets délétères chez les patientes Alzheimer, et n'est donc pas indiquée dans le cadre d'un traitement pour la MA (Hogervorst et al., 2009).

4. MA et sexe : données précliniques

a. Différences comportementales et morphologiques en fonction du sexe

Même s'il n'existe pas, chez les rongeurs femelles, de réelle ménopause et donc de chute drastique d'œstrogènes (Nelson et al., 1992), des modèles de souris transgéniques de

MA obtiennent des résultats différents tant sur le plan comportemental que sur le plan histologique selon le sexe. Pour la même lignée transgénique, il existe dans la littérature des données contradictoires sur la performance cognitive des femelles par rapport aux mâles, qui pourrait être moindre, supérieure, ou indifférenciée (Dubal et al., 2012). Un impact plus important du transgène sur la cognition des souris femelles peut être expliqué par une différence de l'effet des hormones sexuelles endogènes au niveau cérébral. En revanche, les résultats contrastés d'une étude à l'autre pourraient être expliqués par le niveau des hormones sexuelles qui est constant chez les souris mâles mais qui est variable en fonction du cycle chez les femelles.

Lorsque la « ménopause » est induite artificiellement pour mimer les mêmes conditions que chez les femmes, par une ovariectomie par exemple, les souris femelles transgéniques montrent rapidement une accélération de la pathologie, et ce de manière assez homogène dans plusieurs études sur des lignées différentes (Carroll et Pike, 2008).

Sur le plan histologique, contrairement aux patients qui présentent des lésions spécifiques de MA d'une sévérité similaire en fonction du sexe, les dépôts amyloïdes semblent être plus marqués à un âge équivalent chez les souris femelles de la souche Tg2576 (Callahan et al., 2001; Hirata-Fukae et al., 2008). L'étendue des lésions de plaques amyloïdes chez les souris femelles a été également décrite pour la souche triple transgénique 3*Tg modélisant à la fois la pathologie amyloïde et la pathologie Tau (Hirata-Fukae et al., 2008). Pour cette lignée, il n'a pas été mis en évidence de différence en ce qui concerne les lésions de DNF selon le sexe de l'animal (Hirata-Fukae et al., 2008). Pour la lignée APP/PS1, une récente étude a montré des lésions amyloïdes plus importantes au niveau des hippocampes des souris femelles (Jiao et al., 2016). De plus, les auteurs ont montré que l'hyperphosphorylation des protéines Tau pourrait être plus marquée pour les souris femelles au niveau de certains sites d'acides aminés.

Une étude intéressante portant sur un modèle de rongeurs combinant à la fois la pathologie amyloïde et l'allèle $\epsilon 4$ de l'ApoE s'est focalisée sur l'influence du sexe vis-à-vis de la survenue des MH (Cacciottolo et al., 2016). Contrairement aux études cliniques, où les MH sont plus présentes chez les hommes, les auteurs ont montré que dans leur modèle, les MH étaient beaucoup plus importantes chez les souris femelles. En parallèle des MH, les lésions amyloïdes étaient également plus importantes chez les souris femelles.

Enfin, lors d'une soumission à un stress, les souris femelles transgéniques auraient montré une plus grande vulnérabilité en exprimant plus de lésions de DNF et un déclin cognitif plus marqué (Sotiropoulos et al., 2015).

b. Les mécanismes impliqués

Les études précliniques permettent à la fois de préciser les mécanismes d'un éventuel effet positif des œstrogènes, et d'étudier la temporalité des lésions histologiques et de leurs conséquences sur le déclin cognitif des rongeurs.

Par exemple, les études réalisées sur des cerveaux de rates ovariectomisées ont montré une augmentation de la densité des épines dendritiques des neurones pyramidaux de CA1 de l'hippocampe en présence des œstrogènes (Gould et al., 1990). L'administration de l'estradiol a permis une plus grande potentialisation à long terme dans l'hippocampe (Foy et al., 2008).

D'une manière similaire chez les femmes et dans les modèles précliniques, la notion de chronologie pour ce qui est de l'administration de l'hormonothérapie semble importante. Dans un modèle de culture de neurones hippocampiques soumis à la toxicité du peptide A β , la survie neuronale a été améliorée uniquement lorsque l'administration de l'estradiol précédait l'imprégnation en A β . Elle a même été altérée quand l'estradiol était rajouté après l'A β (Zhao et al., 2005). Une étude animale a montré par ailleurs que l'ajout d'un agoniste des récepteurs aux œstrogènes α (Esr α) était bénéfique, mais l'ajout d'un agoniste des récepteurs aux œstrogènes β (Esr β) était sans effet (Carroll et Pike, 2008). Des études récentes ont proposé des rôles différents des Esr α et Esr β dans le processus de la mémorisation. Les souris sauvages et transgéniques invalidées pour le gène des Esr α étaient plus performantes dans une épreuve de mémoire visuo-spatiale après l'injection d'estradiol alors que cette injection s'est avérée inefficace chez les souris transgéniques invalidées pour le gène de l'Esr β (Liu et al., 2008). Enfin, les Esr α semblent promouvoir la plasticité hippocampique via la potentialisation à long terme sur les neurones du CA1 de l'hippocampe (Mukai et al., 2007).

5. Conclusion

Des différences cliniques et physiopathologiques de la MA ont été mises en évidence en fonction du sexe. Ces différences existent également dans les modèles animaux. Cependant, les études fondamentales et cliniques de développement thérapeutique prennent rarement en compte l'influence du sexe. Sur le plan expérimental par exemple, les deux sexes ne sont pas étudiés systématiquement, souvent pour des raisons de trop faible poids et de variation du cycle hormonal chez les souris femelles (Buoncervello et al., 2017). Dans la recherche chez l'homme, les essais ne sont pas non plus souvent stratifiés en fonction du sexe, et la vie hormonale d'une femme n'est que rarement prise en compte en tant que co-variable dans des études de cohorte.

D. Influence pharmacologique par les statines sur des troubles cognitifs

Comme expliqué dans la première partie de l'introduction, les traitements médicamenteux classiques des FDRV peuvent avoir un impact réel sur la cognition, au-delà d'un effet vasculaire. Grâce à ses effets pléiotropes, les statines pourraient également appartenir au groupe de traitements intervenant sur la relation entre MA/cognition et dysfonction vasculaire.

1. Les différents types de statines

Les statines sont administrées per os, à raison d'une prise par jour le soir. Les principaux effets secondaires musculaires et hépatiques sont dose-dépendants, et peuvent se manifester par des douleurs musculaires, une augmentation des créatine-phosphokinases (CPK), ainsi que par une augmentation modérée et asymptomatique, souvent transitoire, des transaminases.

Huit statines composent cette famille de traitement : Mesuvastatine et Lovastatine qui sont les premières avoir été développées ; puis Pravastatine, et Simvastatine qui sont considérées comme des dérivées de Lovastatine ; et enfin Atorvastatine, Fluvastatine, Rosuvastatine et Pitavastatine, qui sont des composés synthétiques de dernière génération (Shitara et Sugiyama, 2006). Atorvastatine et Rosuvastatine ont les demi-vies les plus longues, en raison de leur affinité pour l'albumine (Shitara et Sugiyama, 2006).

On distingue deux classes : les lipophiles et les hydrophiles, en fonction de leur solubilité dans les lipides ou dans l'eau. Les statines lipophiles (Lovastatine, Simvastatine, et Atorvastatine) traversent plus facilement la BHE et les membranes cellulaires que les statines hydrophiles (Pravastatine, et Rosuvastatine), tandis que Fluvastatine est caractérisée par des propriétés intermédiaires.

2. Mécanisme d'action

a. Action métabolique des statines

L'effet majeur des statines sur le bilan lipidique consiste en une diminution de la synthèse du cholestérol : diminution du nombre des LDL et donc diminution des concentrations circulantes de LDL-cholestérol (de -20 à -50 %). On observe également une diminution très discrète des concentrations de triglycérides chez les patients avec une hypercholestérolémie

essentielle (de l'ordre de 5 %). Ce pourcentage peut atteindre les 30% chez les patients avec une dyslipidémie mixte.

Les statines disposent de deux champs d'action (Duriez, 2003). Leur mécanisme d'action principal est l'inhibition de l'HMG-CoA réductase, enzyme catalysant une étape limitante de la synthèse du cholestérol. En effet, tous les types de statines présentent une analogie chimique structurale avec l'HMG-CoA et, grâce à ce motif chimique, inhibent de façon compétitive l'activité de cette enzyme. L'HMG-CoA réductase catalyse la transformation de l'HMG-CoA en mévalonate, contrôlant ainsi une étape clé de la synthèse du cholestérol par les cellules, dont en particulier les hépatocytes, et conduit à une augmentation du taux de HDL-cholestérol plasmatique. Les statines provoquent de ce fait une diminution de la concentration intracellulaire de cholestérol libre en inhibant sa synthèse.

Deuxièmement, les statines diminuent le taux circulant de LDL-cholestérol en augmentant la capture hépatique des LDL. Le foie dégrade les LDL en molécules élémentaires (cholestérol, acides gras, acides aminés...) et élimine le cholestérol dans la bile sans le modifier ou en le transformant en sels biliaires. En stimulant la clairance hépatique des LDL, les statines diminuent la durée de vie de ces lipoprotéines dans le plasma, ce qui a pour effet d'en réduire la concentration plasmatique (Chao et al., 1991; Forster et al., 2002). Les statines augmentent la capture des LDL par les hépatocytes en stimulant indirectement l'expression des récepteurs aux LDL à la surface de leur membrane cytoplasmique.

Les statines sont indiquées en première intention et en seconde intention pour le traitement des maladies cardio-vasculaires (Shepherd et al., 1995; Taylor et al., 2013; The Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S), 1994).

Les statines sont indiquées en seconde intention pour les maladies cérébro-vasculaire, et ce, même en l'absence d'hypercholestérolémie. En se basant sur les essais cliniques des statines dans la prévention des maladies coronaires, il a été observé parmi les critères secondaires une diminution significative de l'incidence des accidents vasculaires cérébraux (AVC) ischémiques dans le groupe traité, sans augmentation du risque d'AVC hémorragiques (Amarenco et al., 2004; Feher et al., 2011). L'étude SPARCL (Stroke Prevention by Aggressive Cholesterol Lowering) a permis de mettre en évidence l'intérêt des statines en prévention secondaire. Elle a été mise en place pour étudier spécifiquement le risque de récurrence d'AVC après un premier AVC ou AIT (Amarenco et al., 2006).

b. Action des statines sur la cognition

En plus de l'effet hypolipémiant, les statines possèdent de multiples effets pléiotropes potentiellement neuroprotecteurs.

Les statines pourraient exercer un effet positif sur la cognition via leur propriété hypolipémiante en intervenant d'un point de vue vasculaire sur la cascade du déclin cognitif.

Parallèlement, les statines possèdent des effets pléiotropes indépendants des effets liés à la baisse du cholestérol et de ceux sur l'athérome. Ces effets sont complexes, et peuvent être résumés en cinq principaux groupes, avec des effets dépendants de la voie du mévalonate, et d'autres indépendants de cette voie, concourant tous à l'amélioration de la cognition (Schéma 4).

i. Amélioration de la fonction endothéliale des vaisseaux et augmentation du flux sanguin cérébral

En inhibant la synthèse du mévalonate, les statines diminuent également la synthèse d'intermédiaires isoprénoïdes, dont le géranylgeranyl-pyrophosphate et le farnesyl-pyrophosphate. Ces derniers jouent un rôle dans l'induction de modifications post-traductionnelles de nombreuses protéines intervenant dans les processus de signalisation intracellulaire, dont notamment les small guanosine triphosphate binding protein (Ras, Rac, et Rho) (Datta et al., 1999; Vaughan, 2003). Le Rho est entre autres impliqué dans la sous-expression génique des ARNm des oxydes nitriques synthétases (NOS) endothéliales. La diminution de la production d'isoprénoïdes et de ce fait l'inhibition du trafic intracellulaire et de l'activité de Rho conduisent à une augmentation de l'activité de NOS endothéliales et des demi-vie de ses ARNm, ce qui a pour conséquence l'amélioration de la fonction endothéliale (Endres et al., 1998). Dans une méta-analyse des essais thérapeutiques chez l'homme, l'augmentation de NOS endothéliales et la diminution d'endothéline 1 contribuent également à une augmentation du flux sanguin cérébral (Sahebkar et al., 2015).

ii. Amélioration de la fonction synaptique dans la mémorisation

Les statines induisent la synthèse de la tétrahydrobioptérine (BH4), cofacteur majeur des eNOS, et favorisent l'expression de certains signaux activateurs tels que : phosphorylation activatrice par la voie phosphoinositol 3 kinase (PI3K) / protéine kinase B (Akt), augmentation du recrutement de la protéine de choc thermique HSP90. Elles vont également agir de façon indirecte en améliorant la biodisponibilité du NO par inhibition de la NADPH-oxydase

(Endres, 2005). Les PI3K et les Akt sont impliqués dans la plasticité synaptique, et la formation de la mémoire spatiale (Mizuno et al., 2002; Sanna et al., 2002). De plus l'augmentation de la biodisponibilité de NO va également moduler la fonction synaptique (Cummings et al., 1994).

iii. Effets anti-thrombotiques et anti-inflammatoires

L'effet anti-inflammatoire des statines passe par la diminution de MMP9, du TNF alpha, de la monocyte chemoattractant protein 1, du NFkB, et des complexes NADPH-oxidase (Grip et al., 2002; Rosenson et al., 1999; Wong et al., 2001). Les mécanismes sous-jacents restent toutefois mal connus (Jasińska et al., 2007). Il a également été montré que les statines interviennent sur l'infiltration leucocytaire parenchymateuse. L'action est double : diminution de l'expression des protéines d'adhésion, et blocage de l'intégrine LFA-1 nécessaire à l'interaction avec ICAM-1 (Weitz-Schmidt et al., 2001). Les Rho dont l'expression post-transcriptionnelle est bloquée par les statines interviennent normalement dans la coagulation. L'inhibition des Rho confère donc un léger effet anti-thrombotique aux statines. Les autres small GTP ase sont impliquées dans le processus de l'inflammation. Leur inhibition permet également d'avoir un effet anti-inflammatoire (Takai et al., 2001).

Les récepteurs activés par les proliférateurs de peroxyosomes (Peroxisome proliferator-activated receptor PPAR) sont des facteurs de transcription ligand-dépendants. Les statines ne sont pas des ligands pour ces récepteurs, mais sont capables, in vitro, d'augmenter l'activité transcriptionnelle de trois sous-types α , β/δ et γ (Inoue et al., 2002). Les récepteurs PPAR α sont présents majoritairement dans les tissus où le catabolisme des acides gras et l'activité peroxydomale sont importants : foie et muscle cardiaque principalement. Ils interviennent dans la régulation du métabolisme lipidique et de la biosynthèse des lipoprotéines. L'interaction des statines avec PPAR α jouerait un rôle majeur dans leurs effets pléiotropes, dont l'effet anti-inflammatoire (Ouk et al., 2014; Paumelle et Staels, 2008).

iv. La diminution du stress oxydant

Selon certaines études récentes, l'Atorvastatine diminuerait significativement la lipoperoxydation (Kurata et al., 2013), l'oxydation des protéines, et la nitration des protéines. De plus, elle augmenterait le niveau des glutathions (Barone et al., 2011).

v. *La diminution des dépôts amyloïdes*

L'Atorvastatine et la Simvastatine inhibent la dimérisation du complexe APP – β sécrétase. Il s'agit d'une enzyme qui favorise la voie amyloïdogénique des protéines précurseurs de l'amyloïde (APP). En diminuant l'activité des β sécrétases (Murphy et al., 2010; Parsons et al., 2006), les statines pourraient contribuer à une diminution des dépôts amyloïdes. De plus, dans une étude de culture cellulaire, l'administration d'une petite dose de lovastatine a permis une augmentation de l'activité de l' α -sécrétase, qui stimule la voie non-amyloïdogénique (Höglund et al., 2005).

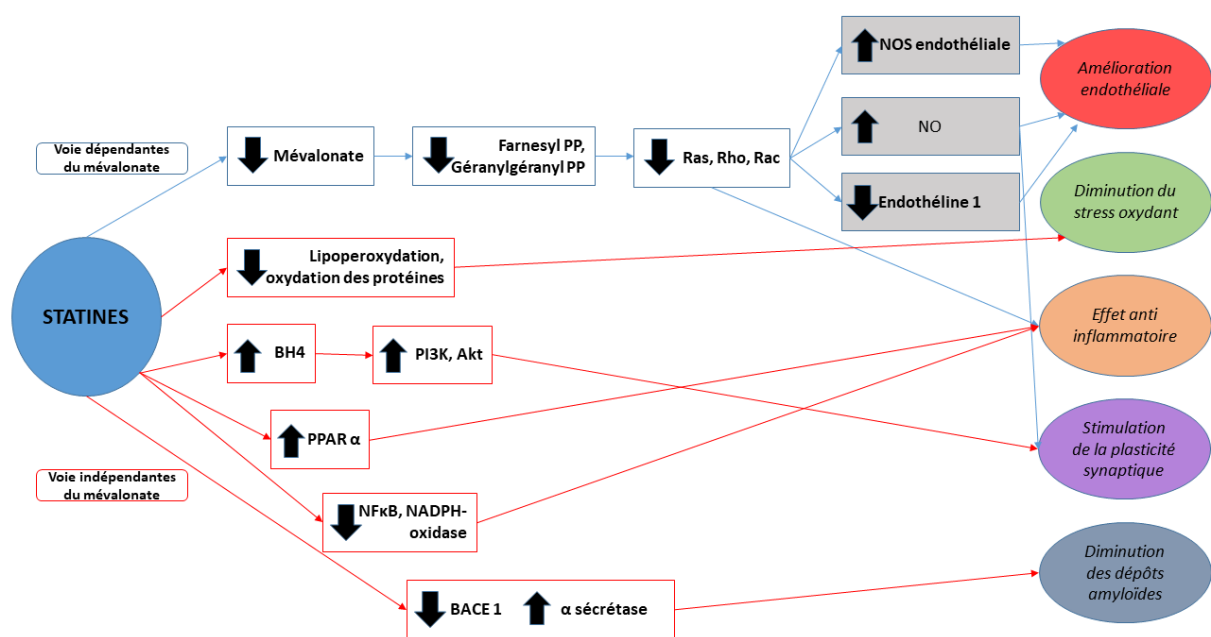


Schéma 4: Résumé original des effets pléiotropes principaux des statines en dehors de l'effet hypolipémiant

3. Les données cliniques sur l'utilisation des statines à visée cognitive

Un grand nombre d'études épidémiologiques se sont intéressées à l'impact des statines sur la prévention du déclin cognitif chez les sujets sains et chez les patients présentant la MA.

a. Chez les sujets sains

Une des premières études avait montré une diminution du risque de développer une MA ou une démence vasculaire chez les sujets sains traités par Atorvastatine, Cerivastatine, Fluvastatine, Pravastatine, et Simvastatine (Jick et al., 2000). La même année, une autre équipe a montré une diminution de prévalence de la MA chez les sujets traités par Lovasta-

tine, et Pravastatine, mais pas par Simvastatine (Wolozin, 2000). D'autres études ont rapporté un effet protecteur de l'ensemble des statines vis à vis de la survenue de la MA (Hajjar et al., 2002; Rockwood et al., 2002). Une étude neuropathologique a montré que les lésions cérébrales neurodégénératives chez les sujets sous Simvastatine, Lovastatine, Pravastatine, et Atorvastatine étaient moins sévères, alors que les lésions vasculaires étaient similaires (Li et al., 2007). En 2008, l'étude ADAPT chez les sujets âgés à risque de développer une MA a montré une réduction significative de ce risque (Sparks et al., 2008). Une autre étude observationnelle la même année a confirmé ce résultat, et a de plus mis en évidence un effet positif sur la prévention des TCL (Cramer et al., 2008). L'utilisation des statines serait associée à une réduction de 50% du risque de survenue tardive de MA, indépendamment du génotype de l'APOE, et des propriétés lipophiles ou non des statines (Haag et al., 2009). Lors d'un suivi longitudinal d'environ 10 ans, l'utilisation des statines chez les femmes âgées en moyenne de 69 ans était associée à un meilleur rappel verbal après ajustement sur le niveau scolaire et les FDRV (Harding et Szoeki, 2017). D'autres études épidémiologiques observationnelles ont montré des résultats moins convaincants. En utilisant les différents types de statines chez les sujets âgés de plus de 65ans, les statines n'auraient pas d'effets sur la réduction du risque de développement de la MA même s'il peut exister une diminution de la charge amyloïde, et un risque global de démence moindre au décès du patient (Arvanitakis et al., 2008; Rea et al., 2005; Zandi, 2005). Une étude rétrospective récente a mis en évidence une prévalence plus importante des troubles cognitifs chez les patients sous traitement par statines (Roy et al., 2017). Il s'agissait d'un registre intra hospitalier global. Les troubles cognitifs étaient uniquement évalués par la réalisation d'un score MMSE, sans information clinique plus précise. Alors que les patients sous statines présentaient beaucoup d'autres FDRV, il n'y avait pas non plus d'analyse multivariée ajustée sur le profil vasculaire.

Comme l'a souligné une méta-analyse, même si certaines études observationnelles ont montré un effet positif sur la prévention du déclin cognitif, les essais cliniques à large échelle n'ont pas pu montrer un effet protecteur causal des statines (Power et al., 2015). Des essais utilisant soit Simvastatine, soit Pravastatine chez les sujets avec une hypercholestérolémie sans démence ont toutefois amené à des résultats positifs (Riekse et al., 2006), sur un échantillon relativement faible. Des essais thérapeutiques de plus grande envergure avec l'administration de Pravastatine (Trompet et al., 2010), ou de Simvastatine ("MRC/BHF Heart Protection Study of cholesterol lowering with simvastatin in 20 536 high-risk individuals: a randomised placebocontrolled trial," 2002) chez les sujets âgés, n'ont pas montré d'effet sur

l'incidence des troubles cognitifs ou de démence en critère de jugement secondaire, et ce, malgré une réduction efficace de plus de 30% de LDL-cholestérol.

Les résultats sont contradictoires d'une étude à l'autre et sont encore sujets à débat. Les résultats sont sans doute hétérogènes du fait du type de statines étudiées, de la durée d'étude, et de la population ciblée.

La dernière méta-analyse de Cochrane a conclu que, malgré l'hétérogénéité des méthodologies de ces études, les statines administrées à un âge avancé ne préviennent ni le déclin cognitif, ni l'apparition de démence (McGuinness et al., 2016).

Non seulement l'impact des statines sur la prévention des démences est controversé, mais leur utilisation a même été remise en cause aux Etats Unis par la Food and Drug Administration (FDA), laquelle a publié en 2012 un avertissement sur leurs effets potentiellement délétères sur la cognition. Le cholestérol est important pour le fonctionnement mitochondrial, le transport des antioxydants, la formation de la myéline, et la transmission synaptique. Les potentiels effets délétères réversibles pourraient être expliqués par la diminution locale cérébrale du cholestérol sous forte dose de statines lipophiles, chez des patients qui présenteraient déjà des troubles du métabolisme (Schultz et al., 2018). D'ailleurs ces effets délétères n'ont pas été mis en évidence lors des méta-analyses ultérieures (Banach et al., 2017; Samaras et al., 2016).

Une récente méta-analyse recherchant l'influence du sexe et de l'ethnie sur l'effet potentiel des statines sur la réduction du risque de MA a montré qu'une réduction du risque était plus souvent significative chez les femmes quels que soient l'ethnie et le type de statine utilisé (Zissimopoulos et al., 2017).

Une équipe a proposé 6 mois de traitement par Atorvastatine à 80mg par jour à des sujets sains âgés en moyenne de 50 ans. Sans montrer d'effet sur les tests neuropsychologiques, des tests en IRM fonctionnelle auraient mis en évidence une activité plus importante au niveau des précunéi (Taylor et al., 2018).

b. Chez les patients présentant une maladie d'Alzheimer

Dans le cadre d'une étude de type cas-témoin, l'utilisation précoce des statines, au moins un an avant le diagnostic de MA, a conduit à une progression moins rapide de la maladie, quel que soit le type de statine utilisé (Lin et al., 2015).

Une étude observationnelle plus récente réalisée chez des patients âgés de 76 ans en moyenne qui présentaient une MA au stade modéré n'a montré aucune relation statistique-

ment significative entre le traitement par statines et le déclin cognitif pendant au moins un an de suivi (de Oliveira et al., 2017).

Des patients atteints de MA au stade léger à modéré ont reçu le traitement par Atorvastatine à 80 mg par jour dans une autre étude de phase II. Elle a montré un effet favorable sur la cognition globale lors de l'évaluation à un an, dans le sous-groupe des patients avec un taux plasmatique de cholestérol élevé à l'inclusion, et chez ceux qui avaient un allèle ApoE4 (Sparks et Connor, 2006). En revanche, les traitements chez d'autres patients atteints de MA au stade léger à modéré, avec une durée d'étude plus prolongée n'ont pas réussi à montrer un effet bénéfique, que ce soit avec un traitement par Atorvastatine à 80 mg par jour (Feldman et al., 2010), ou par Simvastatine à 40 mg par jour (Sano et al., 2011). De manière plus surprenante, une autre étude a montré que les patients qui avaient une amélioration de la cognition sous statines pourraient avoir un déclin plus rapide en cas d'interruption thérapeutique des statines (Padala et al., 2012). Plus récemment, une étude ayant inclus des patients atteints de différents types de démences neurodégénératives a mis en évidence des effets contradictoires des statines en fonction des tests au terme de 18 mois de suivi : un effet négatif sur le test de l'horloge et un effet positif sur l'autonomie évaluée par IADL (Capisizu et al., 2017).

Néanmoins, ces résultats négatifs ont été mis en commun dans une étude récente, avec une analyse dans un sous-groupe de patients qui étaient homozygotes pour l'allèle $\epsilon 4$ de l'APOE (Geifman et al., 2017). Sur un suivi moyen de 10 ans, cette étude a permis d'observer un déclin plus progressif de la cognition globale chez les patients atteints de MA au stade léger à modéré et porteurs de l'allèle $\epsilon 4$ de l'APOE à l'état homozygote, en présence de statines.

De plus, une récente étude portant sur la base de données ADNI a montré un effet positif des statines chez des patients présentant des TCL de type amnésique, sur le fonctionnement cognitif global lors de l'inclusion et lors du suivi (Smith et al., 2017).

La dernière méta-analyse incluant des études réalisées sur des patients présentant tous types de démences ainsi que des TCL a montré un effet positif des statines, hydrophiles ou lipophiles, en particulier chez les patients atteints de MA et les patients présentant des TCL. Aucune influence n'aurait en revanche été mise en évidence chez les patients présentant une démence vasculaire (Chu et al., 2018).

4. Les données précliniques

Les données précliniques sont nombreuses, et ont été très utiles pour comprendre les effets pléiotropes des statines (Banach et al., 2017; Li et al., 2006; Ouk et al., 2016; Wassmann et al., 2001; Zhang et al., 2013; Zhou et al., 2016). Chez l'animal, une récente étude a ainsi suggéré que l'Atorvastatine atténuerait les dommages neuronaux et améliorerait les capacités de mémorisation et d'apprentissage par inhibition de la réponse inflammatoire dans un modèle de MA chez le rat (Zhang et al., 2013). Une autre étude a montré que la Fluvastatine permettrait de réduire le niveau de peptide A β dans le cerveau de souris mutées en impliquant plusieurs mécanismes (Shinohara et al., 2010). Le taux du malondialdéhyde, qui est issu de la peroxydation lipidique, et qui augmente en cas de stress oxydatif, était significativement plus bas chez les souris obèses traitées par Atorvastatine. Les souris traitées témoignaient également de meilleures performances en termes de mémoire de référence spatiale (Mishra et al., 2017). Les études précliniques montrent en général au-moins un des effets pléiotropes des statines. Quelques-unes sont résumées de manière non exhaustive dans le tableau 2.

Quelques rares études se sont intéressées à l'impact des statines sur les MHs. A l'aide d'un modèle de souris transgénique de l'AAC (lignée APP23), les auteurs ont procédé à une administration d'Atorvastatine à 10 mg/Kg/J pendant 12 à 16 mois. Une discrète réduction du nombre de MHs aurait été mise en évidence dans le groupe traité, à un niveau trop faible pour être statistiquement significatif. Aucune donnée comportementale n'est malheureusement rapportée dans ces travaux (Reuter et al., 2016).

5. Conclusion de cette partie

En plus de l'effet hypolipémiant, les statines possèdent de multiples effets pléiotropes potentiellement neuroprotecteurs.

Dans les études cliniques observationnelles ainsi que dans les essais thérapeutiques, que ce soit chez les sujets sains ou chez les patients atteints de MA, les résultats sont très contrastés, et pas toujours intéressants.

Les études précliniques montrent souvent un impact positif des statines sur la cognition. Ces différences de résultats peuvent s'expliquer par la grande variabilité des caractéristiques des études en question : la population étudiée, le critère de jugement principal, le type de statines utilisé, et la durée de l'étude.

Les statines ont probablement des effets différents selon le sous-groupe de patients (ex : sexe, génotype APOE, lésions vasculaire associés) (Sinyavskaya et al., 2018).

Il n'y a que très peu de données dans la littérature sur l'impact des statines sur les MHs, associées ou pas à la MA, en clinique et en préclinique.

Effet constaté	Etude	Type de statines	Dose	Durée	Type d'animaux	Age	Comportement
Amélioration endothéliale							
- ↑ Vasoréactivité - ↑ eNOS	Wassmann, 2002	Atorvastatine	10 mg/kg/J	1 mois	Rats WT hypertendu, mâles	18 semaines	
Diminution du stress oxydant							
- ↑ GSH - ↑ Glutamine synthétase	Tramontina, 2011	Pravastatine Simvastatine	5mg/kg/J	4 semaines	Rats WT mâles, induits par streptosine	3 mois	Amélioration de la mémoire de référence spatiale
Diminution de l'inflammation							
↓ IL1B, IL6, TNFα	Zhang, 2013	Atorvastatine	5mg/kg/J	3 semaines	Rats WT mâles, avec injection intra cérébral d'A bêta		Amélioration de la mémoire de référence spatiale
Amélioration de la plasticité synaptique							
- ↑ Protéine kinase B (Akt) - ↑ eNOS	Li, 2006	Simvastatine	50mg/kg/J	3 mois	Souris transgéniques Tg 2576 et WT, femelles	11 mois	Amélioration de la mémoire de référence spatiale
Diminution des dépôts amyloïdes							
- Diminution d'abéta, de Tau par diminution BACE 1 - Augmentation Akt	Zhou, 2016	Atorvastatine	10 mg/kg/J	3 semaines	Souris APP PS1 mâles	9 mois	

Tableau 2: Aperçu des études précliniques investiguant les effets pléiotropes des statines

Objectifs de la thèse

Compte tenu des données actuelles de la littérature lesquelles ont permis de préciser les différentes problématiques exposées dans l'introduction, les objectifs de ce travail de thèse ont été l'étude de l'impact des lésions microhémorragiques sur le déclin cognitif, et l'étude de la modulation pharmacologique par Atorvastatine et du rôle du sexe féminin sur cet impact. Ce travail a été réalisé dans une perspective translationnelle, en considérant à la fois l'aspect expérimental chez l'animal et l'observation clinique. Au niveau expérimental, l'étude de ces différents facteurs a porté sur des animaux sains et des animaux porteurs de mutations APP, et en clinique, l'étude a porté sur une cohorte de patients suivis pour une maladie d'Alzheimer.

Les questions posées étaient :

- Existe-t-il un impact d'une lésion microhémorragique sur le déclin cognitif et l'atrophie cérébrale ? Existe-t-il un effet propre de la lésion ou s'agit-il d'un effet collaboratif à d'autres lésions ? Comment évolue cet impact dans le temps ?
- Existe-t-il une modulation pharmacologique par Atorvastatine de cet impact ? Existe-t-il des spécificités de l'impact des MHs selon le sexe féminin ? Par quelle(s) voie(s) peuvent-elles s'expliquer ?

Afin de répondre aux objectifs présentés, la thèse sera constituée de deux parties :

- 1^{ère} partie : étude du modèle de microhémorragie chez la souris WT et transgénique femelle, avec une modulation pharmacologique par Atorvastatine
- 2^{ème} partie : étude de déclin cognitif chez les patients atteints de maladie d'Alzheimer et suivis au sein du centre mémoire de ressources et de recherches, avec ou sans lésions microhémorragiques, selon leur sexe et leur traitement ou non par les statines

MATERIEL ET METHODES

Partie expérimentale

A. Les animaux

1. Description de la lignée animale utilisée

Nous avons choisi d'étudier l'impact de la MA dans deux perspectives : celle d'un impact chez l'animal en condition saine (WT) et celle d'un impact chez l'animal en condition pathologique, c'est-à-dire développant des caractéristiques de la MA. Pour permettre cette double approche, nous avons choisi d'utiliser des animaux issus de la lignée J20, avec le fond génétique C57Bl6/J. Les animaux n'exprimant pas le gène sont les animaux WT servant de témoin dans notre étude, qui sont litter-mates des souris exprimant le gène, c'est-à-dire issus des mêmes reproductions, et ayant grandi dans les mêmes conditions d'élevage. Les souris exprimant le gène sont les animaux APP (condition pathologique) dans notre série. L'expression du gène est vérifiée par génotypage.

La lignée transgénique PDGFB-APPSwInd20Lms/2J, appelée lignée J20 (Mucke et al., 2000) exprime une forme mutée du précurseur humain de la protéine amyloïde (hAPP) portant à la fois la mutation suédoise (K670N/M671L) et la mutation indienne (V717F) et présente un ratio très élevé d'A β 42/A β 40. L'expression du transgène est sous le contrôle du promoteur du facteur de croissance dérivé des plaquettes humaines (PDGF β). Le produit du transgène est exprimé dans les neurones et notamment à un niveau plus élevé dans le néocortex et l'hippocampe, deux régions précocement touchées chez l'homme au cours de la MA (Webster et al., 2014). Les souris de cette lignée développent, au niveau de l'hippocampe et du cortex, des dépôts amyloïdes de façon progressive à partir du 5^{ème} mois de vie et de façon systématique à partir du 10^{ème} mois, et présentent une dysfonction synaptique sévère (Mucke et al., 2000). De façon plus précoce, le taux d'oligomères A β au niveau hippocampique et cortical augmente de manière progressive dès 6 semaines de vie, et ce jusqu'à la formation des plaques. La perte neuronale au niveau de la région CA1 de l'hippocampe, ainsi que la sur-activation de la microglie ont été décrites dès 12 semaines de vie (Wright et al., 2013).

Par ailleurs, les souris de cette lignée présentent un déclin cognitif précoce avec altération de différentes mémoires et capacités d'apprentissage. La mémoire de référence spatiale ainsi que la capacité d'apprentissage, par exemple, sont altérées vers 4 mois de vie (Galvan et al., 2006; Wright et al., 2013). Sur le plan moteur et thymique, les souris de la lignée J20 présentent une hyperactivité motrice et un niveau d'anxiété réduit vers 2 mois de vie (Harris et al., 2010).

2. Elevage

Après avoir obtenu l'accord du Dr Mucke pour exploiter la lignée J20, nous avons reçu 5 souris transgéniques mâles que nous avons croisées avec 10 souris femelles WT C57Bl6/J (Elevage Janvier, Le Genest Saint Isle, France). La lignée est ensuite progressivement amplifiée, et les souriceaux obtenus sont utilisés dans le cadre de notre protocole. A noter, les souriceaux issus des couples de femelles transgéniques et de mâles WT ont une mortalité plus importante (JAX, n.d.).

L'identification des souris est faite par des entailles au niveau des oreilles au moment du sevrage, à 4ème semaine de vie. Le sexage et le génotypage sont réalisés au même moment.

3. Génotypage

Le transgène est exprimé de manière hétérozygote (Mucke et al., 2000). Le génotypage est réalisé par PCR quantitative en temps réel à partir de l'ADN génomique, obtenu sur une biopsie de queue de 2 à 5 mm prélevé au moment du sevrage, à la 4ème semaine de vie. Une première étape d'extraction de l'ADN génomique est nécessaire afin de pouvoir réaliser la PCR proprement dite.

a. Extraction de l'ADN génomique

Chaque échantillon de queue est tout d'abord incubé à 95 degrés pendant 40 minutes, dans 100 µL de solution A contenant du NaOH (S8045, Sigma-Aldrich, France) à la concentration de 25mM, et de l'EDTA (E6758, Sigma-Aldrich, France) à la concentration de 200mM, pour digérer les tissus et ainsi libérer l'ADN. Refroidi à 4 degrés pendant 5 min, on y ajoute ensuite 100 µL de solution B contenant du Tris HCL (T5941, Sigma-Aldrich, France) à une concentration de 40mM pour stopper la réaction. L'échantillon est ensuite centrifugé pendant 5min à 13000 rpm pour rassembler en pellet les poils et tout autre matériel non digéré. Enfin cette solution est diluée au 10ème avec de l'eau moléculaire stérile pour obtenir l'échantillon final prêt pour la PCR.

b. PCR quantitative en temps réel

La PCR est réalisée avec le kit Roche LightCycler® Faststart DNA Master SYBR Green 1 (ref 12239264001), par la détection de l'intensité de fluorescence. Le mélange réactionnel est constitué de 1 µL de la solution du tube 1 (10 µL de tube 1a, LightCycler® Faststart Enzyme mélangé dans le tube 1b LightCycler® Faststart Réaction Mix SYBR Green, sans agitation), 3,2

μL d'eau stérile, 0,8 μL de MgCl_2 à 25mM, 1 μL d'amorce sens à 3 μM , et 1 μL d'amorce anti-sens à 3 μM . Il est déposé dans les capillaires (LightCycler® Capillaire Roche) avec 3 μL d'échantillon à analyser, puis ensuite centrifugé pendant 10 secondes à 3000 rpm. La PCR en elle-même est réalisée automatiquement par le Thermocycler (LightCycler® Instrument) selon les étapes suivantes : un cycle de 8 minutes à 95 degrés, suivi de 40 cycles répétés comprenant 10 secondes de dénaturation à 95 degrés, 10 secondes d'hybridation à 60 degrés et 10 secondes d'élongation à 72 degrés. Une courbe de fusion est établie permettant de vérifier la spécificité des amplicons. Si l'échantillon contient bien le gène cible, le nombre de cycles sera minimal pour atteindre un point pour lequel le signal est significativement supérieur au seuil de détection de l'appareil, soit en général aux alentours de 20 cycles.

Deux amplifications sont réalisées. La première pour vérifier la validité de l'échantillon à l'aide des amorces de contrôle positif de souris. La deuxième pour distinguer les souris transgéniques des non transgéniques à l'aide des amorces du transgène J20. Les couples d'amorces utilisés (TIB® MOLBIOL) sont répertoriés dans le tableau 3.

Gènes d'intérêt	Séquences d'amorces
TcrD (Contrôle interne) sens	5' – caaatgttgcttgtctggtg – 3'
TcrD (Contrôle interne) anti-sens	5' – gtcagtcgagtgcacagttt – 3'
hAPP muté J20 sens	5' – tcttcttctccacctcagc – 3'
hAPP muté J20 anti- sens	5' – ggtgagtttgaagtgatgcc – 3'

Tableau 3: Liste des séquences d'amorces utilisées pour le génotypage

4. Stabulation

Les souris sont stabulées dans une pièce éclairée de 8h à 20h, dont la température est contrôlée entre 20°C et 24°C et l'humidité comprise entre 45 et 65%. Elles disposent d'un accès ad libitum à l'eau et à la nourriture (Aliments composés complets pour animaux A04, Scientific Animal Food and Engineering, France). Les cages contiennent au maximum 5 souris et sont enrichies en coton et rouleaux.

B. Protocole expérimental

Pour cette étude, les animaux WT littermate (WT) et transgéniques (APP) sont répartis de façon aléatoire dans différents groupes : les groupes sham, les groupes avec microhémorragie corticale (MHC) et les groupes avec microhémorragie et traitement par atorvastatine (MHC+AT). Ainsi, 6 groupes sont constitués : WT sham, WT MHC, WT MHC+AT, APP sham, APP MHC, et APP MHC+AT.

Les animaux sont opérés entre 10 et 12 semaines de vie. Les groupes MHC ont reçu une injection de 1 μ L de collagénase (0.8 μ UI/ μ L), et les groupes Sham ont reçu une injection de 1 μ L de sérum physiologique en lieu et place de la collagénase et (voir plus loin **D. Chirurgie et induction de la lésion microhémorragique au niveau cortical (MHC)**).

Une IRM cérébrale est réalisée 24 heures après la chirurgie pour observer la présence, la taille et la localisation de la lésion et constitue un critère d'inclusion ou d'exclusion des souris.

Les groupes AT ont été soumis à un traitement par atorvastatine (5mg/kg/j).

Un quota souhaité de 10 à 12 souris par groupe a été déterminé pour répondre à nos objectifs et pour respecter les règles de l'éthique animale (Décret, 2013).

Un suivi sur 12 mois post-chirurgie a été réalisé (Figure 1). Chaque temps d'évaluation (M1,5, M6, et M12 après la chirurgie) comporte une évaluation multimodale : à la fois fonctionnelle et morphologique. L'évaluation fonctionnelle comprend l'actimétrie, le test de croix surélevé, l'alternance spontanée, et la reconnaissance d'objets (voir paragraphe **G. Tests comportementaux**). L'évaluation morphologique comprend l'IRM cérébrale (voir paragraphe **E. IRM**), et la TEP au FDG (voir paragraphe **F. TEP**). A la fin du suivi (à 12 mois ou à chaque temps intermédiaire), l'animal est sacrifié. Son cerveau est prélevé pour des études en biologie moléculaire, et en immunohistologie. Les études en immunohistologie seront faites ultérieurement. Son sang est prélevé pour le dosage des lipides et du taux plasmatique en œstrogènes.

En parallèle à ce suivi, un groupe particulier des souris a été évalué sur le plan cognitif par le Touchscreen®. Comme nous le détaillerons plus loin, ce test nécessite un temps d'entraînement assez long. Afin de limiter le nombre d'animaux utilisés, ce groupe de souris a été compté en plus dans les groupes d'évaluation à 6 mois.

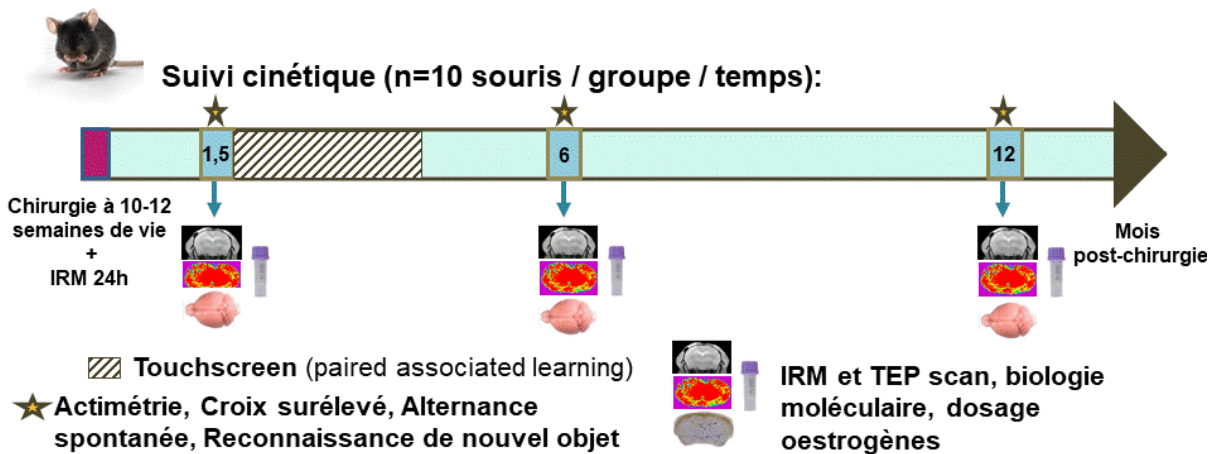


Figure 1: Le protocole expérimental du suivi pendant 12 mois après la chirurgie

C. Modulation pharmacologique par Atorvastatine

Le traitement est administré per os, directement dans l'alimentation des rongeurs, afin d'éviter les traumatismes que pourrait engendrer un gavage dans le cadre d'un suivi à long terme. L'Atorvastatine est utilisée à la posologie de 5mg/kg/j (Shilling 2014). Pour cela, un comprimé d'atorvastatine de 10mg (Tahor® 10mg en comprimé, Pfizer, France) a été dissous dans un liquide véhicule (Pour 5L de liquide véhicule : 2,5g de Carboxy-méthyl cellulose (Sigma Aldrich, Saint Louis, Missouri), 1 mL de Tween 20 (Sigma Aldrich, Saint Louis, Missouri) et de l'eau distillée q.s.p. 5 litres). La solution est ensuite incorporée dans 300g de poudre alimentaire pour souris (Aliments composés complets pour animaux A04, Scientific Animal Food and Engineering, France). L'administration du traitement par atorvastatine débute immédiatement après la chirurgie.

D. Chirurgie et induction de la lésion microhémorragique au niveau cortical (MHC)

Les chirurgies stéréotaxiques sont réalisées entre 10 et 12 semaines de vie (poids moyen de 20g). Les souris sont anesthésiées avec de l'isoflurane (induction à 3%, maintenance 2 à 2,5%). Pendant l'opération, l'anesthésie pouvant diminuer la température corporelle, les souris sont placées sur une couverture chauffante, et leur température est contrôlée par un thermomètre rectal afin d'être maintenue entre 36°C et 36,5°C. La souris est positionnée dans le cadre stéréotaxique (Knopf Instruments, Tujunga, CA, USA), maintenue par des barres d'oreilles et de gueule. Une incision sagittale médiane du scalp de la souris est ensuite effectuée afin de dégager le bregma, qui est mis en évidence grâce à l'application d'eau oxygénée. Puis à l'aide d'une fraiseuse, une brèche arrondie de 1mm environ est réalisée, contrôlée sous microscope binoculaire. Les coordonnées stéréotaxiques retenues pour réaliser la brèche sont : - 1 mm en antéroposté-

rieur (AP), - 2 mm en médiolatéral (ML), et -1 mm en dorsoventral (DV), le zéro étant l'entrée de l'aiguille dans le parenchyme cérébral (Figure 2). Une injection de 1 μ L de collagénase bactérienne de type IV (COL C2399, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA), à une concentration de 0,8 μ UI/ μ L (suite à la validation du modèle (Bergeron et al., 2018)) est réalisée à 1mm de profondeur dans le cortex, afin d'induire une lésion hémorragique de petite taille. La collagénase est une enzyme intra cellulaire protéolytique qui catalyse l'hydrolyse du collagène. Le collagène étant un constituant essentiel de la lame basale de la barrière hémato-encéphalique, la collagénase est donc utilisée pour induire une hémorragie (Rosenberg et al., 1992). L'injection se fait à l'aide d'une seringue (Reno, NV, Etats-Unis) et d'une aiguille (Phymep) introduite très lentement dans le cortex pour éviter tout traumatisme et d'un pousse seringue électrique (Micro 4[®] Microsyringe Pump Controller – World Precision Instruments, Sarasota, Florida). La collagénase est injectée pendant 5 minutes à la vitesse de 200nL/min. L'aiguille reste encore en place pendant 5 min puis est retirée très lentement à 0,5mm/min. Un reflux éventuel lors du retrait de l'aiguille est tamponné. Le scalp est ensuite suturé et la souris est placée sous une lampe chauffante jusqu'à son réveil. Le groupe témoin est soumis à la même procédure avec une injection d'1 μ L de sérum physiologique (NaCl 0,9%).

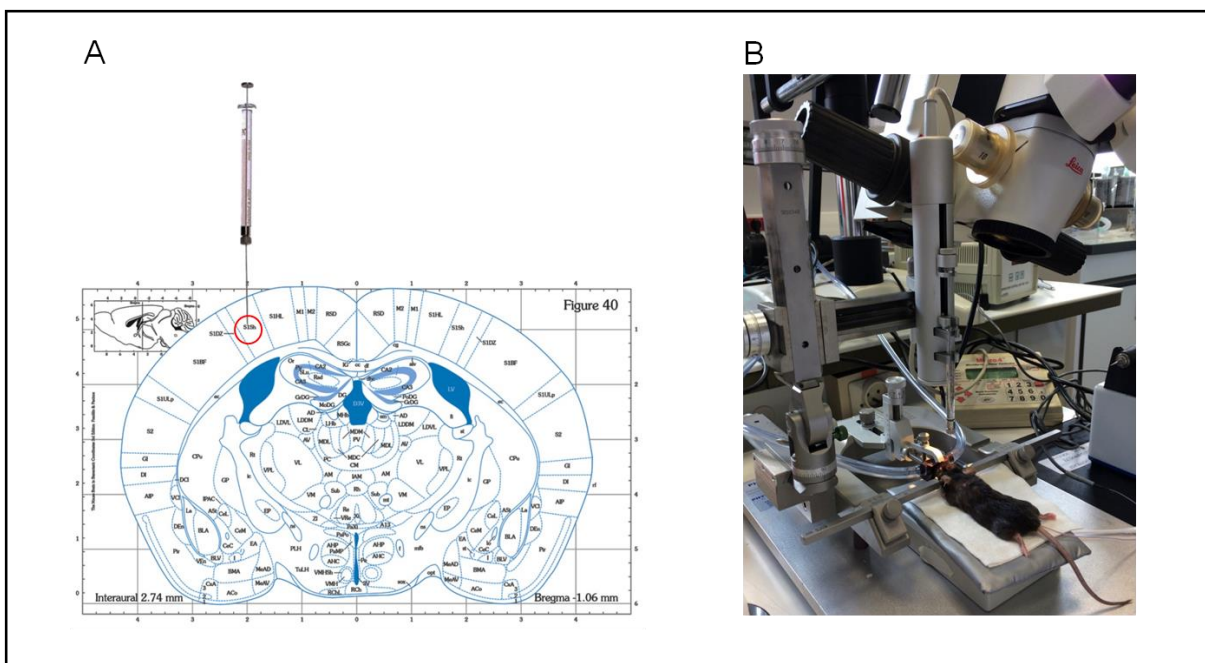


Figure 2 : Description de la chirurgie stéréotaxique 1A : Schématisation de l'endroit de l'injection sur une coupe de l'atlas de Paxinos et Watson ; 1B : photo du placement de la souris dans le cadre stéréotaxique lors de la chirurgie

E. Imagerie par résonance magnétique (IRM)

Une IRM est réalisée 24h après la chirurgie pour caractériser la lésion en phase aiguë, ainsi qu'aux différents temps intermédiaires lors du suivi pour préciser l'évolution de la lésion induite et mesurer la volumétrie des cortex et des hippocampes.

Les images ont été obtenues sur une IRM 7 Teslas (Bruker, Biospec, Ettlingen Germany). Pour les acquisitions cérébrales, deux types d'antennes sont utilisées, une antenne émettrice cylindrique de 72mm de diamètre interne et une antenne de surface placée sur le scalp de l'animal pour la réception du signal.

1. Préparation de l'animal

Avant l'installation de l'animal dans l'IRM, ce dernier est anesthésié dans une boîte d'induction par inhalation continue de 3% d'isoflurane à un débit de 1ml d'air par minute. L'animal est ensuite placé dans le berceau où il est maintenu sous anesthésie durant la totalité de l'acquisition par inhalation d'isoflurane concentré à 1-1,5%. Durant l'acquisition, la saturation en oxygène et la fréquence respiratoire sont surveillées via respectivement le positionnement d'un capteur sur la patte arrière de l'animal et d'un capteur de pression positionné sous l'abdomen de l'animal. Le maintien de la température corporelle est assuré par le positionnement d'une couverture chauffante sur le dos de l'animal.

2. Acquisition des images 24h après la chirurgie

Le délai de 24h pour l'acquisition d'IRM après la chirurgie a été déterminé suite à plusieurs essais réalisés à 3h, à 6h, à 18h, à 24h, 48h, et à 72h après la chirurgie. La lésion est encore nettement visible à 24h, ce qui permet à la fois une analyse satisfaisante des images et également un bon compromis pour l'organisation pratique des expérimentations.

Une séquence en écho de spin pondérée T2 de type TurboRARE (Rapid Acquisition with Relaxation Enhancement) est réalisée systématiquement dans le plan coronal afin de visualiser l'œdème et le site d'injection. Les paramètres d'acquisition sont les suivants : Temps de Répétition (TR) / Temps d'Echo(TE) = 5000/33 ms. Le champ de vue (FOV : Field Of View) est un carré de 2 cm de côté, codé par une matrice carrée de 256, la résolution spatiale dans le plan est de 78 μ m, nombre d'excitation (Nex) = 2, le temps d'acquisition pour cette acquisition est de 5,20 minutes.

Une séquence en écho de gradient de type MGE (Multi-Gradient Echo) (T2*) est réalisée pour révéler la présence d'hémossidérine et de sa localisation. Les paramètres d'acquisitions sont les suivants : TR/TEs; 1500/4 ; 9 ; 14 ; 19 ; 24 ; 29 ; 34 ; 39 ; 43 ; 48 ; 53 et 58ms ; Nex =2. Le

temps d'acquisition de cette séquence est de 9,36minutes. Les paramètres de géométrie sont identiques à ceux de l'acquisition TurboRARE T2. Pour toutes les séquences, des coupes coronales d'une épaisseur de 0,5 mm sont réalisées.

La présence ou non de la MHC est évaluée sur la séquence T2 *. Le critère d'inclusion pour les groupes MHC et MHC + AT est la présence d'une MHC à l'endroit de la chirurgie. A l'inverse, le critère d'inclusion pour les groupes Sham est l'absence de MHC à l'endroit de la chirurgie (Figure 3).

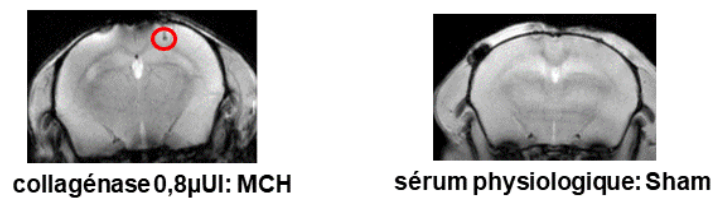


Figure 3: Coupes coronales du cerveau murin en IRM T2*. A gauche : exemple de lésion micro-hémorragique indiquée par un cercle rouge ; à droite : exemple de souris du groupe SHAM sans lésion apparente

3. Acquisition des images de fin de suivi à 1,5 mois, 6 mois et 12 mois

A chaque temps d'évaluation lors du suivi cinétique, une séquence 3D TurboRARE T2 est réalisée afin de calculer les volumes des structures cérébrales. Les paramètres d'acquisition de la séquences sont les suivants : TR/TE: 2500/48 ms; FOV cubique de 1,4 cm de côté, codée par une matrice de 112 afin d'obtenir une résolution isotropique de 125 µm. La séquence MGE, identique à celle réalisé à 24h est réalisée afin de pour visualiser d'éventuelle hémorragie résiduelle.

Un ingénieur spécialiste de l'imagerie (C.B.) a procédé au post-traitement de toutes les images en aveugle. Tout d'abord, un prétraitement est effectué sur les images. Un filtre basé sur la méthode des moyennes non locales est appliqué (Coupe et al., 2008). L'inhomogénéité des images débarrassées de bruit de fond est ensuite lissée avec l'algorithme N4ITK (Tustison et al., 2010).

Le cerveau est ensuite extrait des images T2 et segmenté avec la méthode de fusion de label à partir de multi-atlas (Ma et al., 2014).

Le volume de chaque région d'intérêt (Cortex ipsilatéral à la lésion ; cortex controlatéral ; hippocampe ipsilatérale à la lésion ; hippocampe controlatérale) est ensuite calculé de manière automatique (Figure 4).

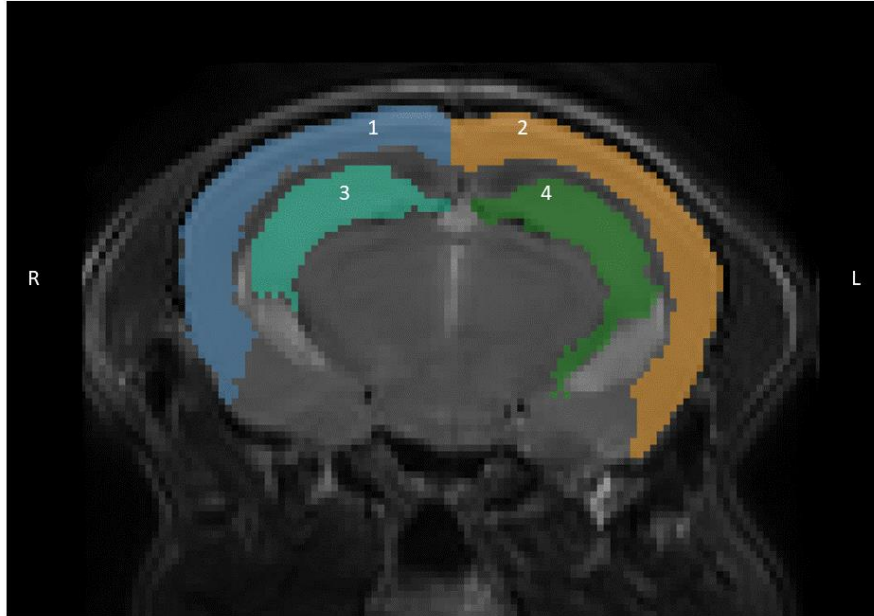


Figure 4: Exemple de délimitation de zone d'intérêt sur une coupe coronale en 3DT2.1 : Cortex controlatéral à la lésion (droit); 2 : cortex ipsilatéral (gauche); 3 : hippocampe controlatéral (droit) ; 4: hippocampe ipsilatéral (gauche)

F. Tomodensitométrie par émission de positons (TEP)

1. Acquisition des images à 1,5 mois, 6 mois et 12 mois lors du suivi cinématique

Dans le cadre du suivi à 1,5 mois, 6 mois et 12 mois après la chirurgie, une TEP (Siemens, Inveon) a été réalisée. L'évaluation du métabolisme cérébral in vivo est réalisée avec le fluoro-désoxyglucose. Ce radiotracer est l'analogue radiomarqué du glucose et s'accumule dans les cellules de façon proportionnelle à leur activité glycolytique. Il a déjà été utilisé dans les modèles animaux pour caractériser l'évolution des lésions vasculaires en phase aiguë (Lee et al., 2011; Lin et al., 2010). Cependant, aucune donnée n'existe sur l'évolution à long terme en TEP des lésions vasculaires de petite taille.

L'administration du radiotracer chez les souris est faite par voie intrapéritonéale, en situation consciente. La dose injectée varie entre 13MBq et 15MBq pour un volume injecté de 300µl (IBA-CisBio, Saclay, France). Un scanner rayon X est tout d'abord réalisé 50 minutes après l'injection. A la fin du scanner, la souris est automatiquement déplacée dans le champ de vue TEP, pour y débiter l'acquisition, soit 60 minutes après l'injection du FDG. La durée de biodistribution du FDG est de 60 min, afin d'atteindre l'équilibre entre les compartiments plasmatique et cellulaire. Pendant les 15 min d'acquisition des images de scanner puis de la TEP, les souris sont maintenues sous anesthésie par inhalation d'isoflurane. Pendant l'acquisition des

images de la TEP, les souris sont placées sous lampe chauffante et la respiration est contrôlée régulièrement de façon visuelle.

Lors de la reconstruction, l'acquisition TEP de 15 minutes a été divisée en trois périodes de 5 minutes afin de vérifier que la tête de l'animal n'a pas bougé au cours de l'acquisition. Les trois volumes obtenus ont été reconstruits avec l'algorithme 3D OSEM / SP-MAP (Ordered Subset Expectation Maximization / Shifted Poisson Maximum A Priori), en utilisant 2 itérations et 16 sous-ensembles pour l'algorithme OSEM et 18 itérations pour l'algorithme SP-MAP (C.Lasnou et al, Optimized Reconstructions for Therapy Assessment in Cancer Research with the Inveon Small Animal PET/CT System). Des corrections d'atténuation (à partir des images scannographiques) et des rayonnements diffusés ont été également effectuées sur les images.

2. Post traitement des images

Le post traitement des images de TEP/scanner a également été réalisé en aveugle par un ingénieur (C.B.).

Avant le recalage TEP/scanner, plusieurs prétraitements sont nécessaires : les trois volumes TEP acquis par souris sont moyennés et une correction de l'intensité est appliquée sur l'image scannographique. Par suite, un recalage rigide est réalisé sous SPM8 (Wellcome Department of Cognitive Neurology, London, UK; <http://www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm/>). Un sous-volume comprenant uniquement la tête a ensuite été extrait des images TEP et scanner. Afin d'extraire le cerveau, l'image du scanner est recalée sur un modèle à l'aide de la commande antsRegistration (Advanced Normalization Tools package, ANTs). La transformation qui en découle est alors appliquée à l'image TEP. L'image TEP du cerveau de chaque souris est ensuite recalée sur sa propre IRM à l'aide d'ANTs.

Par suite, l'image TEP est convertie en valeur de fixation normalisée (standardized uptake value, SUV). La formule de calcul d'une SUV se fait de la façon suivante : $SUV = \text{fixation [MBq/mL]} \times \text{poids [g]} / \text{dose injectée [Mbq]}$.

Pour éviter les biais induits par une possible différence de radioactivité initialement injectée, la radioactivité de chaque région est rapportée à celle du cerveau entier considérée en tant que région de référence (Figure 5).

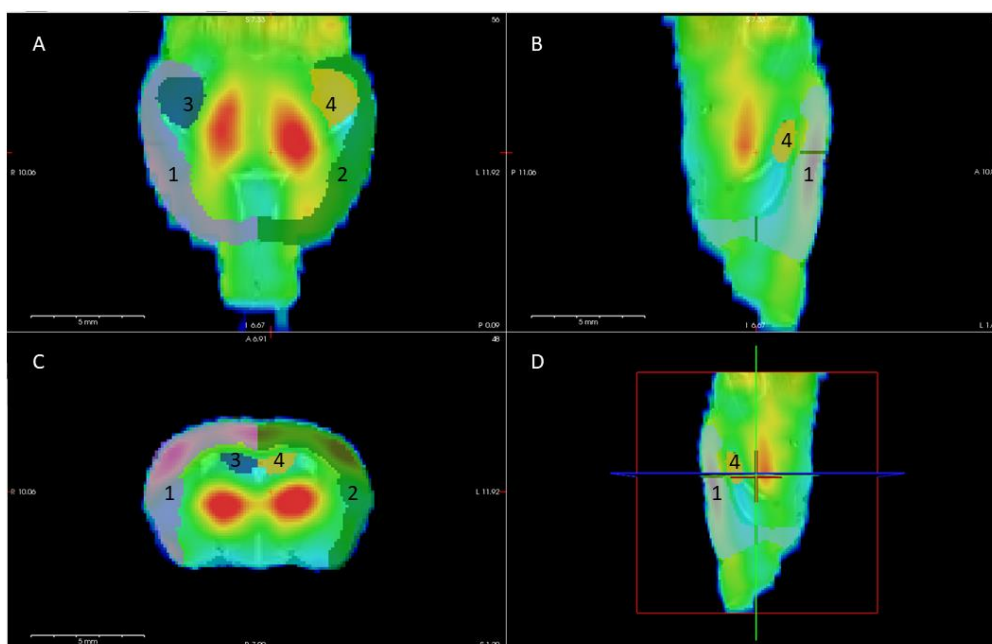


Figure 5: Visualisation des zones d'intérêt sur les images TEP, (les images IRM étant en superposition à l'arrière-plan) afin de calculer la radioactivité prise au sein de chaque zone d'intérêt lors du post traitement des images en TEP. A : Vue en coronal ; B : Vue en sagittal ; C : Vue en axial ; D : Vue dans les 3 plans. 1 : Cortex droit ; 2 : Cortex gauche ; 3 : Hippocampe droit ; 4 : Hippocampe gauche

G. Tests neurocomportementaux

Une semaine avant chaque série de tests neurocomportementaux, la stabulation des souris est modifiée : elles sont stabulées au sein de la plateforme d'exploration fonctionnelle (SFR, DN2M, Univ Lille), en armoire ventilée (éclairée de 8h à 20h, température contrôlée entre 19 et 24°C et humidité comprise entre 45 et 65%) et manipulées quotidiennement par l'expérimentateur afin de les y habituer. Les cages sont placées dans la pièce de test au moins 30 min avant chaque test. Les tests sont effectués sur deux semaines selon un ordre croissant de sollicitation mnésique et de stress induit pour la souris.

1. Actimétrie : évaluation de l'activité locomotrice spontanée

L'activité locomotrice spontanée des animaux est mesurée dans un open field au moyen d'un actimètre infrarouge (Bioseb, USA). Le système se compose d'une arène dont le fond est en plastique noir (45x45 cm) et les 4 parois en plexiglas transparent (34 cm de hauteur). Deux cadres comprenant 32 cellules infrarouges chacun entourent le système et permettent la détection des mouvements horizontaux et verticaux. L'ensemble des déplacements est enregistré et analysé sur une période de 10 min grâce au logiciel d'acquisition Actitrack (Bioseb, USA). L'enregistrement démarre lorsque l'animal est déposé au centre de l'arène qu'il peut alors explo-

rer librement. L'arène est nettoyée à l'éthanol 70% entre chaque souris. Les paramètres utilisés pour l'évaluation de l'activité locomotrice sont la vitesse maximale (cm/s), la distance parcourue (cm), et le nombre de redressements.

2. Le labyrinthe en croix surélevé : évaluation du niveau d'anxiété

Ce test est couramment utilisé pour évaluer le comportement anxieux chez les rongeurs. Il représente le conflit de l'animal entre sa préférence pour les espaces « protégés » et sa motivation innée à explorer un nouvel environnement (Walf et Frye, 2007). Plus l'animal est anxieux, plus il a tendance à rester dans les bras fermés. Le dispositif comporte quatre bras (36,5 x 6 cm) : deux bras ouverts et deux bras fermés par des parois en plastique noir (hauteur : 14,5 cm). Les bras de même type sont situés l'un en face de l'autre, formant une croix surélevée de 50 cm par rapport au sol. L'illumination du labyrinthe est comprise entre 30 et 40 Lux pour les bras ouverts et environ 10 Lux dans les bras fermés. L'animal est placé au centre du dispositif, toujours face au même bras ouvert. Il peut explorer librement les bras pendant 10 min. Un système de video tracking (caméra connectée à un ordinateur équipé du logiciel Ethovision XT 7.0, Noldus, Wageningen, Pays Bas) permet de suivre et d'analyser les déplacements de l'animal au cours de l'expérimentation. L'enregistrement démarre dès qu'un mouvement de l'animal est détecté.

L'expérimentateur est placé hors de la vue de l'animal et limite le plus possible le bruit et les mouvements. Après 10 min l'animal est remis dans sa cage et le dispositif est nettoyé à l'éthanol 70%. Le paramètre retenu pour évaluer le niveau d'anxiété des différents groupes de souris est le pourcentage de temps passé dans les bras ouverts.

3. Labyrinthe en Y : test d'alternance spontanée pour l'évaluation de la mémoire de travail

Le dispositif est constitué de trois bras identiques en plastique blanc (longueur : 30 cm, largeur : 8 cm, hauteur : 15,3 cm) positionnés à 120° les uns des autres et nommés bras A, B et C (Figure 5). Le labyrinthe est toujours disposé de la même manière dans la pièce avec une intensité lumineuse d'environ 100 Lux. La souris est déposée au centre du labyrinthe et peut explorer librement les 3 bras pendant 8 min. L'enregistrement démarre lorsque l'animal est détecté. Les déplacements sont traqués et enregistrés grâce au logiciel Ethovision XT 11.5. L'expérimentateur, hors de la vue de l'animal limite le bruit et les mouvements. Entre chaque souris, les parois du dispositif sont nettoyées à l'éthanol 70%.

Utilisé dans ces conditions expérimentales, le labyrinthe en Y permet de réaliser le test d'alternance spontanée afin d'évaluer la mémoire de travail des animaux (Holcomb et al., 1999;

Wolf et al., 2016). Pour cela, le nombre et la séquence des entrées dans les différents bras sont relevés. L'entrée dans un bras est prise en compte lorsque les 4 pattes de l'animal s'y trouvent. Une alternance correspond à l'entrée successive dans 3 bras différents, par exemple ABC, BAC, CBA.... Des triplets tels que ABA, BCB... ne sont pas considérés comme des alternances (Figure 6).

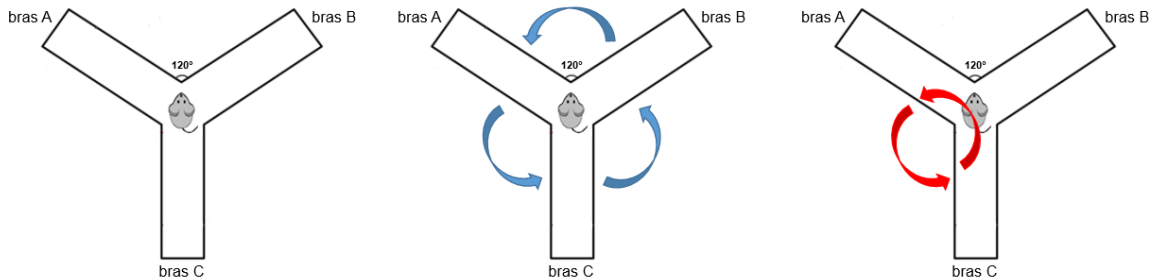


Figure 6: Représentation du labyrinthe en Y afin d'explorer la mémoire de travail par le taux d'alternance spontanée

Les flèches bleues indiquent les combinaisons de triplets possibles : ABC, BAC, CBA.... Les flèches rouges indiquent un exemple de suite de bras que la souris a visité, et qui n'est pas comptabilisé en tant que triplet : ACA

Le pourcentage d'alternance est défini par la relation suivante : $[(\text{nombre total d'alternances}) / (\text{nombre total d'entrées}-2)] \times 100$. L'analyse est effectuée sur une durée de 8 minutes du test. Les souris ayant fait moins de 8 entrées au cours des 5 premières minutes sont exclues de l'analyse (Wolf, 2016).

4. Touchscreen®, système automatisé : Paired-associate learning (PAL) task pour l'évaluation de la mémoire visuo-spatiale

La mémoire visuo-spatiale a été évaluée grâce à un système automatisé de tests neuro-comportementaux sur écrans tactiles. La capacité des souris à former une association entre deux stimuli (un stimulus visuel et une localisation spatiale sur l'écran) est testée grâce à l'object-location paired-associate learning task. Lors de la phase d'acquisition du PAL, il s'agit pour l'animal d'apprendre trois associations objet/localisation distinctes. L'apprentissage se fait à l'aide d'un renforcement positif avec une récompense alimentaire (lait chocolaté) en cas de bonne réponse et aussi d'un renforcement négatif (éclairage de forte intensité) en cas de mauvaise réponse. L'appétence des souris pour une boisson sucrée est vérifiée au préalable grâce à un test de préférence au sucrose réalisé sur 24 heures, en cage isolée présentant un choix entre 2 biberons, l'un contenant de l'eau et l'autre la solution de sucrose 1% (Strekalova et al., 2004). Pour s'assurer d'une motivation suffisante, les animaux sont soumis à une restriction alimentaire durant toute l'expérimentation avec pour objectif de 90% du poids initial pour les souris WT. En

raison d'une fragilité et d'une mortalité plus importante chez les souris transgéniques, la restriction alimentaire est moins sévère et vise environ 95% du poids initial. La restriction alimentaire est instaurée progressivement la semaine précédant le début de l'expérimentation avec une pesée quotidienne des animaux pour atteindre l'objectif de poids et pour contrôler le poids des souris tout au long de l'expérimentation.

Le dispositif comprend deux fois quatre compartiments (Figure 7A) équipés d'une isolation phonique et de systèmes de ventilation. Chaque compartiment abrite une chambre opérante (Campden Instruments Ltd., UK), un système permettant de délivrer la récompense, une lampe, un haut-parleur et une caméra située au-dessus de la chambre opérante afin d'observer et enregistrer le comportement de l'animal (Figure 7B). Comme décrite par Horner et al en 2013, chaque chambre opérante est constituée d'un écran tactile devant lequel est positionné un masque en plastique noir définissant les trois fenêtres de réponse (Horner et al., 2013). Trois autres parois en plastique noir forment l'arène trapézoïdale qui peut être fermée par un couvercle transparent. Le compartiment de récompense, accolé à la face opposée à l'écran, est relié par une tubulure à un réservoir contenant le lait chocolaté. Il est équipé de cellules infrarouges qui détectent la présence de la souris venant chercher la récompense. Le sol de l'arène est en acier inoxydable perforé. Les chambres opérantes sont connectées à un ordinateur d'acquisition muni du logiciel ABET II TOUCH (Campden Instruments Ltd., UK) permettant l'analyse des données.

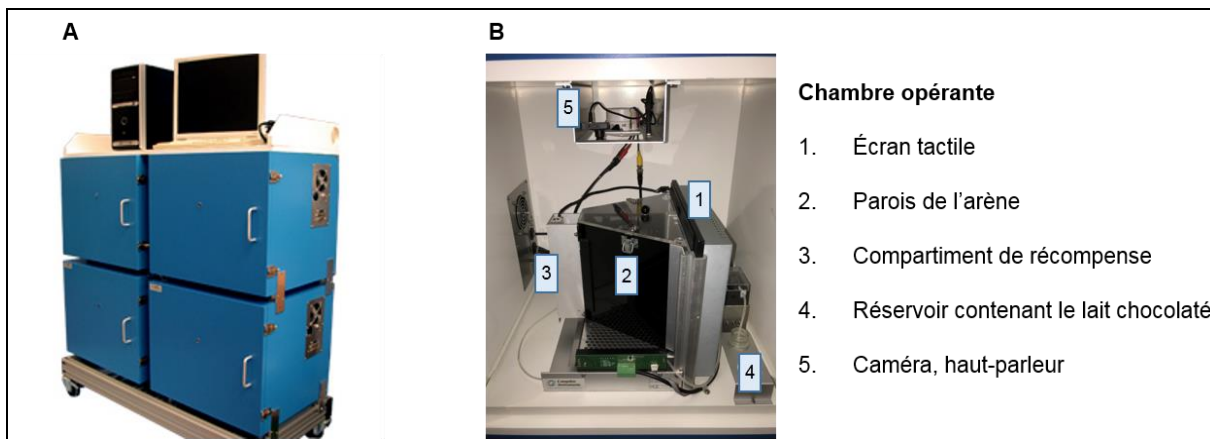


Figure 7: : Photo du dispositif du Touch screen®.

A : Vue d'extérieure d'un ensemble de 4 compartiments. B : Vue d'intérieure d'un compartiment.

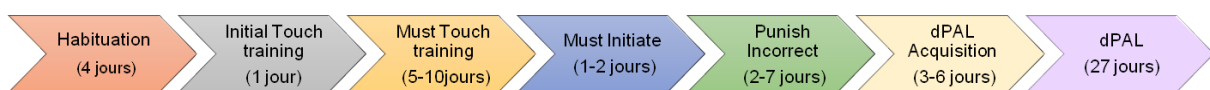


Figure 8: Représentation des différentes étapes d'habituation et de conditionnement avant le test dPAL

Le PAL se déroule de la façon suivante (Figure 8):

Avant la phase d'acquisition du PAL, plusieurs étapes d'habituation et de conditionnement sont nécessaires (les durées des différentes étapes sont données à titre indicatif et peuvent varier selon les animaux) :

- **Habituation (4 jours)** : le premier jour, la souris est laissée 10 min dans une chambre opérante de façon à explorer et s'habituer à ce nouvel environnement. Toutes les lumières sont éteintes, il n'y a aucun stimulus ni récompense. Les 3 jours suivants permettent d'associer l'éclairage du réservoir dans lequel est déversé le lait chocolaté (situé dans le compartiment de récompense), à l'émission d'un son (3 KHz). Le premier de ces trois jours, la session dure 20 minutes. Une première distribution de lait chocolaté (150 μ L) est amorcée avec éclairage du réservoir et émission du son. Lorsque la souris a pris la récompense et quitte le réservoir, la lumière s'éteint et un délai de 10 secondes est respecté avant qu'une nouvelle libération (7 μ L) se produise, accompagnée de l'éclairage du réservoir et du signal sonore. Ce cycle est répété jusqu'à la fin de la session. Les deuxièmes et troisièmes jours, la session se déroule de la même manière mais dure 40 minutes. Il s'agit de s'assurer que les récompenses sont bien prises par les souris, démontrant que le son et la récompense ont bien été associés pour pouvoir passer à l'étape suivante.
- **Initial touch training (1 jour)** : Cette étape permet d'habituer l'animal à l'apparition d'un stimulus sur l'écran tactile (un carré blanc) et de l'encourager à toucher l'écran dans la fenêtre de réponse où le stimulus est apparu. La session dure au maximum 60 minutes au cours desquelles un carré blanc apparaît de façon aléatoire dans l'une des trois fenêtres de réponse (les deux autres restant sans image). Après un délai de 30 secondes, l'image disparaît et la récompense est délivrée, accompagnée de l'éclairage du réservoir et du signal sonore. Une fois que la souris a consommé le lait chocolaté, la lumière du réservoir s'éteint et un intervalle de 20 secondes est respecté avant que le stimulus n'apparaisse à nouveau. Si la souris touche l'écran au niveau du carré blanc, alors l'image disparaît et un volume de lait chocolaté 3 fois supérieur à la récompense habituelle est délivré immédiatement, accompagné du signal sonore. L'intervalle de 20 secondes débute après récupération de la récompense. Pour passer à l'étape suivante, la souris doit réaliser 36 essais en un temps maximum de 60 minutes.
- **Must touch training (5 à 10 jours)** : Comme dans l'étape précédente, le stimulus visuel, un carré blanc, apparaît de façon aléatoire dans l'une des trois fenêtres de réponse. Pour obtenir la récompense, la souris doit toucher le carré blanc. Lorsqu'elle le touche, le réservoir s'allume, le signal sonore est émis et le lait chocolaté est délivré. L'intervalle de

20 secondes avant l'apparition d'un nouveau carré blanc débute quand la souris a récupéré la récompense. Si l'animal touche l'écran dans l'une des fenêtres vides, aucune récompense n'est délivrée. Chaque session dure au maximum 60 minutes. Le critère à remplir pour passer à l'étape suivante est de réaliser 36 essais dans le temps imparti.

- **Must initiate (2 jours)** : La session débute par la libération d'une récompense gratuite accompagnée de l'illumination du réservoir de récompense. Pour permettre l'apparition du stimulus (carré blanc) dans l'une des fenêtres de réponse, la souris doit d'abord aller récupérer le lait chocolaté dans le réservoir. Le stimulus visuel apparaît et l'essai se déroule comme dans l'étape précédente. Après l'intervalle de 20 secondes, le réservoir s'allume à nouveau et la souris doit y venir et ressortir pour initier l'essai suivant avec l'apparition d'un nouveau carré blanc. La souris doit effectuer 36 essais en une durée maximum de 60 minutes pour passer à l'étape suivante.
- **Punish incorrect (2 à 7 jours)** : Au cours de cette étape, les essais se déroulent de la même manière que précédemment sauf en cas de réponse incorrecte c'est-à-dire lorsque la souris touche l'écran au niveau des fenêtres de réponse vides. Alors, une punition sous forme d'une lumière intense dans la chambre opérante est déclenchée. Cette lumière reste allumée 5 secondes et la récompense n'est pas donnée puis la chambre retrouve un éclairage normal et l'intervalle de 20 secondes avant l'essai suivant débute. Pour pouvoir passer à la phase d'acquisition du PAL, les animaux doivent réaliser 27 réponses correctes (toucher l'écran au niveau du stimulus visuel) sur les 36 essais à effectuer en 40 minutes (la durée maximale de la session est de 60 minutes). Ce score doit être atteint deux jours de suite.

Ces différentes étapes permettent de préparer l'animal à la phase de PAL proprement dite. Dans la version utilisée ici, lorsqu'une paire d'objets apparaît à l'écran, il s'agit de deux objets différents (dPAL) parmi les 3 possibles (fleur, araignée ou avion). Six paires différentes peuvent être présentées lors d'un essai. L'un des deux objets se trouve à son unique localisation correcte (+) et l'autre se trouve à une de ses deux localisations incorrectes (-) (Figure 9). Les paires sont présentées de façon aléatoire mais une même paire n'apparaît pas plus de deux fois consécutives.

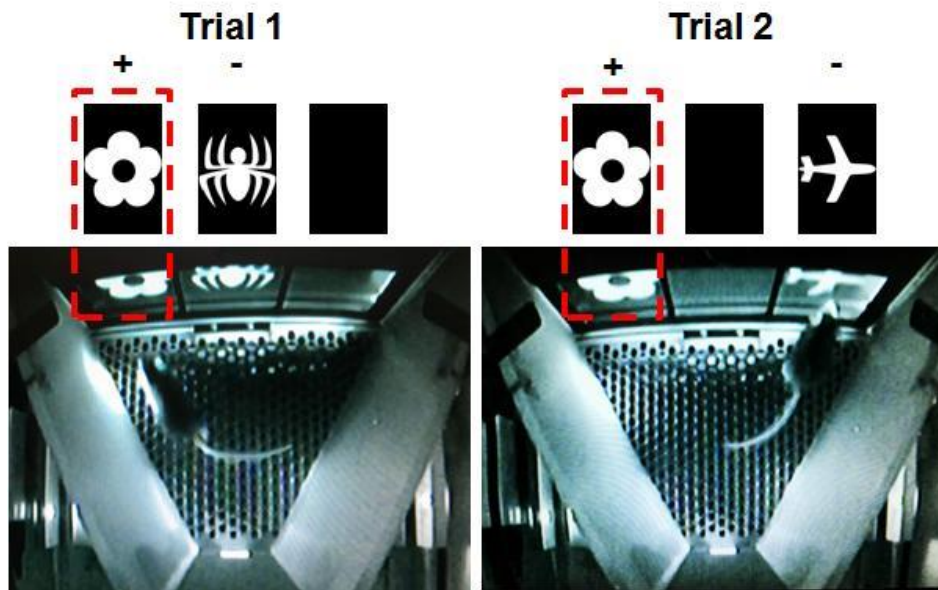


Figure 9: Exemple de deux essais durant la phase test de dPAL.

A gauche, la fleur s'affiche sur l'écran de gauche, la souris fait la bonne association et recevra une récompense. A droite : la souris touche l'avion qui s'affiche à droite, et qui est une mauvaise association. La souris recevra une lumière intense brève en guise de punition.

Le dPAL se déroule de la manière suivante :

- **dPAL acquisition (3 à 6 jours)** : Pour initier le premier essai, c'est-à-dire la présentation de la première paire d'objets sur l'écran, la souris doit aller récupérer une récompense gratuite libérée dans le réservoir qui est allumé. Elle doit donner un coup sur l'objet qui se trouve à sa localisation correcte pour obtenir la récompense qui est accompagnée de l'illumination du réservoir et du signal sonore. Quand la souris a été chercher le lait chocolaté, le réservoir s'éteint et un intervalle de 20 secondes débute. Le réservoir de récompense se rallume et la souris doit initier l'essai suivant. Au cours de cette étape, les réponses incorrectes (touchant une fenêtre de réponse vide ou sur l'objet à la localisation incorrecte) sont ignorées. Durant les sessions de 60 minutes au maximum, l'animal doit effectuer 36 essais.
- **dPAL (30 jours)** : Les sessions se déroulent comme décrites à l'étape précédente mais les réponses incorrectes ne sont plus ignorées. En cas de réponse incorrecte, la récompense n'est pas délivrée et une lumière intense illumine la chambre opérante pendant une période d'arrêt de 5 secondes. Puis la lumière s'éteint et un intervalle inter-essai débute. La souris a alors la possibilité de corriger son erreur grâce à des essais de correction au cours desquels la même paire d'objets, aux mêmes localisations, est présentée jusqu'à ce que la souris touche le stimulus correct (Schéma 5). L'animal doit réaliser 36 essais pendant une session de 60 min maximum. Dans ce protocole, 30 sessions sont effectuées (une session quotidienne).

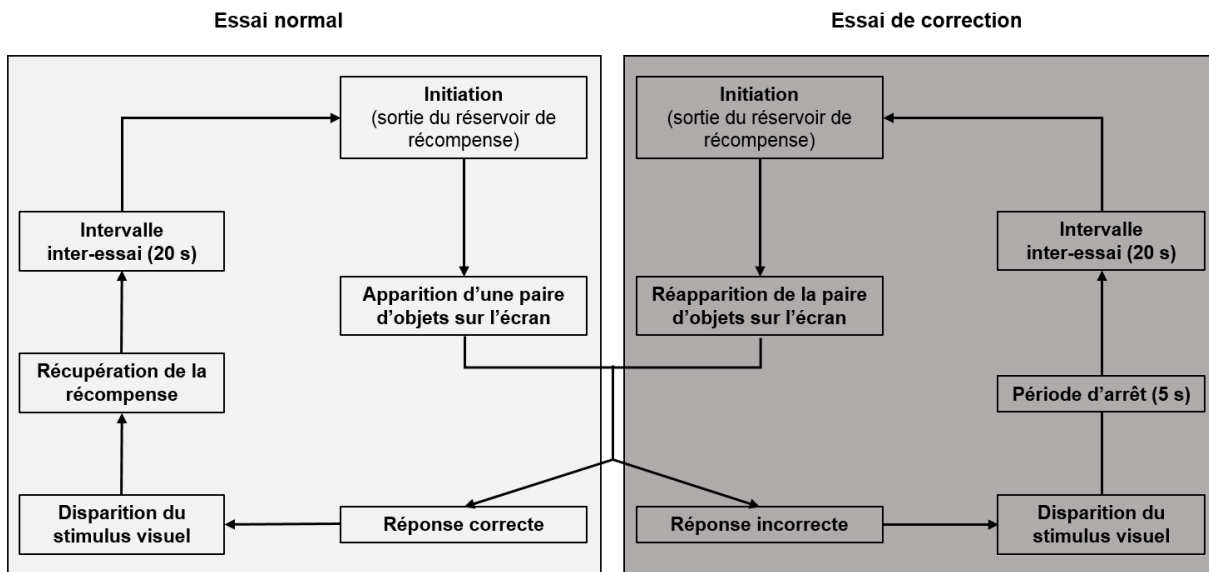


Schéma 5: Le déroulement du dPal lors d'une session, issu de Horner et al, 2013

Pour la période de dPAL, au cours de chaque session, le nombre total d'essais convertis, le nombre d'essais de correction, et le pourcentage de réponses correctes sont relevés. La mémoire visuo-spatiale des animaux est évaluée grâce au suivi du pourcentage de réponses correctes. Le nombre d'essais de correction n'est pas pris en compte dans le calcul de ce pourcentage. Etant donnée la variabilité que l'on peut rencontrer d'une session à l'autre pour un même animal, le pourcentage de réponses correctes est moyenné par bloc de 3 jours (3 sessions).

5. Test de reconnaissance d'objet (Novel object recognition (NOR))

Ce test permet d'explorer la mémoire de reconnaissance chez les rongeurs, car il fait appel à leur préférence naturelle pour un nouvel objet par rapport à un objet familier. Nous évaluons donc la capacité du rongeur à reconnaître si un objet est nouveau ou familier dans un environnement connu.

Le protocole a été inspiré du travail de Léger et al 2013, avec de légères modifications (Leger et al., 2013). Le dispositif expérimental est constitué d'une enceinte carrée (50x50 cm) entourée entièrement de cloisons noires pour éliminer tout indice du champ visuel de la souris. Les souris sont placées dans la pièce 30 minutes avant chaque expérience afin qu'elles s'habituent à la pièce, où le niveau de luminosité est contrôlé (100 lux), maintenu identique jour après jour. Ce test se déroule sur 3 jours : une phase d'habituation de 10 minutes par jour les 2 premiers jours, le premier jour dans une enceinte vide, le deuxième jour dans la même enceinte avec deux objets identiques d'entraînement. Après ces deux jours d'entraînement, le 3^e jour est composé d'un premier temps d'habituation de 15 minutes avec deux objets identiques (différents de ceux du 2^{ème} jour) et d'un deuxième temps de test de 5 minutes avec un intervalle de rétention de 1h.

Lors du temps de test le 3^{ème} jour, l'arène contient un objet familier (présent lors du temps d'habituation de 15 minutes) et un nouvel objet (Schéma 6). L'enceinte ainsi que les objets sont nettoyés à l'alcool 70° après chaque passage.

Les souris doivent explorer au moins 20 secondes les deux objets identiques durant le temps d'habituation le 3^{ème} jour pour être incluses dans l'analyse.

Les déplacements sont traqués et enregistrés afin d'être analysés grâce au logiciel Ethovision XT 7.0 (Noldus, Pays-Bas).

A posteriori, les temps passés à explorer les objets sont recueillies manuellement à l'aide de deux chronomètres Brannan (et en aveugle des identifications des souris). Les explorations peuvent comprendre le temps à renifler l'objet, à toucher l'objet quand l'animal se retrouve face à l'objet, mais excluent le temps à grimper sur l'objet ou à le grignoter. L'index de discernement, représentant la mémoire de reconnaissance à court terme, est calculé, grâce à ces paramètres, via la formule suivante :

Temps passé à renifler le nouvel objet – temps passé sur l'ancien objet

Temps passé à renifler le nouvel objet + l'objet familier

Plus l'index est proche de 100%, plus la souris explore le nouvel objet.

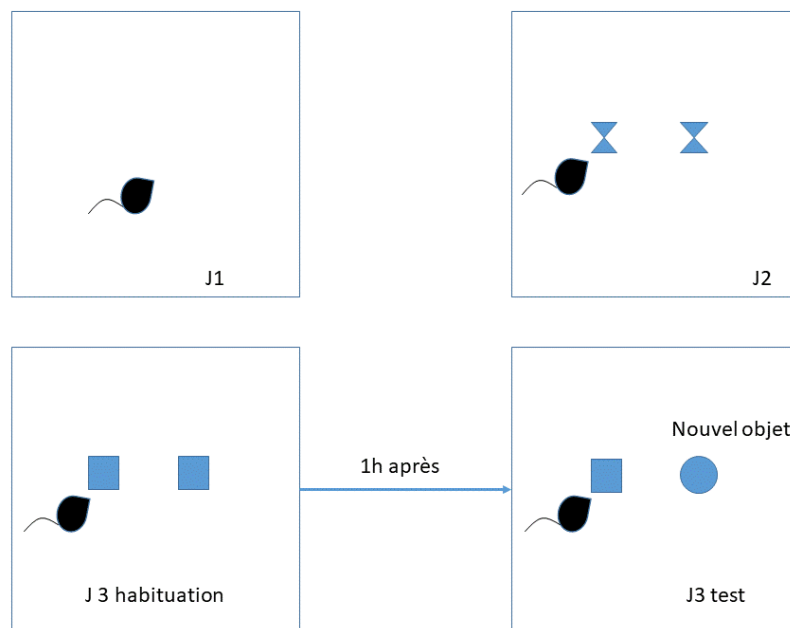


Schéma 6: Déroulement du test de reconnaissance d'objet

J1 : la souris est placée dans l'enceinte carrée pendant 10 minutes ; J2 : la souris est placée dans l'enceinte avec deux objets identiques pendant 10 minutes ; J3 habituation : la souris est placée dans l'enceinte avec deux objets identiques pendant 15 minutes ; J3 test : la souris est placée dans l'enceinte avec un objet familier (ici le carré), et un objet nouveau (ici le cercle) pendant 5 minutes

H. Sacrifice et préparation des tissus

En fin de protocole, les animaux reçoivent une injection intrapéritonéale de pentobarbital (Doléthal[®], Vétoquinol, France) à 150 mg/Kg.

1. Etude immunohistologique

Les animaux sont ensuite perfusés par voie intracardiaque en positionnant un cathéter à l'apex du ventricule gauche et en incisant l'oreillette droite afin de laisser le sang s'écouler. La perfusion débute avec du sérum physiologique hépariné froid (environ 50 mL) jusqu'à ce que le sang soit remplacé par le sérum perfusé et que les organes, notamment le foie, soient décolorés. La perfusion est alors poursuivie avec 50 mL paraformaldéhyde (PFA) 4% (Diapath, Italie). Les cerveaux sont ensuite prélevés et placés une nuit en post-fixation dans un bain de PFA à 4°C. Les cerveaux sont ensuite déshydratés dans une solution de sucrose 30% (Sigma-Aldrich, France) pendant 24 heures pour permettre une cryoprotection. Enfin, ils sont plongés pendant 1 min dans de l'isopentane maintenu à - 40°C puis conservés à - 80°C. Par la suite, des coupes de 20 µm d'épaisseur sont réalisées à - 20°C au cryostat (CM 3050 S, Leica, Allemagne) et recueillies sur lames (Superfrost plus[®], Thermo Fisher Scientific[®], Etats-Unis) en vue de marquages immunohistochimiques. Deux niveaux stéréotaxiques de coupe ont été choisis pour ces analyses. Le premier niveau a été déterminé à partir des coordonnées stéréotaxiques d'injection lors de la chirurgie et permet d'encadrer la zone d'injection (bregma - 0,82 mm à - 1,34 mm selon l'atlas de Paxinos et Franklin, 2001) Le deuxième niveau est un peu plus postérieur de façon à se situer à des stades plus avancés de l'hippocampe (bregma -1,82 mm à -2,30 mm). Deux séries de lames ont ainsi été réalisées et conservées à - 20°C (Schéma 7).

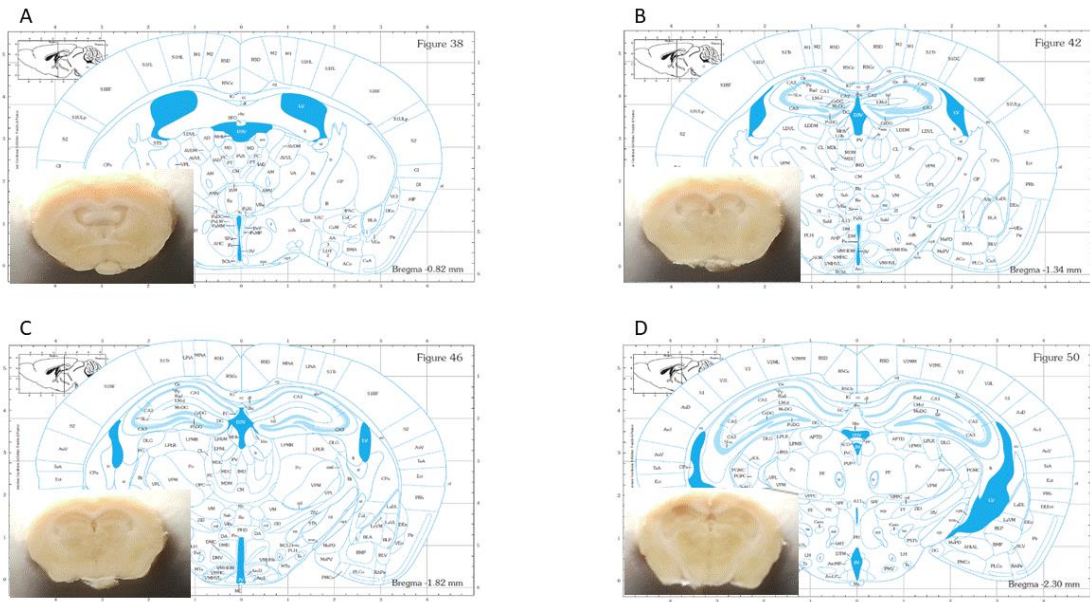


Schéma 7: Localisation des coupes de cerveau d'après l'atlas de Paxinos et Watson
 A et B : première série de coupe, de -0,82 mm à -1,34 mm ; C et D : deuxième série de coupe, de -1,82 mm à 2,30 mm

2. Etude de biologie moléculaire

Les animaux sont perfusés par voie intracardiaque avec du sérum physiologique hépariné froid (50 mL) jusqu'à ce que le sang soit remplacé par le sérum perfusé et que les organes, notamment le foie, soient décolorés. Les cerveaux sont alors immédiatement prélevés, immergés brièvement dans du sérum physiologique froid et placés dans une matrice en plexiglas transparent afin d'isoler les régions cérébrales à disséquer (Schéma 8). Ces régions d'intérêt sont placées dans une cupule posée sur un pain de glace et contenant du sérum physiologique ainsi maintenu froid pour limiter la dégradation des tissus par les enzymes de dégradation (protéases et phosphatases non actives à des températures proches de 0°C). Elles sont disséquées de façon à récupérer les structures suivantes : cortex frontal gauche et droit, cortex ipsilatéral (gauche) et contralatéral (droit) vis-à-vis de la zone d'injection et hippocampes gauche et droit. Ces différentes structures sont ensuite rapidement pesées puis congelées en azote liquide. Elles sont conservées à - 80°C.

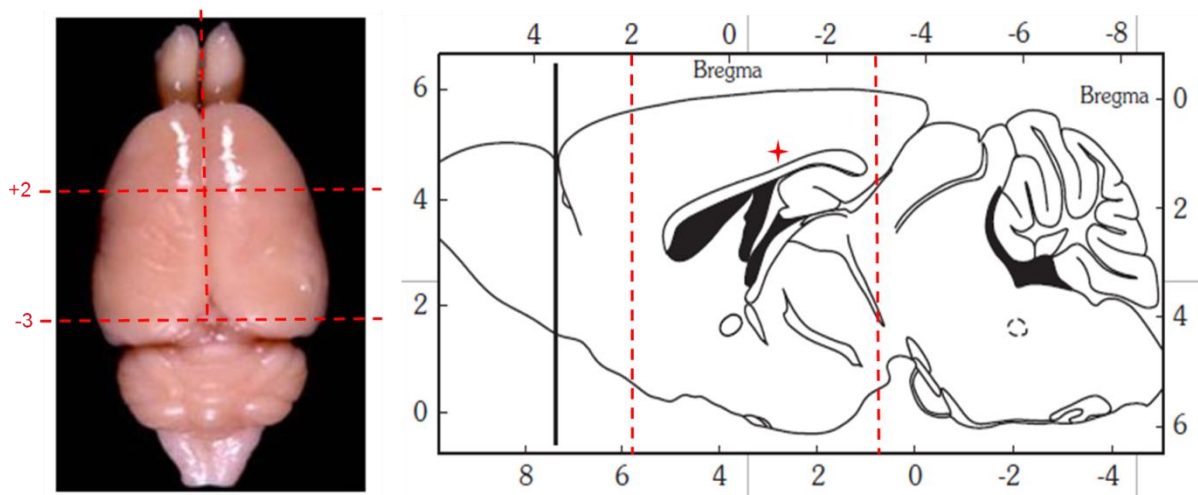


Schéma 8: Représentation des plans de dissections (pointillés rouges) des cerveaux permettant d'isoler les structures d'intérêt

La photo de gauche représente une vue supérieure d'un cerveau à l'état frais. Le schéma de droite représente une coupe sagittale de cerveau, la croix rouge représente la zone d'injection lors de la chirurgie stéréotaxique.

3. Prélèvements sanguins

Lors du sacrifice, un prélèvement sanguin intracardiaque est systématiquement réalisé avant la perfusion. Le sang est recueilli dans un tube EDTA (Microvette® 500µL K3E, SARSTEDT) et centrifugé à 4500 rpm pendant 20 minutes à 4°C afin de récupérer le plasma qui est conservé à -20°C.

I. Dosages plasmatiques

1. Dosage du cholestérol total

Le dosage du cholestérol total a été effectué à partir des échantillons de plasma prélevés, dans la machine VefTest® 8008 (IDEXX), selon les recommandations du constructeur. Brièvement, après avoir inséré la cassette permettant le dosage du cholestérol (CHOL 4, réf FC01 AA20, IDEXX laboratoire), environ 50 µL de plasma est prélevé à l'aide de la pipette fournie. Et le résultat s'affiche automatiquement huit minutes plus tard, et est exprimé en pg/mL.

2. Dosage du taux plasmatique d'œstrogène par ELISA

Le dosage est réalisé à l'aide du kit de dosage d'œstradiol par la méthode ELISA par compétition (Cayman Chemical, estradiol ELISA kit, 582251, Ann Arbor, MI, USA), permettant de doser de 6,6 à 4000 pg/mL, avec une sensibilité de 15pg/mL. La méthode est basée sur la compétition entre l'œstradiol à doser, et un traceur œstradiol conjugué à l'acétylcholinestérase fourni à une concentration constante. Le réactif qui contient le substrat de l'acétylcholinestérase

émet une couleur jaune dont l'intensité sera déterminée par spectrophotométrie. Donc plus l'échantillon est concentré en œstradiol, moins le traceur sera lié au puits, et moins il y aura d'intensité observée (Schéma 9).

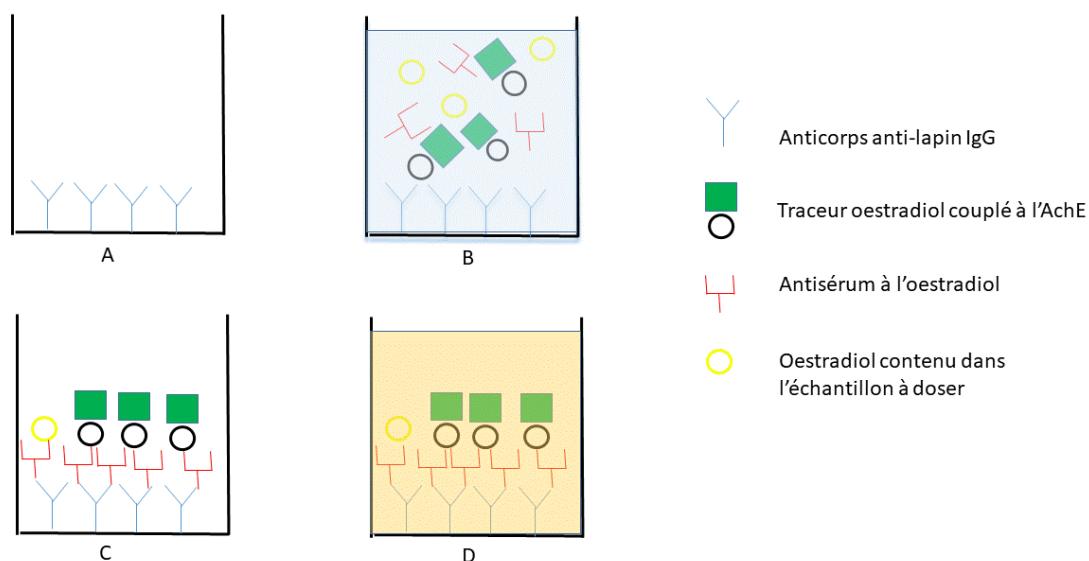


Schéma 9: Les différentes étapes d'ELISA par compétition pour doser l'œstradiol.

A : puits prérempli d'anticorps anti-lapin IgG ; B : incubation avec le traceur œstradiol couplé à l'AchE, l'antisérum, et l'échantillon à doser ; C : rinçage du puits pour nettoyer les liaisons non spécifiques ; D : développement du puits avec le réactif d'Ellman

Une gamme étalon de concentrations différentes connues d'œstradiol (4000 pg/mL, 1600 pg/mL, 640 pg/mL, 256 pg/mL, 102,4 pg/mL, 41 pg/mL, 16,4 pg/mL, et 6,6 pg/mL) a été préparée dans la solution tampon fournie par le kit. Dans chaque puits, sauf pour les témoins négatifs de liaison non spécifique, sont ajoutés successivement l'échantillon plasmatique à doser (50 µL) ou les échantillons de la gamme de concentrations connues d'œstradiol (50 µL), le traceur (50 µL), et enfin l'antisérum (50 µL). Une plaque compte au total 96 puits.

Après une heure d'incubation à température ambiante, les puits ont été vidés puis rincés avec la solution de rinçage fourni par le kit. Puis 200 µL de réactif d'Ellman a été ajouté dans chaque puits. Ensuite nous avons développé la plaque à l'abri de la lumière en la plaçant sur un agitateur orbital. L'intensité émise a été évaluée dans le spectrophotomètre à la longueur d'onde de 405 nm.

Une régression linéaire des résultats de la gamme étalon a été réalisée. Elle consiste à utiliser en ordonnées la fonction logit $(B/B_0) = \ln [B/B_0/(1-B/B_0)]$, et en abscisses les concentrations en logarithme. Nous avons ainsi pu calculer la concentration des échantillons à doser en fonction de leur intensité (Figure 10).

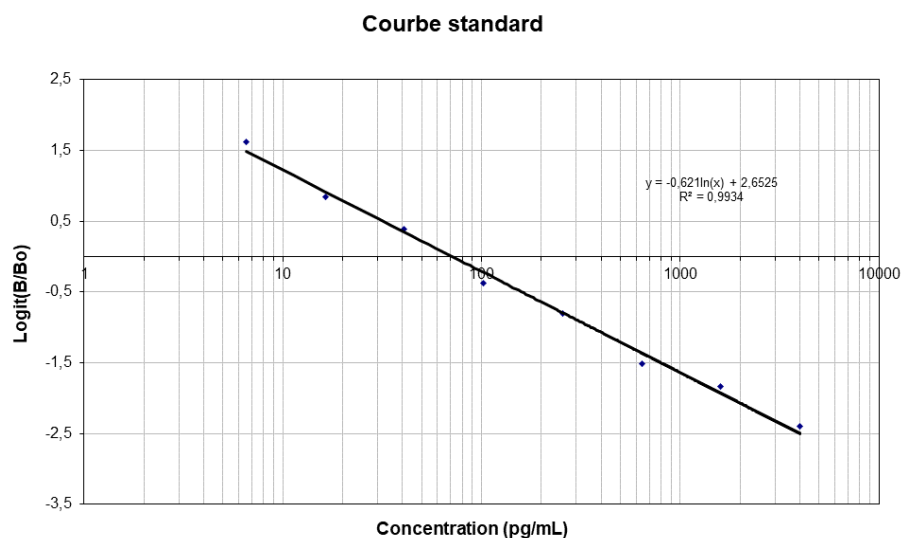


Figure 10 : Exemple de courbe standard suite à la lecture par spectrophotométrie
Points bleus : gamme étalon de concentrations différentes en logarithme ; logit (B/B0) : transformation logistiquie du rapport de l'intensité de l'échantillon (B) sur l'intensité maximale possible (B0)

J. Evaluation de l'expression génique des récepteurs aux œstrogènes par PCR quantitative en temps réel

L'expression génique des récepteurs aux œstrogènes (type α et β) a été évaluée par la méthode de PCR quantitative en temps réel. Cette méthode comporte trois étapes : l'extraction de l'ARN à partir des tissus cérébraux congelés frais ; la synthèse de l'ADNc ; puis la PCR à proprement parler.

1. Extraction de l'ARN

Chaque tissu est homogénéisé dans une solution d'Extract-all® (Eurobio) à raison d'1mL d'Extract-all® pour 1mg de tissu, composée de phénol et d'isothiocyanate de guanidine, à l'ULTRA-TURRAX® (IKA® T10 Basic). Après cinq minutes de repos permettant la complète dissociation des complexes nucléoprotéiques et l'ajout de 0,2 ml de chloroforme (SIGMA®) pour 1 ml d'Extract-all®, les échantillons sont centrifugés à 10 000 g durant 10 minutes à 4°C. Se forment trois phases dont la phase aqueuse supérieure incolore, laquelle contient exclusivement les ARN. Pour que ces derniers précipitent, la phase aqueuse est transférée dans un nouveau tube avec 0,5 ml d'isopropanol (SIGMA®) pour 1 ml d'Extract-all® initial. La nouvelle solution est vigoureusement mélangée puis elle est centrifugée à 10 000 g pendant 20 minutes à 4°C. Une fois le surnageant éliminé, un culot blanc reste sur la paroi et est récupéré. On y ajoute 1 ml d'éthanol (FLUKA® Analytical) à 75% pour 1 ml d'Extract-all® utilisé au départ. Puis la solution est de nouveau vigoureusement mélangée puis centrifugée à 10 000 g pendant 10 minutes à 4°C. Le surnageant est jeté tandis que le culot d'ARN est séché à l'air libre

pendant une heure. Il est ensuite mis en solution dans de l'eau ultra-pure (Eurobio). La concentration de la préparation finale d'ARN totaux est dosée par le Nanodrop® (labtech.com) sur la plateforme d'interactions moléculaires et d'imagerie cellulaire de l'IMPRT. La solution est libre de contaminants si les ratios des densités optiques ($A_{260\text{nm}}/A_{280\text{nm}}$ et $A_{230\text{nm}}/A_{260\text{nm}}$) sont supérieurs à 1,8.

2. Synthèse des ADN complémentaires (ADNc)

Les possibles traces d'ADN sont dégradées grâce à une étape enzymatique assurée par la DNase. Le mélange réactionnel est composé de 5 μL de tampon 10X de l'enzyme (Roche), 1 μL de DNase I, et 2 μg d'ARN. Il est ajusté avec de l'eau qsp pour obtenir un volume final de 50 μL . Il est ensuite incubé à 37°C afin d'activer l'enzyme durant 40 minutes, et à 75 °C pour la désactiver pendant 25 minutes.

L'étape suivante consiste en la conversion de l'ARN en ADNc par l'activité de l'enzyme reverse transcriptase. Le mélange réactionnel est formé de 25 μL de solution d'ARNm, 8 μL de Tampon 5 X (5 X First Strand Buffer, Invitrogen™), 0,5 μL d'enzyme SuperScript® III Reverse Transcriptase (Invitrogen™), 2 μL d'hexamères (Random Primer, Invitrogen™) afin d'amorcer la réaction, 1 μL d'oligodT 0,1 M (Invitrogen™) et 1 μL de nucléotides (dNTP à 10 mM, Invitrogen™) pour l'élongation des brins. Il est complété avec de l'eau qsp pour obtenir un volume final de 40 μL . Les différentes étapes sont successivement l'hybridation (10 minutes à 24°C), l'élongation de l'ADNc (40 minutes à 50°C) et la désactivation de l'enzyme (15 minutes à 75°C). Le volume du mélange est ensuite dilué avec de l'eau qsp pour un volume final de 200 μL (soit une concentration à 1/5eme du départ).

3. La PCR quantitative en temps réel

La quantification de l'ADNc répliqué en temps réel est permise par la mesure du nombre d'amplicons, sur lesquels se sont fixés des fluorophores SYBR green, spécifiques de l'ADN, à chaque cycle. Plus l'échantillon est concentré en molécules cibles, moins il faudra de cycles pour atteindre un point pour lequel le signal est significativement supérieur au seuil de détection de l'appareil. Ce point est défini comme le *Crossing point*.

Dans un premier temps, une amplification est produite sur un gène de référence, la protéine TATA Binding Protein (TBP), pour chaque échantillon. Le mélange réactionnel est constitué de 1 μL de la solution du tube 1 (10 μL de tube 1a, LightCycler® Faststart Enzyme mélangé délicatement dans le tube 1b LightCycler® Faststart Réaction Mix SYBR Green), 3,2 μL d'eau stérile, 0,8 μL de MgCl_2 à 25mM, 1 μL d'amorce sens à 3 μM , et 1 μL d'amorce sens à 3

µM. Il est disposé dans les capillaires (LightCycler® Capillaire Roche) avec 3 µL d'échantillon à analyse, qui sont ensuite centrifugés pendant 10 secondes à 3000 rpm. La PCR en elle-même est réalisée automatiquement par le Thermocycler LightCycler® Instrument selon les étapes suivantes : un cycle de 8 minutes à 95 degrés, suivi de 40 cycles répétés de 10 secondes de dénaturation à 95 degrés, 10 secondes d'hybridation à 60 degrés et 10 secondes d'élongation à 72 degrés. Une courbe de fusion est établie permettant de vérifier la spécificité des amplicons. Les couples d'amorces utilisés (TIB® MOLBIOL) sont répertoriés dans le tableau 4.

L'expression génique des *Esr α* et des *Esr β* est normalisée sur le niveau d'expression génique de la TBP. Chaque échantillon normalisé est ensuite exprimé par rapport à un échantillon de référence. Les valeurs sont ensuite rapportées en pourcentage ; l'échantillon de référence étant égal à 100%. L'échantillon de référence est soit le cortex droit du groupe WT SHAM, soit l'hippocampe droit du groupe WT SHAM.

Gènes d'intérêt	Séquences d'amorces
TBP sens	5' – ggcggttggttaggtt – 3'
TBP anti-sens	5' – gggttatcttcacacacatga – 3'
Esr α sens	5' – caactgggcaaagagagtgc – 3'
Esr α anti- sens	5' – ccagacgagaccaatcatca – 3'
Esr β sens	5' – agaatgtccaccgctagg – 3'
Esr β anti- sens	5' – agctgagaaaaatcctgtgaga – 3'

Tableau 4: : Liste des séquences d'amorces utilisées pour l'étude de l'expression génique des récepteurs aux oestrogènes

K. Statistiques

Les paramètres quantitatifs ont été exprimés en termes de moyenne et de déviation standard. La normalité des distributions a été vérifiée graphiquement et à l'aide du test de Shapiro-Wilk.

Les données sont analysées temps par temps (six semaines, six mois et douze mois après la chirurgie).

Les groupes dont le nombre de sujets est inférieur à 7 n'a pas pu être analysé.

Une première analyse a été réalisée au sein des souris WT afin d'étudier les effets de la lésion et du traitement. Les tests comportementaux évalués une unique fois, ainsi que les données de l'imagerie ont été comparés par une analyse de variance ou un test de Kruskal-Wallis (en cas d'écart à la normalité). En cas de différence significative, les groupes ont été comparés 2 à 2 avec correction de Bonferroni.

L'évolution des résultats du Touchscreen® a été analysée par un modèle mixte avec comme effet fixe le temps, le groupe et l'interaction groupe*temps. Ce modèle permet de tenir compte de la corrélation entre les mesures répétées. En cas d'effet groupe significatif, une analyse post hoc avec correction de Bonferroni a permis de comparer l'évolution du Touchscreen® entre les groupes 2 à 2.

Les volumes du cortex et de l'hippocampe du côté homolatéral de la chirurgie et du côté controlatéral ont été comparés au sein de chaque groupe et à chaque temps d'évaluation.

La même démarche a été utilisée au sein des souris APP.

L'effet du transgène a été analysé en comparant le groupe des souris WT sans lésion (WT SHAM) et celui des souris APP sans lésion (APP SHAM). Les tests comportementaux évalués une unique fois ont été comparés par un test t de Student ou un test U de Mann-Whitney (en cas d'écart à la normalité). Les résultats longitudinaux du Touchscreen® ont été analysés par un modèle mixte.

Le niveau de significativité a été fixé à 5%. Les analyses statistiques ont été effectuées à l'aide du logiciel SAS (SAS Institute version 9.4).

L. Ethiques

Les directives européennes et françaises relatives à la protection et à l'utilisation des animaux de laboratoire ont été respectées. Le protocole a reçu l'accord du comité d'éthique du ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche. Il est enregistré sous le numéro 00279.03.

MATÉRIELS ET MÉTHODES

Partie clinique

A. Critères de sélection des patients

Les patients ont été sélectionnés à partir de la cohorte COMAJ (COhorte de Malades Alzheimer Jeunes) et de la base de données du réseau de centres mémoire du Nord Pas-de-Calais.

1. La cohorte COMAJ

Les patients ont été recrutés à partir de la cohorte COMAJ (COhorte Malades Alzheimer Jeunes). Il s'agit d'une cohorte longitudinale, multicentrique (Lille, Rouen, Paris Pitié-Salpêtrière) dont les objectifs sont de mieux caractériser la maladie d'Alzheimer (MA) du sujet jeune de façon multimodale (recueil de données cliniques, biologiques, neuroradiologiques, génétiques, médico-sociales et neuropathologiques), approuvée par le comité d'éthique (numéro de protocole 110-05).

Le recrutement des patients a eu lieu de 2009 à 2017.

Ont été inclus dans cette cohorte après un consentement écrit, des patients jeunes affiliés à la sécurité sociale (avec un début des troubles avant 60 ans, mais dont l'âge à l'inclusion peut être supérieur à 60 ans) qui présentaient une MA définie par les critères du NINCDS-ADRDA (McKhann et al., 1984), et pour lesquels un aidant était identifié. Les patients qui refusaient le suivi médical ou dont le suivi était impossible en raison d'un changement d'organisation de vie, prévu à court ou moyen terme étaient n'étaient pas inclus de cette étude. N'ont pas été inclus les patients présentant des caractéristiques physiques ou culturelles susceptibles d'interférer avec la réalisation des tests.

Lors de la visite d'inclusion, réalisée par un neurologue, étaient recueillies les informations démographiques, médicales, et l'histoire de la maladie. Un examen neurologique était réalisé. Un recueil des données médicosociales était effectué par une infirmière. Une évaluation neuropsychologique était réalisée. Une IRM cérébrale et une TEP au FDG étaient réalisées lors de l'inclusion dans la cohorte, puis annuellement. Une ponction lombaire avec dosage des biomarqueurs (Abétau, Tau et Phospho-tau) était également pratiquée lors de l'inclusion chez les patients qui n'avaient pas encore bénéficié de cette exploration dans leur parcours de soin. Le génotypage de l'ApoE était effectué de manière systématique à l'inclusion.

Les patients étaient suivis tous les 6 mois. Les tests neuropsychologiques n'étaient effectués qu'une fois par an.

2. La base de données du réseau de centres mémoire du Nord Pas-de-Calais

La base de données consiste en un recueil multicentrique et rétrospective des données de manière prospective et consécutive dans chaque centre mémoire des départements du Nord et du Pas-de-Calais et centralisées dans la base de données informatisée du Centre Mémoire de Ressources et de Recherche (CMRR) de Lille (Chen et al, article en préparation). Ce fichier comprend les données de l'ensemble des patients ayant consulté pour une plainte cognitive dans un des centres mémoire de la région, et ayant bénéficié, examen neurologique, d'un examen neuropsychologique ou d'examen para cliniques. Le recueil des données a débuté en 1991 pour le CMRR de Lille et en 1997 pour les autres consultations mémoire et est à ce jour toujours en cours.

L'étude est considérée comme observationnelle par le Comité Interne de l'Hôpital Universitaire de Lille. La base de données a été déclarée à la CNIL (CNIL). Les règles de confidentialité ont été scrupuleusement respectées.

3. Critères de sélection des patients COMAJ et de la base des données du réseau de centres mémoire dans notre étude

Pour que les patients sélectionnés soient évalués de la manière la plus homogène possible, nous avons inclus les patients de la cohorte COMAJ suivis au CMRR de Lille et les patients issus de la base des données et suivis au CMRR de 2009 jusqu'en février 2017 (Figure 11).

Tous les patients inclus devaient répondre aux critères cliniques de MA probable et aux critères de recherche de MA probable avec niveau de preuve élevé ou intermédiaire selon les nouveaux critères du NIA (National Institute on Aging) (McKhann et al., 2011). (Tableau 5 et 6)

A	Début insidieux
B	Aggravation cognitive selon l'histoire de maladie
C	Signe prédominant lors de l'évaluation clinique
Ca	Présentation amnésique
Cb	Présentation non amnésique*
D	En absence d'une autre preuve évidente°

Tableau 5: Critères cliniques de diagnostic de MA probable# selon McKhann et al, 2011

: avec haut degré de preuve si déclin cognitif documenté par un suivi clinique, et/ou mise en évidence d'une mutation génétique connue (PS1, PS2, APP)

* : langagier, visuo-spatial, ou exécutif ;

° : a) maladie cérébrovasculaire concomitante ; b) présence de signes cardinaux d'une démence à corps de Lewy ; c) d'une démence frontotemporale variant comportemental ; d) d'une aphasie progressive primaire variant non fluente ; e) d'autres troubles de cause secondaire ;

Catégorie diagnostique	Degré de certitude	A β *	DNF ^o
MA probable	Elevé	Positif	Positif
	Intermédiaire	Positif	Indéterminé
	Intermédiaire	Indéterminé	Positif
	Indéterminé	Indéterminé	Indéterminé
MA possible	Indéterminé	Indéterminé	Indéterminé
	Elevé	Positif	Positif

Tableau 6 : Critères diagnostiques de recherche de MA selon McKhann et al, 2011

* : preuve apportée soit par l'élévation du taux d'A β 1-42 dans le LCS, soit par un marquage positif en TEP d'un traceur de plaques amyloïdes ;

^o : preuve apportée soit par l'élévation du taux de protéine Tau dans le LCS soit par un 'hypométabolisme en TEP au FDG, soit par une atrophie à l'IRM cérébrale

De plus, afin de mettre en évidence un déclin cognitif, deux MMSE devaient avoir été réalisés chez les patients sélectionnés et être disponibles à au-moins un an d'intervalle au cours du suivi.

Les patients présentant une MA associée à une mutation génétique connue (*PS1*, *PS2*, *APP*), et les patients ayant au moins un apparenté au premier degré (parents ou membre de la fratrie) présentant une MA avec un âge de début inférieur à 65 ans ont été exclus de l'étude. Les patients avec un antécédent familial de MA chez un apparenté de plus de 65 ans n'ont pas été exclus.

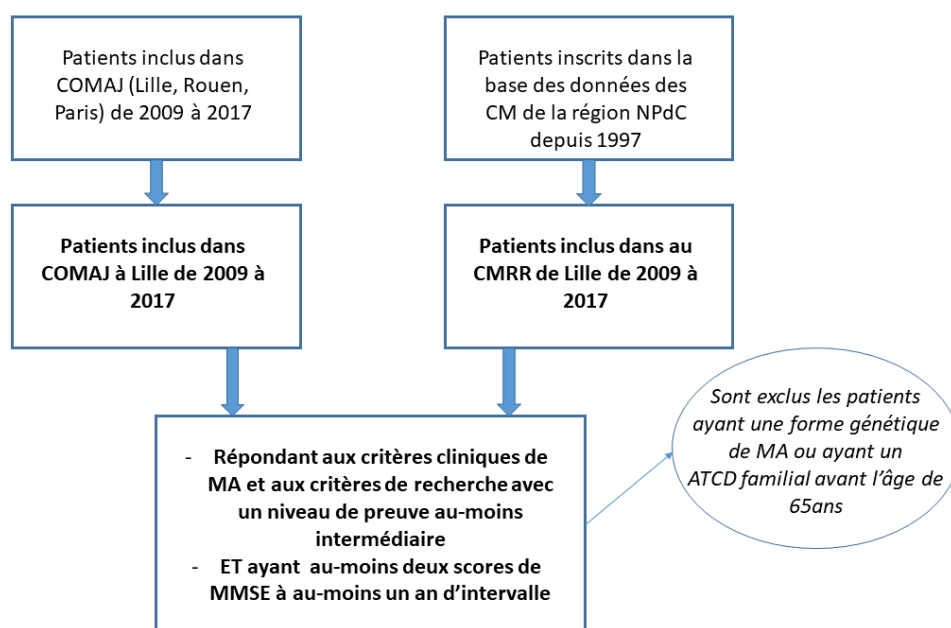


Figure 11 : Organigramme représentant les critères d'inclusion et d'exclusion pour cette étude-COMAJ : Cohorte maladie d'Alzheimer Jeune ; MA : maladie d'Alzheimer ; CMRR : Centre Mémoire de Ressources et de Recherche ; CM : centres mémoire ; NPdC : Nord Pas-de-Calais

B. Variables cliniques étudiés

Ont été recueillis pour cette étude, les variables cliniques ci-dessous :

- **Les données démographiques :**
- L'âge lors de la première consultation,
- L'âge lors des premiers signes cliniques et le délai de consultation,
- Le sexe,
- Le niveau d'éducation, divisé en quatre niveaux : aucun (non scolarisé) / niveau primaire (certificat d'étude, collège, CAP, brevet,) / niveau secondaire (BEP, lycée, BAC) / niveau supérieur (BAC+),
- Le lieu de vie, classé en : domicile / foyer / hôpital / institution
- **Les facteurs de risque vasculaires connus** (déclarés par le patient, son entourage ou son médecin traitant) :
- L'hypertension artérielle (chiffres tensionnels mesurés supérieurs à 140mmHg pour la pression artérielle systolique et/ou supérieurs à 90mmHg pour la pression artérielle diastolique, ou les patients qui ont une histoire médicale d'HTA),
- La dyslipidémie (l'hypercholestérolémie ou l'hypertriglycéridémie),
- Le diabète,
- Le tabagisme (sevré ou actif),
- L'alcool (consommation régulière de plus de 3 verres par jour) ;
- **Les facteurs de risque vasculaire mesurés :**
- Le poids et la taille (l'indice de masse corporel (IMC) est calculé par poids (kg) / Taille² (m²)) ;
- **Les comorbidités :**

- Les maladies cardiovasculaires (insuffisance cardiaque, artérite périphérique, infarctus du myocarde (IDM),
- Les accidents vasculaires cérébraux (AVC) ischémiques ou hémorragiques
- Les antécédents familiaux vasculaires (AVC ou IDM) et de démence ;
- Le ou les traitement(s) en cours : traitement antihypertenseur, traitement hypolipémiant (statines type lipophile, statines type hydrophile, fibrates, etc), traitement antidiabétique, traitement symptomatique de MA (anti-NMDA, anticholinesthérasiques), traitement psychotrope (antidépresseurs, anxiolytiques, neuroleptiques, hypnotiques), nootropes, traitement antiagrégant, traitement anticoagulant ;
- **L'histoire de la maladie :**
- Le score Mini Mental State Examination (MMSE) (Folstein et al., 1985) lors de la première consultation au CMRR, ainsi que les autres scores disponibles tout au long du suivi, afin d'estimer le déclin du score de MMSE dans le temps
- Le score à la « Dementia Rating Scale » (DRS) de Mattis (Gardner et al., 1981) évaluant les performances cognitives globales du patient à la première consultation.
- La durée de suivi au centre mémoire
- La date de décès éventuel au cours du suivi (l'information est par défaut non renseignée pour les patients qui n'ont pas été revus en consultation depuis plus d'un an)
- L'entrée en institution (l'information est par défaut non renseignée pour les patients qui n'ont pas été revus en consultation depuis plus d'un an)

C. Examens paracliniques étudiés :

- Le prélèvement sanguin pour le géotypage de l'ApoE était réalisé le jour de l'inclusion avec le kit PyroMark ApoE (Biotage, Uppsala, Sweden), puis envoyé au laboratoire de Génétique Médicale et Fonctionnelle du Cancer et des Maladies Neuropsychiatriques INSERM U614 (Docteur Dominique Champion, responsable de l'équipe Génétique et Démence), où l'amplification par PCR de la séquence d'intérêt contenant les polymorphismes permettait de caractériser les 3 allèles $\epsilon 2$, $\epsilon 3$, $\epsilon 4$ du gène ApoE. Nous avons défini dans un second temps un groupe de patients ayant au moins 1 allèle $\epsilon 4$ du gène ApoE (ApoE4).

- Les biomarqueurs du liquide céphalo-spinal (LCS) : Après avoir recueilli le LCS dans un tube de polypropylène, l'échantillon était ensuite centrifugé et analysé au laboratoire du Dr Schraen. Le taux d'A β 1-42, Tau total, Phospho-Tau ont été analysés par le kit ELISA fourni Innostest® (Innogenetics, Ghent, Belgique)
- L'IRM cérébrale était réalisée sur une machine 3T ou 1.5T (Philips, Best, The Netherlands). Une fois réalisée, les clichés étaient stockés dans le logiciel de lecture en réseau. Si ce n'était pas le cas, les dossiers originaux en papier des patients étaient systématiquement consultés, afin de retrouver des anciens clichés enregistrés sur un support CD. Pour cette partie de travail, nous avons utilisé les premiers et derniers clichés réalisés au cours de l'étude.
- Les séquences suivantes ont été relues de manière indépendante et en aveugle de toute histoire clinique par un neuroradiologue senior entraîné (C.D.) :

1. Acquisition tridimensionnelle pondérée en T1.

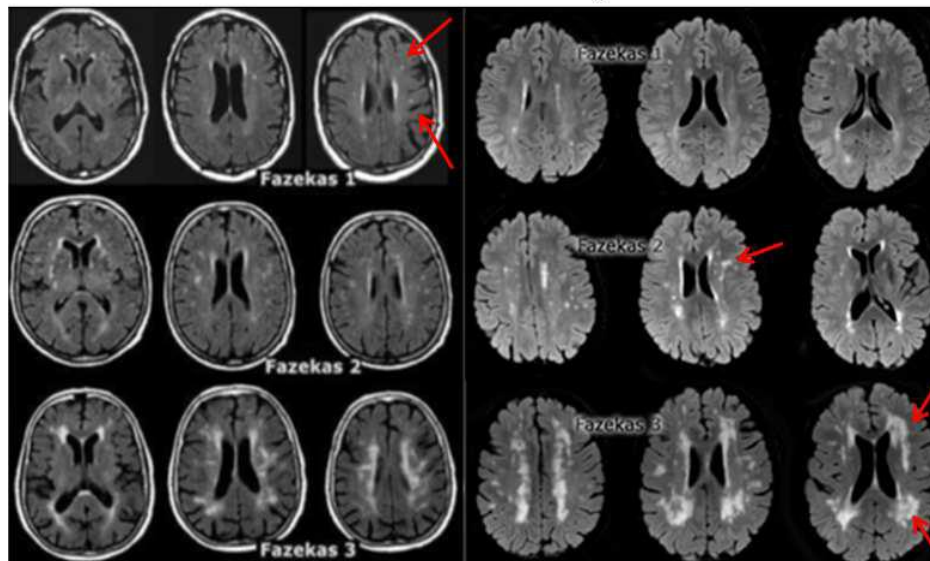
2. Séquence FLAIR sur l'ensemble de l'encéphale dans le plan bi-calleux (positionnée sur la séquence n°2, une des coupes de l'acquisition doit être tangentielle au splénum et au genou du corps calleux) en coupes positionnées du bas vers le haut (caudal vers crânial) coupes de 5 mm gap de 0,5 mm, Matrice 256x192, FOV 240x240.

3. Séquence T2 écho de gradient ou SWI de même positionnement que les coupes FLAIR coupes de 5 mm gap de 0,5 mm, Matrice 256x256, FOV 240x240.

- L'échelle semi-quantitative de Fazekas (Fazekas et al., 1993) (Figure 12) évaluant sur la séquence FLAIR les lésions de la substance blanche périventriculaire (SB-PV) et sous corticale profonde (SB-SC), classée en 4 stades : 0= absente, 1=punctiformes, 2= discrètement confluentes, et 3= confluentes. Pour notre étude, les lésions discrètes de SB sont définies par un score de Fazekas entre 0 et 1, les lésions sévères de SB sont définies par un score de Fazekas entre 2 et 3.

LESIONS DE SB PROFONDE

0 : absent
 1 : points focaux
 2 : confluence débutante
 3 : large confluence



LESIONS PERIVENTRICULAIRES

0 : absent
 1 : trait fin
 2 : auréole lisse
 3 : irrégulières, extensives

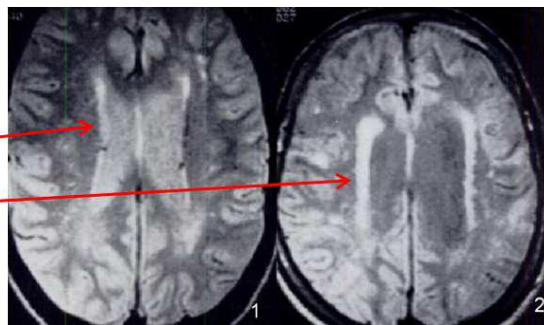


Figure 12: Echelle semi-quantitative de Fazekas

- Le nombre et la topographie des microhémorragies apparaissant en hyposignal arrondi en Echo de gradient de moins de 10 mm selon l'échelle BOMBS (Cordonnier et al., 2009).
- Les éventuelles autres lésions vasculaires telles qu'une hémorragie intraparenchymateuse lobaire ou profonde (>10mm), une hémorragie leptoméningée, ou encore des lacunes, apparaissant en hyposignal T1. Ne disposant pas d'échelles validées, ces lésions vasculaires étaient surtout décrites en fonction de leur topographie (frontale, pariétale, occipitale ou temporale) et de leur latéralité (gauche, droite ou bilatérale).
- La séquence en T1 3D a également été utilisée pour estimer le volume hippocampique. Une segmentation automatisée basée sur une technique de fusion multi-atlas a été réalisée à l'aide du logiciel VolBrain® (Manjón et Coupé, 2016), lequel permet de calculer, entre autres, le volume intracranien total et le volume hippocampique (Figure 13). La segmentation, ainsi que le recueil des données ont été réalisés de manière indépendante et en

aveugle par un neuroradiologue senior entraîné (G.K. et J.D.) : Les volumes hippocampiques droit et gauche ont été rapportés en pourcentage du volume intracrânien total.

- Le délai de réalisation de l'IRM par rapport au début des premiers signes, ainsi que le délai de réalisation entre la première et la dernière IRM lorsque celle-ci était disponible.
- L'aggravation de lésions de SB est définie par une évolution de lésions discrètes aux lésions sévères de la première à la dernière IRM.
- L'augmentation de MHs est définie par une augmentation du nombre de MHs recensées à la dernière IRM par rapport à la première.

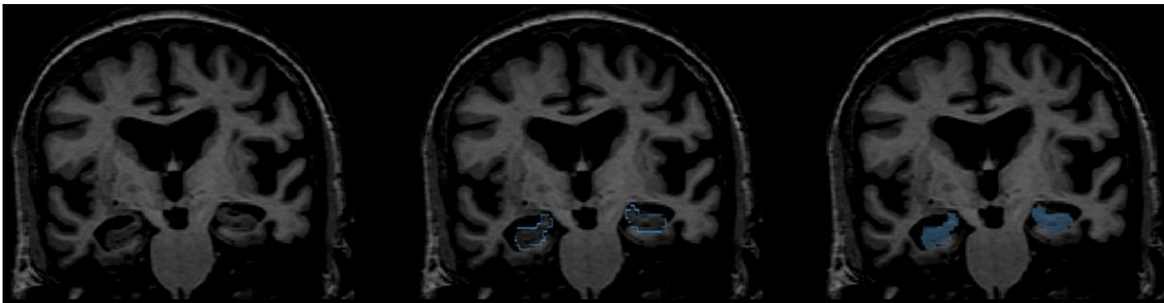


Figure 13: Exemple de segmentation automatisée à l'aide du logiciel VolBrain® pour calculer le volume hippocampique

D. Analyses statistiques

Les paramètres qualitatifs ont été décrits par la fréquence et le pourcentage. Les paramètres quantitatifs ont été exprimés en termes de médiane et d'interquartiles.

Les patients présentant au moins une microhémorragie et ceux n'en présentant aucune ont été comparés sur des variables qualitatives par un test du Chi-deux ou de Fisher Exact (en cas d'effectif théorique < 5). Les variables quantitatives ont été comparées par un test t de Student ou U de Mann-Whitney (en cas d'écart à la normalité).

Un modèle linéaire mixte à coefficients aléatoires (intercept et pente) a été construit afin d'étudier l'évolution du MMSE entre les 2 groupes. Les facteurs inclus dans le modèle étaient le groupe, le temps, et l'interaction entre le groupe et le temps.

Une analyse de sensibilité a été réalisée en ajoutant l'âge, le sexe et le niveau d'étude comme covariables dans le modèle.

La même démarche a été effectuée pour comparer les patients selon la prise de statines et le sexe.

Le niveau de significativité a été fixé à 5%. Les analyses statistiques ont été effectuées à l'aide du logiciel SAS (SAS Institute version 9.4).

RESULTATS

Partie expérimentale

A. Rappel des résultats sur la mise au point du modèle chez les souris mâles (Bergeron et Chen, 2017)

Afin d'étudier l'impact des MH sur le plan cognitif, il a fallu au préalable réaliser une mise au point du modèle. Ce travail a été débuté à l'occasion de mon master 2 puis poursuivi par Sandrine Bergeron et moi-même au cours de notre première année de thèse respective. Parmi les différents modèles (exposées dans la section B.4. de l'introduction), nous avons choisi la méthode de chirurgie stéréotaxique avec injection de collagénase. Cependant, aucune donnée n'existait dans la littérature quant à la concentration nécessaire chez la souris pour reproduire une petite lésion hémorragique similaire aux MH observées chez l'homme. Un effet dose-réponse de l'injection de la collagénase a été étudié 24 heures après la chirurgie. Il a été mis en évidence et confirmé par le volume de la lésion, le ratio de la vitesse de relaxation de la zone lésée/ zone saine (Figure 14) et l'étude histomorphométrique (Figure 15).

La dose de collagénase (0,8 $\mu\text{UI}/\mu\text{L}$) fournissait le meilleur compromis entre taille de la lésion et détection à l'IRM à 24h en T2* conduisant à un volume lésionnel d'environ 0,03 mm³ (50 à 100 μm de diamètre), correspondant à une charge hémorragique de 0,006% par rapport au volume du cerveau murin. Ce volume de MH est également à mettre en parallèle avec le volume observé dans les modèles transgéniques murins mimant une angiopathie amyloïde par induction de MH spontanées, lesquelles ont un volume similaire (Beckmann et al., 2016). Enfin, le volume des MH chez les patients représenteraient environ 0,005 % du volume total du cerveau humain (Cordonnier et al., 2007).

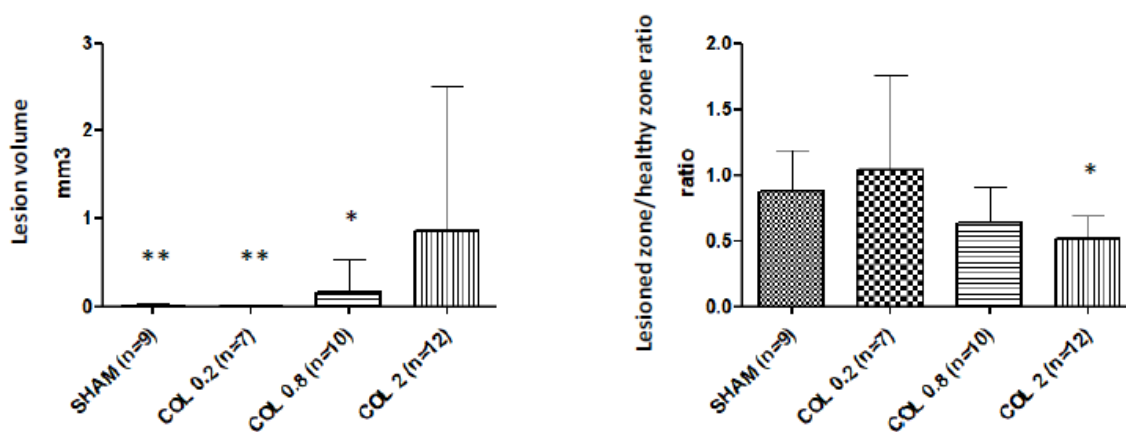


Figure 14: Comparaison de la taille lésionnelle ainsi que du ratio de la vitesse de relaxation zone lésée/zone saine sur la séquence T2* en IRM cérébrale en fonction de la concentration de la collagénase

A gauche : la taille de la lésion visible en mm³. A droite : le ratio de la vitesse de relaxation zone lésée/zone saine. Plus le ratio est bas, plus la teneur en hémosidérine est élevée. SHAM : groupe avec injection de sérum physiologique ; COL 0.2 : groupe avec injection de collagénase à 0,2 $\mu\text{UI}/\mu\text{L}$; COL 0.8 : groupe avec injection de collagénase à 0,8 $\mu\text{UI}/\mu\text{L}$; COL 2 : groupe avec injection de collagénase à 2 $\mu\text{UI}/\mu\text{L}$ * : $p < 0,05$; ** : $p < 0,01$

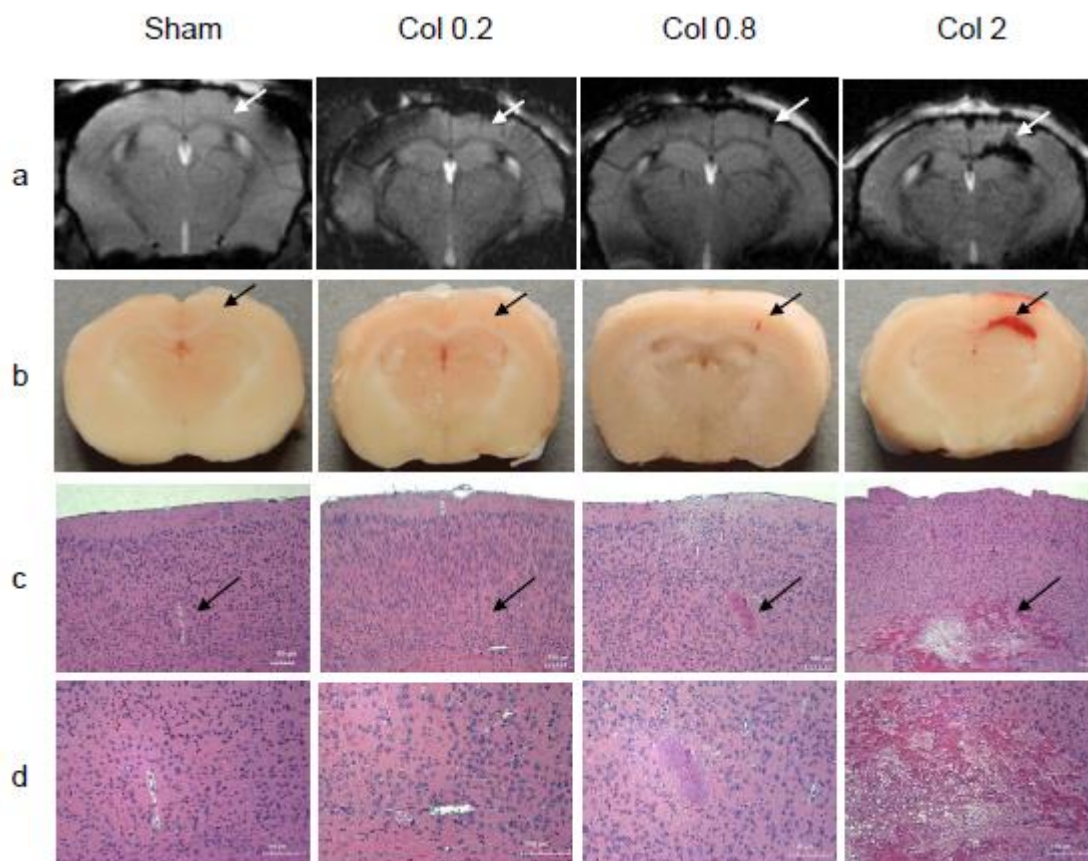


Figure 15: Différents aspects de la lésion induite en fonction de la concentration

La flèche indique la lésion. Ligne a : coupe coronale en IRM T2* ; ligne b : coupe coronale du tissu à l'état frais ; ligne c et d : coloration histologique à l'hématoxyline/éosine à un grossissement de 5x et puis 10x respectivement

Sur le plan comportemental et métabolique, à l'issue de six semaines de suivi, alors que l'activité locomotrice spontanée n'était pas modifiée, les animaux avec la MH montraient un niveau d'anxiété moins important, une altération significative de la mémoire de référence spatiale ainsi qu'une altération significative de la mémoire visuo-spatiale par rapport au groupe témoin.

Ces données sont également concordantes avec l'hypométabolisme observé en TEP à six semaines, au niveau du cortex et du striatum homo et controlatéral, et également au niveau du gyrus denté homolatéral à la lésion, qu'on ne retrouve pas dans le groupe témoin.

B. Suivi des animaux

Deux cent quatre-vingt-dix-neuf souris ont été opérées et incluses dans notre étude de souris femelles après validation par IRM du type de lésion. 61 souris sont mortes au cours du suivi. La mortalité à chaque étape du protocole est détaillée dans le Tableau 7.

1. Mortalité après la chirurgie

La chirurgie stéréotaxique sous anesthésie par Isoflurane a été très bien tolérée par l'ensemble des rongeurs. Il n'y a pas eu de mortalité en post-opératoire immédiat.

Dans le mois suivant l'opération, aucune souris n'était morte parmi les souris WT. En revanche, plusieurs souris transgéniques étaient mortes dans les trois groupes (SHAM, MHC, MHC+AT).

2. Mortalité durant le suivi

Plusieurs décès ont également été constatés durant le suivi, en particulier au cours de l'expérimentation en Touchscreen® chez les souris transgéniques.

Les décès ont été plus fréquents chez les souris transgéniques tout au long du protocole.

Quelques souris sont mortes vers la fin du suivi parmi les souris WT, probablement en raison d'un dysfonctionnement de l'armoire ventilée, au cours d'une même journée.

	Souris WT	Souris APP
Après la chirurgie	0	Une semaine après la chirurgie : - 2 souris du groupe SHAM - 1 souris du groupe MHC+AT Deux à trois semaines après la chirurgie : - 3 souris du groupe SHAM - 1 souris du groupe MHC - 4 souris du groupe MHC+AT
Durant le suivi pour l'évaluation à 1,5 mois		- 1 souris du groupe MHC+AT après la TEP
Au cours du Touchscreen®	- 1 souris du groupe SHAM	- 5 souris du groupe SHAM - 10 souris du groupe MHC - 10 souris du groupe MHC+AT
Durant le suivi pour l'évaluation à 6 mois		- 1 souris du groupe SHAM - 6 souris du groupe MHC+AT

		- 5 souris du groupe MHC
Durant le suivi pour l'évaluation à 12 mois	- 2 souris du groupe SHAM, dont une après les imageries - 5 souris du groupe MHC après les imageries, liées aux problèmes de stabulation - 2 souris du groupe MHC+AT après les imageries - 1 souris du groupe MHC juste avant le sacrifice prévu	- 2 souris du groupe SHAM, dont une après les imageries - 2 souris du groupe MHC, dont une après les imageries - 1 souris du groupe MHC+AT

Tableau 7: Les décès au cours du protocole expérimental
WT : souris wild-type. APP : souris transgéniques de la lignée J20.

C. Impact à court terme de la lésion microhémorragique et de la modulation pharmacologique

1. Impact neurocomportemental

a. Activité locomotrice spontanée

Six semaines après la chirurgie, la distance totale parcourue par les souris n'était pas différente significativement parmi les groupes WT SHAM, WT MHC, et WT MHC+AT, et parmi les groupes APP SHAM, APP MHC, et APP MHC+AT (Figure 16A).

La distance totale parcourue n'était pas non plus différence en fonction de la mutation d'APP.

Il n'y avait de différence non plus pour le nombre total de redressements, quel que soit le groupe, et quel que soit le génotype (Figure 16B).

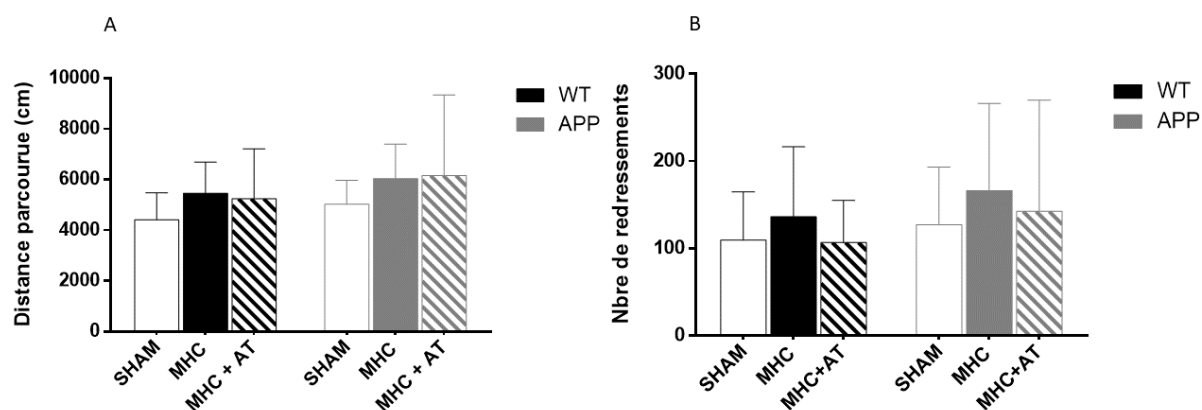


Figure 16: La distance totale parcourue (A) et le nombre total de redressements (B) évalués par l'actimétrie, six semaines après la chirurgie.

WT SHAM : n=10 ; WT MHC : n=10 ; WT MHC+AT : n=12; APP SHAM : n=9; APP MHC: n=10; APP MHC+AT: n=15

b. Anxiété

Quatre souris (deux chez les souris WT et deux chez les souris transgéniques) sont tombées du labyrinthe pendant le test et ont par conséquent été exclues de l'analyse.

Le pourcentage du temps passé dans les bras ouverts du labyrinthe en croix surélevé n'était pas différent parmi les groupes WT SHAM, WT MHC, et WT MHC+AT.

Chez les souris transgéniques, ce pourcentage tendait à être plus élevé dans le groupe APP MHC que le groupe APP SHAM (31,5 +/- 13,8% vs 17,2 +/- 13,2 %, p=0,08) (Figure 17), suggérant un effet de la MHC sur la diminution du niveau d'anxiété chez les souris transgéniques.

La modulation par atorvastatine ne modifiait pas le profil d'anxiété chez les souris WT. En revanche, chez les souris transgéniques, le groupe APP MHC+AT passait moins de temps dans les bras ouverts que le groupe APP MHC (16,3 +/- 11,2% vs 31,5 +/- 13,8%, p=0,02) (Figure 17).

Par ailleurs, le pourcentage de temps passé dans les bras ouverts n'était pas différent en fonction de la mutation d'APP.

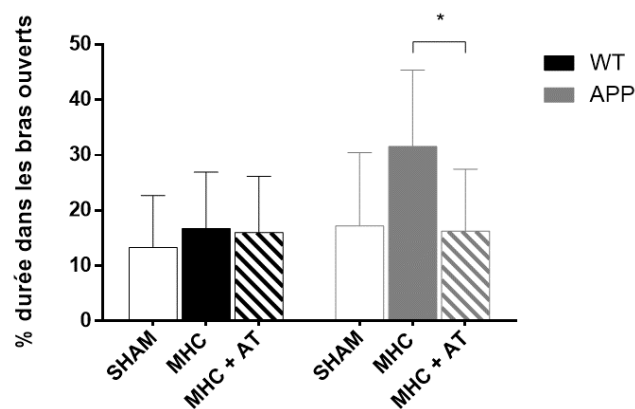


Figure 17: Le pourcentage de temps passé dans les bras ouverts du labyrinthe en croix surélevé par rapport au temps passé dans les bras ouverts et fermés, six semaines après la chirurgie.

WT SHAM : n=9 ; WT MHC : n=10 ; WT MHC+AT : n=11; APP SHAM : n=8; APP MHC: n=9; APP MHC+AT: n=15.*: p<0,05

c. Mémoire de travail

Six semaines après la chirurgie, la mémoire de travail était significativement différente entre les trois groupes WT (p=0,01). Elle était plus altérée dans le groupe WT MHC que le

groupe WT SHAM (52,2 +/- 7,5% vs 61,5 +/- 7,2%, p=0,09). Il n'y avait à l'inverse pas d'effet sur la mémoire de travail chez les souris transgéniques (Figure 18).

Cette altération de la mémoire de travail chez les souris WT était corrigée par l'administration de l'atorvastatine, avec un pourcentage d'alternance plus élevé dans le groupe WT MHC+AT que dans le groupe WT MHC (63,5 +/- 11,1% vs 52,2 +/- 7,5%, p=0,01) (Figure 18). Il n'y avait pas d'effet observé de l'atorvastatine dans le groupe APP.

Les souris transgéniques avaient une mémoire de travail apparemment comparable aux WT sur ce test.

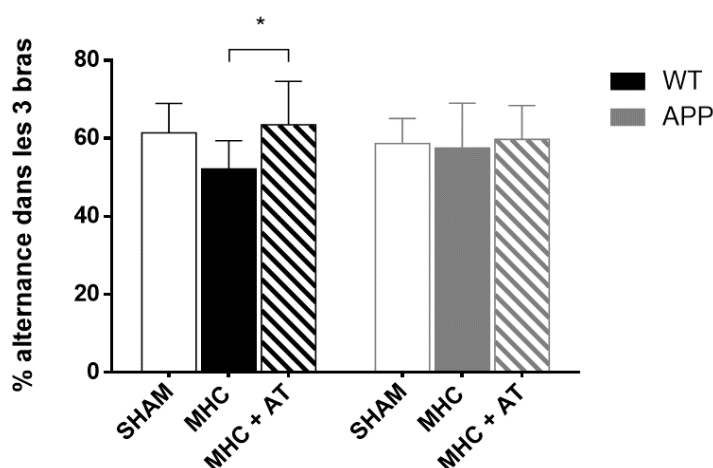


Figure 18: Le pourcentage d'alternance dans les trois bras du labyrinthe en Y, 1,5 mois après la chirurgie
 WT SHAM : n=10 ; WT MHC : n=10 ; WT MHC+AT : n=12; APP SHAM : n=9; APP MHC: n=10; APP MHC+AT: n=15. *: p<0,05

d. Mémoire de reconnaissance

Six semaines après la chirurgie, il ne semblait pas avoir d'impact de la MHC ni de la modulation pharmacologique chez les souris WT.

La mémoire de reconnaissance apparaissait altérée par la présence d'une MHC chez les souris transgéniques, mais cette différence n'était pas statistiquement significative, en raison probablement d'une variabilité trop importante des données. En effet, l'indice de discernement pour le nouvel objet était plus bas dans le groupe APP MHC que dans le groupe APP SHAM (18,3 +/- 10,0% vs 26,7 +/- 20,5%, NS). Les effets de l'atorvastatine sur cette altération restaient modérés (23,4 +/- 11,3% VS 18,3 +/- 10,0%, NS) (Figure 19).

Par ailleurs, les souris transgéniques APP SHAM ne présentaient pas de profil de mémoire de reconnaissance plus altéré que les souris WT SHAM.

Une souris du groupe WT SHAM et une autre du groupe WT MHC n'ont pas atteint le critère d'exploration minimale pendant le test, et ont ainsi été exclues de l'analyse.

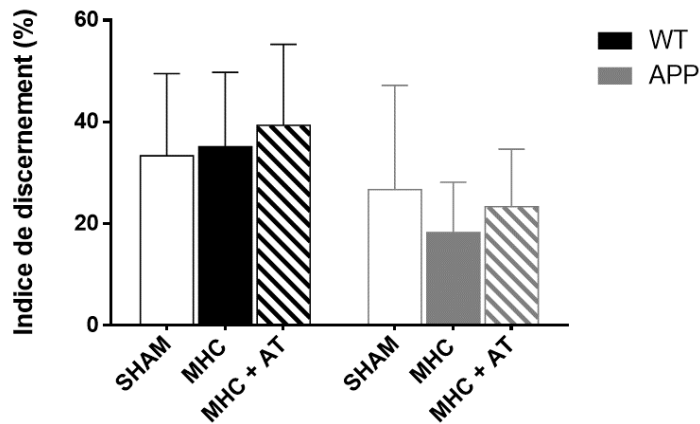


Figure 19: L'indice de discernement en pourcentage dans le test de reconnaissance d'objet, six semaines après la chirurgie

WT SHAM : n=9 ; WT MHC : n=9 ; WT MHC+AT : n=10; APP SHAM : n=9; APP MHC: n=10; APP MHC+AT: n=10

e. Mémoire visuo-spatiale

Comme expliqué dans la partie de la méthodologie, l'animal doit réaliser 36 essais pendant une session de 60 minutes maximum, à raison d'une session quotidienne pendant 30 jours. Ayant débuté l'habituation un mois après la chirurgie, l'évaluation s'est déroulée entre deux mois et trois mois après la chirurgie, soit à 4,5 mois de vie).

Les résultats sont représentés par des blocs de sessions de 3 jours (la moyenne +/- SEM des scores obtenus sur 3 jours consécutifs). Ils sont présentés selon trois paramètres : nombre total d'essais, nombre de corrections et nombre d'essais corrects.

Il n'y a pas eu de décès parmi les souris WT. Parmi les souris transgéniques, une souris du groupe APP SHAM, deux du groupe APP MHC, ainsi que deux du groupe APP MHC+AT sont mortes au cours des 30 jours du test. Leurs résultats ont été pris en compte dans l'analyse.

Au dernier bloc de trois sessions du test, l'ensemble des souris WT ont atteint les 36 essais lors d'une session de 60 min, ce qui n'était pas le cas chez les souris transgéniques, en particulier pour les souris du groupe APP SHAM (26,6 +/- 3,2 essais) et APP MHC (28, 5 +/- 3,2 essais). Les souris du groupe APP MHC+AT ont atteint 33,1 +/- 2,4 essais au dernier bloc des 30 jours, les différences n'étaient pas statistiquement significatives. (Figure 20)

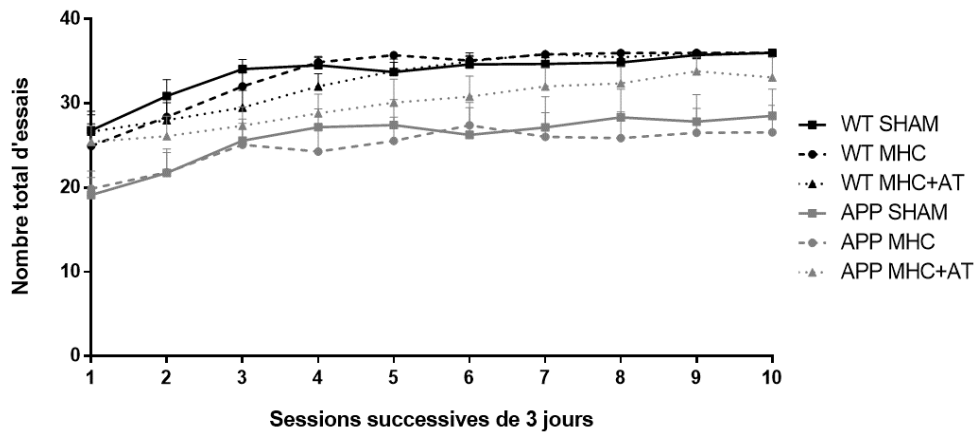


Figure 20: L'évolution du nombre total d'essais réalisés durant les 30 jours du test dPAL (object-location paired-associate learning task) au Touch screen®
 Les résultats sont représentés par des blocs de trois jours. WT SHAM : n=12 ; WT MHC : n=11 ; WT MHC+AT : n=12; APP SHAM : n=13; APP MHC: n=13; APP MHC+AT: n=11

Toutes les souris apprenaient à corriger leurs erreurs au fur et à mesure du test, comme le démontre la diminution du nombre total de corrections au cours du temps pour l'ensemble des six groupes ($p < 0,0001$) (Figure 21).

La MHC semblait avoir un impact positif sur la capacité de correction chez les souris WT et les souris APP. En effet, au dernier bloc de trois sessions du test, le nombre total d'essais de correction était plus bas dans le groupe WT MHC que dans le groupe WT SHAM ($15,3 \pm 2,4$ essais vs $20,0 \pm 2,6$ essais, NS). Le nombre total d'essais de correction était plus bas au sein du groupe APP MHC que dans le groupe APP SHAM ($22,6 \pm 3,6$ essais vs $25,5 \pm 3,8$ essais, NS). La modulation pharmacologique ne semblait pas modifier l'effet de la MHC chez les souris (Figure 21).

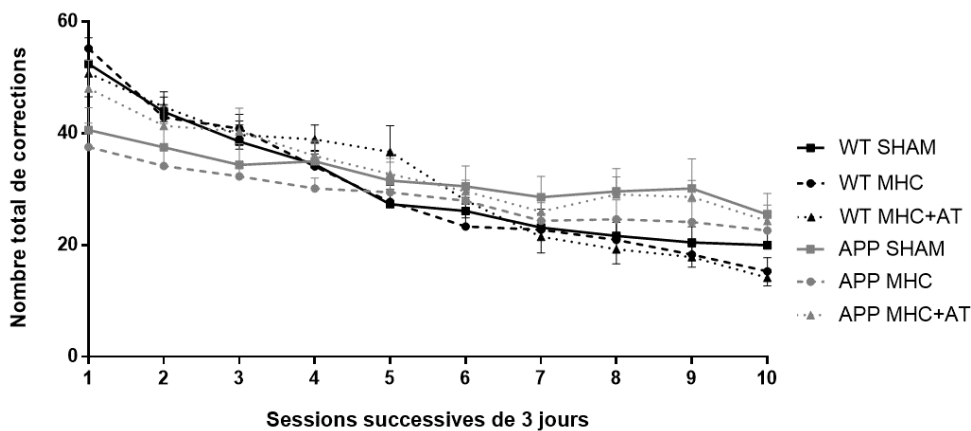


Figure 21: L'évolution du nombre total d'essais de correction réalisés durant les 30 jours du test dPAL (object-location paired-associate learning task) au Touch screen®

Les résultats sont représentés par des blocs de trois jours. WT SHAM : n=12 ; WT MHC : n=11 ; WT MHC+AT : n=12; APP SHAM : n=13; APP MHC: n=13; APP MHC+AT: n=11

Toutes les souris WT apprenaient à localiser les 3 images au cours du temps, puisque le pourcentage d'essais corrects progressait au cours du temps de la même façon pour tous les groupes ($p < 0,0001$) (Figure 22).

Il semblait avoir un impact de la MHC sur la mémoire visuo-spatiale, les souris du groupe WT MHC présentant en moyenne une mémoire visuo-spatiale améliorée par rapport aux souris du groupe WT SHAM. Au dernier bloc des 3 jours, le pourcentage de réponses correctes plus élevé dans le groupe WT MHC que dans le groupe WT SHAM (74,9 +/- 2,5% vs 70,2 +/- 1,9%, NS).

L'administration d'atorvastatine ne semblait pas intervenir sur le pourcentage de réponses correctes.

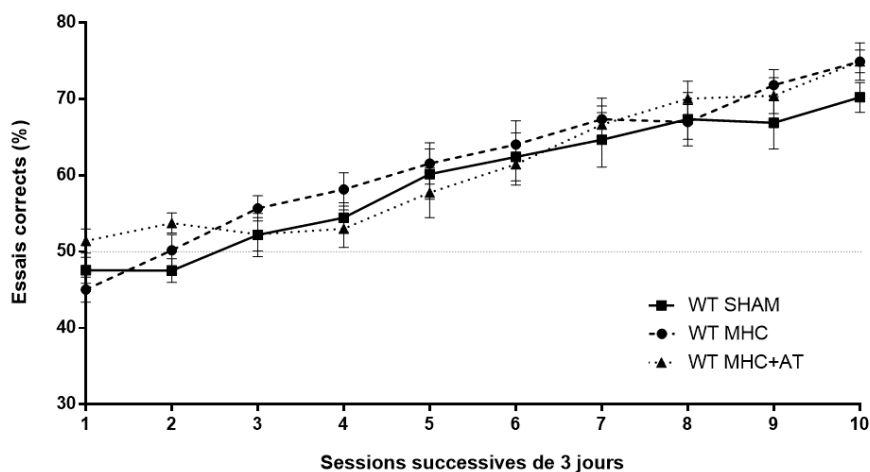


Figure 22: L'évolution du pourcentage d'essais corrects au cours des 30 jours du test dPAL (object-location paired-associate learning task) au Touchscreen®, chez les souris WT. Les résultats sont représentés par des blocs de trois jours. WT SHAM : n=12 ; WT MHC : n=11 ; WT MHC+AT : n=12

Tout comme les souris WT, les souris transgéniques apprenaient à localiser les 3 images au cours du temps, puisque le pourcentage d'essais corrects progressait au cours du temps pour tous les groupes ($p < 0,0001$) (Figure 23)

Il semblait avoir un impact de la MHC sur la mémoire visuo-spatiale, les souris du groupe APP MHC présentant en moyenne une mémoire visuo-spatiale un peu améliorée par rapport aux souris du groupe APP SHAM. Le pourcentage de réponses correctes du dernier bloc de trois sessions était plus bas dans le groupe APP MHC que dans le groupe APP SHAM (55,3 +/- 3,6% vs 58,5 +/- 3,1%, NS).

L'administration d'atorvastatine tendait à restaurer la mémoire visuo-spatiale. Le pourcentage de réponses correctes était supérieure dans le groupe APP MHC+AT que dans le groupe APP MHC (63,3 +/- 3,0% vs 55,3 +/- 3,6%, NS).

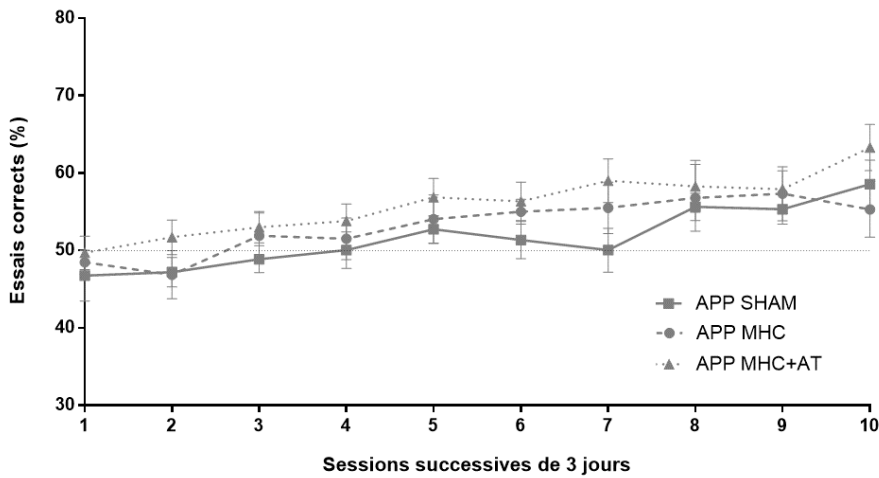


Figure 23: L'évolution du pourcentage d'essais corrects au cours des 30 jours du test dPAL (object-location paired-associate learning task) au Touchscreen®, chez les souris APP. Les résultats sont représentés par des blocs de trois jours. APP SHAM : n=13; APP MHC: n=13; APP MHC+AT: n=11

Par ailleurs, les souris transgéniques APP SHAM ont montré un profil de mémoire visuo-spatiale altérée dans le temps et par rapport aux souris WT SHAM, reflétée par le nombre total d'essais de correction ($p < 0,0001$) ainsi que le pourcentage d'essais corrects ($p = 0,002$) (Figure 24).

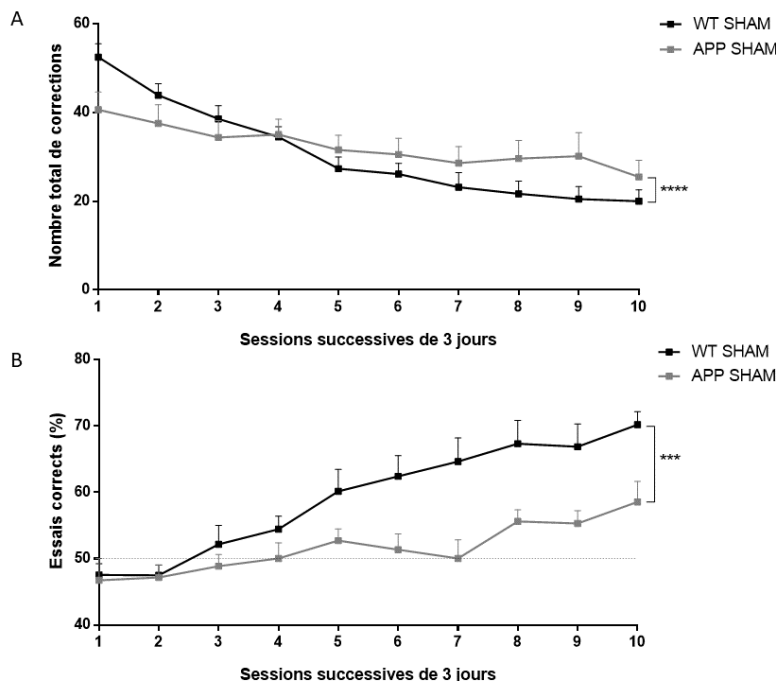


Figure 24: L'évolution du nombre total d'essais de correction (A), et du pourcentage d'essais corrects (B) au cours des 30 jours du test dPAL (object-location paired-associate learning task) au Touchscreen®, chez les souris WT et APP.

Les résultats sont représentés par des blocs de trois jours. WT SHAM : n=12 ; APP SHAM : n=13; ***: p<0,001; ****: p<0,0001

2. Impact sur la volumétrie et le métabolisme cérébraux

a. Résultats au niveau cortical

Six semaines après la chirurgie, il n'a pas été constaté de différence significative en terme de volume cortical en fonction de la présence ou non d'une MHC, et de l'administration ou non d'atorvastatine, chez les souris WT et transgéniques (Figure 25). En revanche, le volume cortical du côté homolatéral à la chirurgie était significativement supérieur à celui du côté controlatéral quel que soit le groupe et quel que soit le génotype, suggérant un effet de la chirurgie.

Le volume du cortex gauche était plus réduit chez les souris APP SHAM que les souris WT SHAM, suggérant un effet de la mutation d'APP (71,5 +/- 2,9 mm³ vs 75,3 +/- 3,0 mm³, p=0,01).

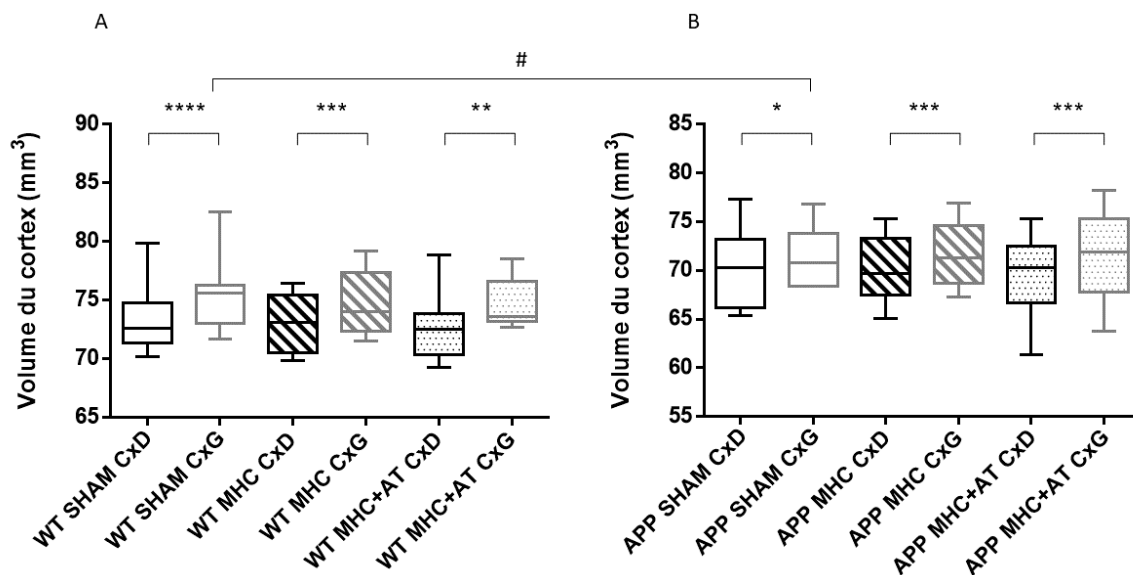


Figure 25: L'évolution du volume cortical six semaines après la chirurgie.

A : le volume cortical en mm³ chez les souris WT. B : le volume cortical en mm³ chez les souris transgéniques. CxD : cortex droit ; CxG : cortex gauche. WT SHAM : n=10 ; WT MHC : n=10 ; WT MHC+AT : n=10; APP SHAM : n=9; APP MHC: n=10; APP MHC+AT: n=9. Pour les comparaisons concernant l'effet de la chirurgie : *: p<0,05; **: p<0,01; ***: p<0,001; ****: p<0,0001. Pour les comparaisons concernant l'effet du transgène : #: p<0,05.

En termes de métabolisme, il n'a pas non plus été constaté de différence significative en fonction de la présence ou non d'une MHC, et de l'administration ou non d'atorvastatine, chez les souris WT et transgéniques (Figure 26).

Le métabolisme du cortex gauche et droit était en revanche plus important chez les souris APP SHAM que les souris WT SHAM (A droite : 1,05 +/- 0,03 vs 1,02 +/- 0,02, p=0,02 ; A gauche : 1,05 +/- 0,03 vs 1,02 +/- 0,02 p=0,004).

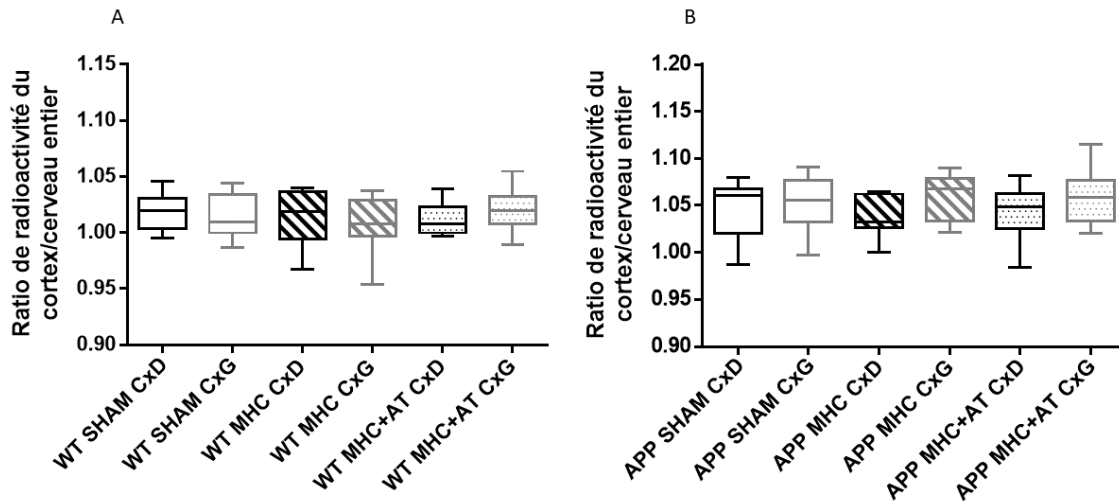


Figure 26: L'évolution du métabolisme cortical, six semaines après la chirurgie.

A : le ratio de radioactivité absorbée au niveau cortical par rapport au cerveau entier chez les souris WT. B : chez les souris transgéniques. CxD : cortex droit ; CxG : cortex gauche. WT SHAM : n=10 ; WT MHC : n=10 ; WT MHC+AT : n=10 ; APP SHAM : n=9 ; APP MHC : n=10 ; APP MHC+AT : n=10

b. Résultats au niveau hippocampique

Six semaines après la chirurgie, il n'a pas été constaté de différence significative en termes de volume hippocampique en fonction de la présence ou non d'une MHC, et de l'administration ou non d'atorvastatine, chez les souris WT et transgéniques (Figure 27).

En revanche, le volume hippocampique du côté homolatéral à la chirurgie était significativement supérieur à celui du côté controlatéral quel que soit le groupe et quel que soit le génotype, suggérant un effet de la chirurgie.

Le volume de l'hippocampe gauche dans le groupe APP SHAM était inférieur à celui du groupe WT SHAM (14,7 +/-0,5 vs 15,3 +/-0,6, p=0,04).

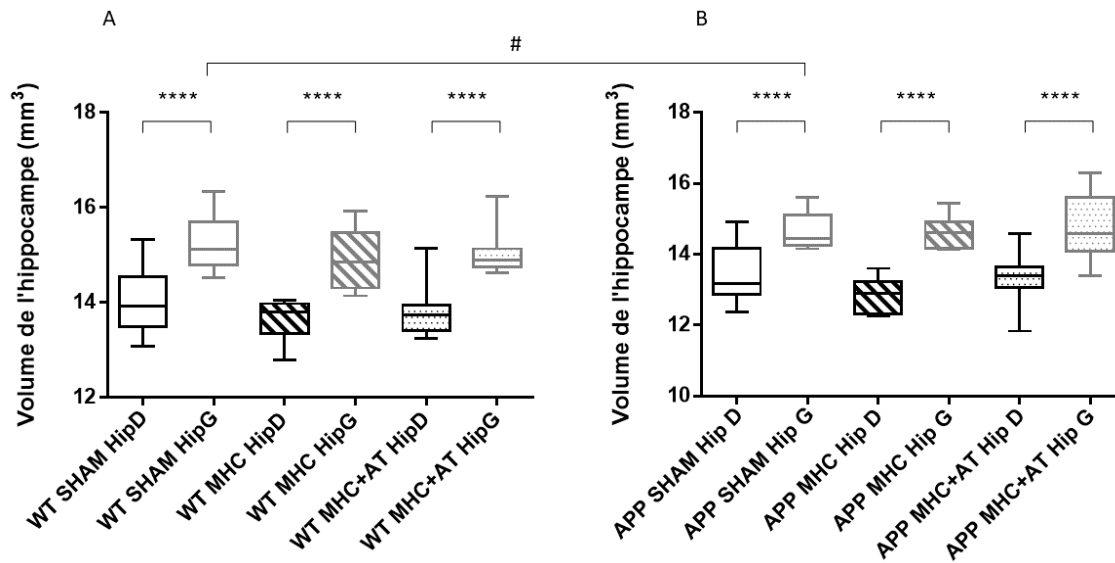


Figure 27: L'évolution du volume hippocampique un mois et demi après la chirurgie
 A : le volume hippocampique en mm³ chez les souris WT. B : le volume cortical en mm³ chez les souris transgéniques. CxD : cortex droit ; CxG : cortex gauche. WT SHAM : n=10 ; WT MHC : n=10 ; WT MHC+AT : n=10; APP SHAM : n=9; APP MHC: n=10; APP MHC+AT: n=9. Pour les comparaisons concernant l'effet de la chirurgie : ****: p<0,0001. Pour les comparaisons concernant l'effet du transgène : #: p<0,05.

Le métabolisme ne semblait pas être modulé par la présence d'une MHC. En effet, le ratio de radioactivité restait similaire entre la zone lésée et la zone saine (Figure 28).

L'administration de l'atorvastatine ne modifiait pas le profil du métabolisme hippocampique chez les souris WT et transgéniques (Figure 28).

Par ailleurs, le métabolisme hippocampique était réduit chez les souris transgéniques par rapport aux souris WT (A droite : 0,87 +/- 0,03 vs 0,93 +/- 0,03, p= 0,0004 ; A gauche : 0,91 +/- 0,04 vs 0,97 +/- 0,03, p=0,004).

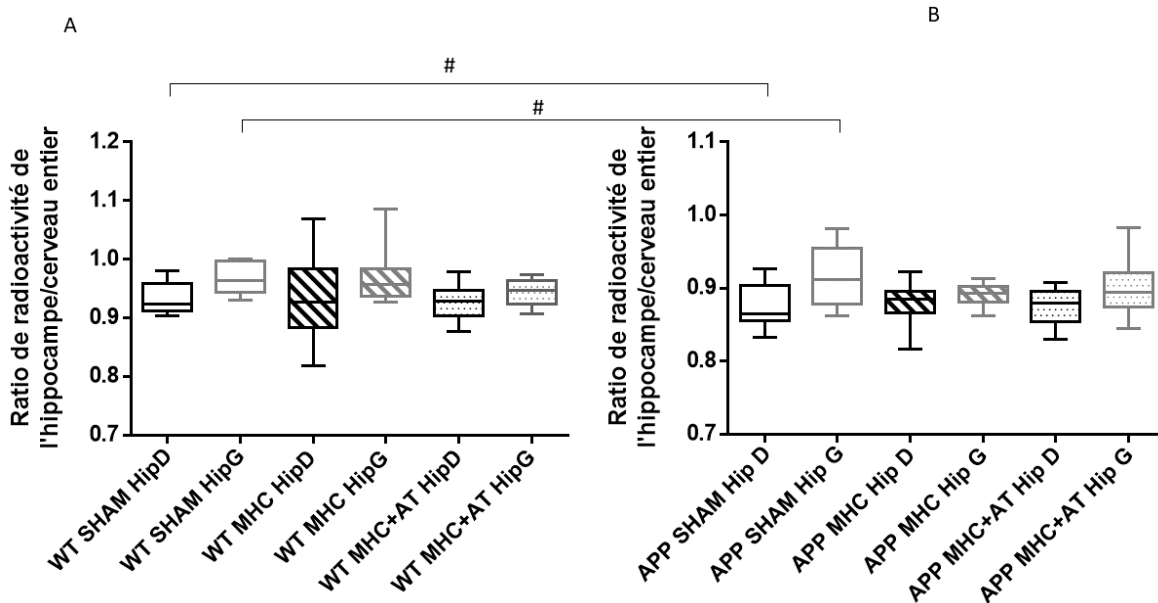


Figure 28: L'évolution du métabolisme hippocampique, un mois et demi après la chirurgie. A : le ratio de radioactivité absorbée au niveau cortical par rapport au cerveau entier chez les souris WT. B : chez les souris transgéniques. CxD : cortex droit ; CxG : cortex gauche. WT SHAM : n=10 ; WT MHC : n=10 ; WT MHC+AT : n=10; APP SHAM : n=10; APP MHC: n=9; APP MHC+AT: n=10. Pour les comparaisons concernant l'effet du transgène: #: p<0,05.

3. Impact sur l'expression génique du récepteur aux oestrogènes α (Esr α) et β (Esr β) au niveau cérébral

L'analyse de l'expression génique des Esr α et Esr β a été réalisée sur cinq cerveaux dans chacun des groupes WT SHAM, WT MHC et WT MHC+AT, et sur quatre cerveaux dans chacun des groupes APP SHAM, APP MHC et APP MHC+AT.

Comme précisé dans la section de la méthodologie, nous avons choisi comme zones d'intérêt, le cortex ipsilatéral (gauche) et contralatéral (droit) vis-à-vis de la zone d'injection et hippocampes gauche et droit.

a. L'expression génique des Esr α au niveau cortical

Le pourcentage d'expression relative d'ARNm des Esr α apparaissait plus élevé et significatif au plan moléculaire (> 200%) dans le cortex ipsilatéral à l'injection dans le groupe WT MHC (242,8 +/- 19,4%). La MHC ne semblait pas exercer d'effet sur l'expression génique des Esr α chez les souris transgéniques (Figure 29).

La modulation pharmacologique par atorvastatine semblait limiter l'expression génique des Esr α chez les souris WT (78,0 +/- 6,0%), et également chez les souris transgéniques (83,2 +/- 6,1%).

Par ailleurs, l'expression génique des *Esr α* était plus marquée chez les souris du groupe APP SHAM et APP MHC par rapport aux souris du groupe WT SHAM et WT MHC.

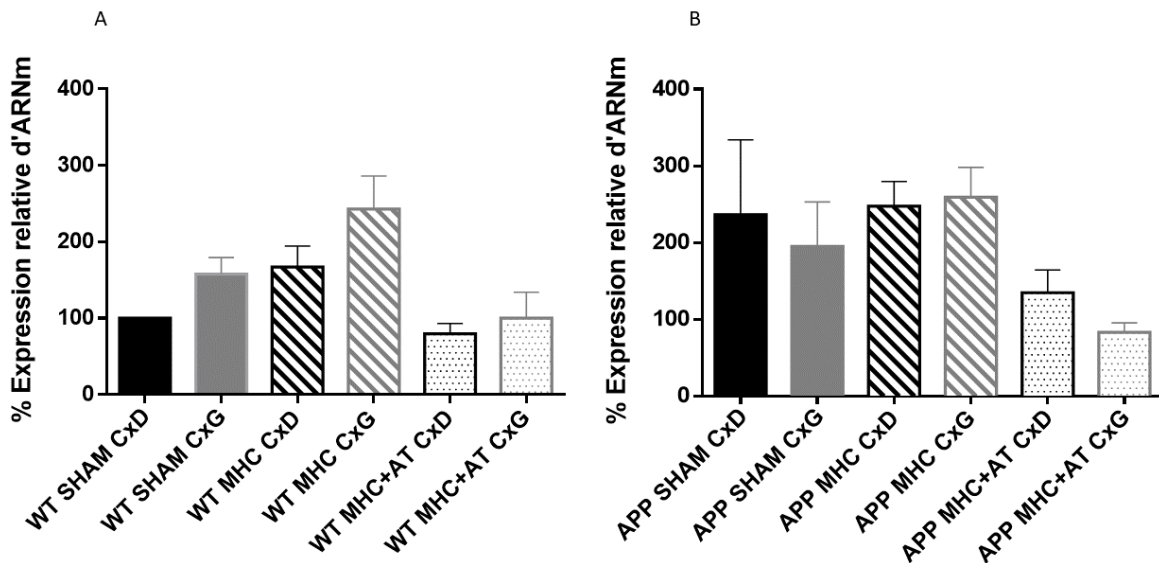


Figure 29: Le pourcentage de l'expression relative de l'ARNm des *Esr α* au niveau cortical, six semaines après la chirurgie chez les souris WT (A), et chez les souris transgéniques (B). La zone de référence était le cortex droit du groupe WT SHAM. CxD : cortex droit ; CxG : cortex gauche. WT SHAM : n=5 ; WT MHC : n=5 ; WT MHC+AT : n=5 ; APP SHAM : n=4 ; APP MHC : n=4 ; APP MHC+AT : n=4

b. L'expression génique des *Esr β* au niveau cortical

Le pourcentage d'expression relative d'ARNm des *Esr β* n'était pas significativement différent en présence d'une MHC ou d'atorvastatine sur le plan de la significativité moléculaire (<200%) (Figure 30).

L'expression génique des *Esr β* était similaire chez les souris transgéniques et WT.

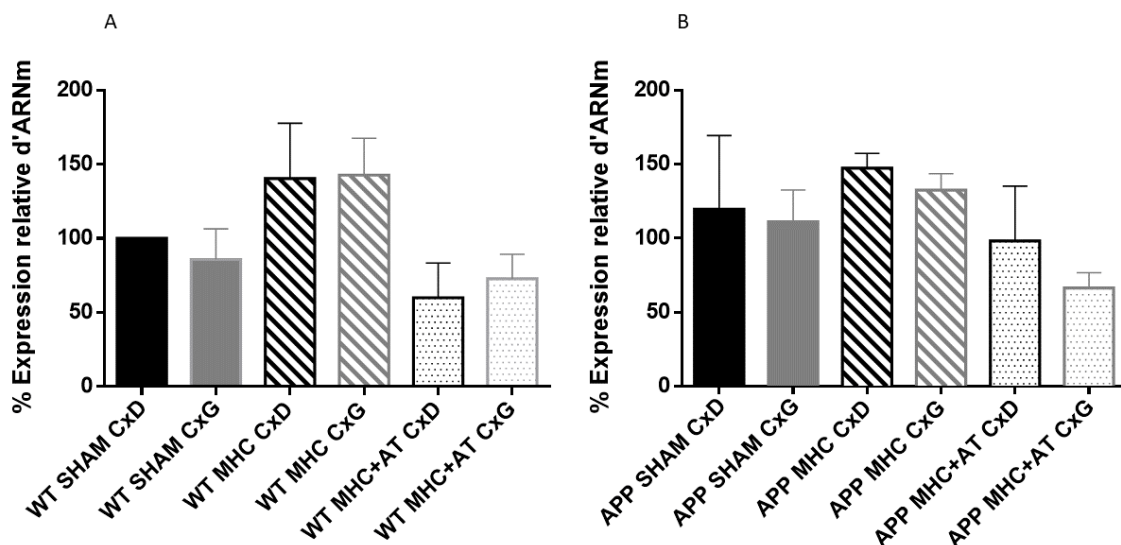


Figure 30: Le pourcentage de l'expression relative de l'ARNm des *Esr β* au niveau cortical, six semaines après la chirurgie chez les souris WT (A), et chez les souris transgéniques (B). La zone de référence était le cortex droit du groupe WT SHAM. CxD : cortex droit ; CxG : cortex gauche. WT SHAM : n=5 ; WT MHC : n=5 ; WT MHC+AT : n=5 ; APP SHAM : n=4 ; APP MHC : n=4 ; APP MHC+AT : n=4

c. L'expression génique des *Esr α* au niveau hippocampique

Le pourcentage d'expression relative d'ARNm des *Esr α* au niveau hippocampique ne semblait pas être modifié par la MHC, l'atorvastatine, ou la mutation d'APP, en se basant sur le seuil de la significativité moléculaire (<200%) (Figure 31).

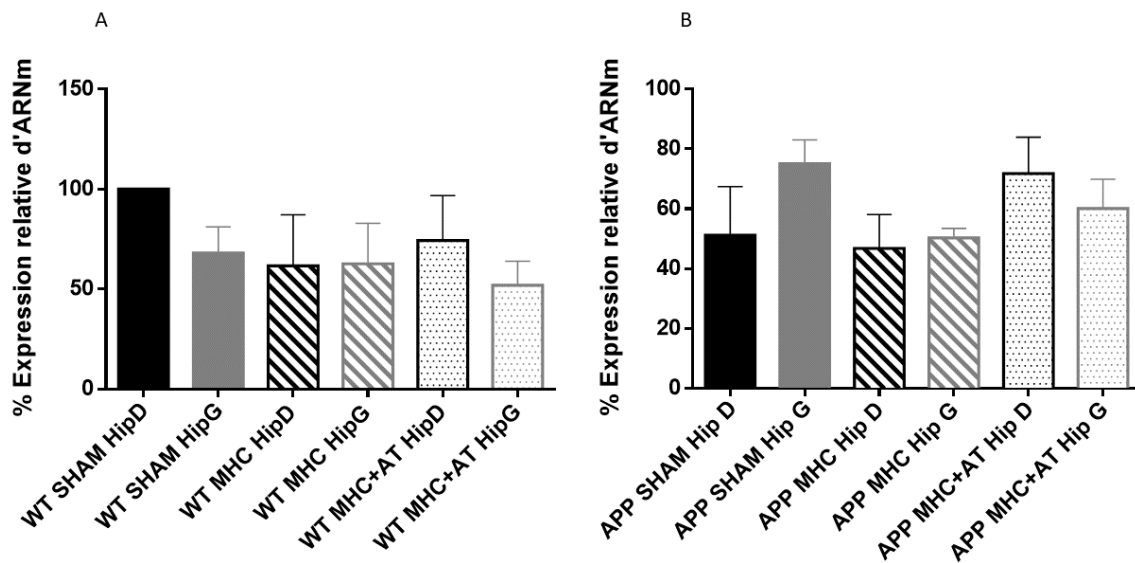


Figure 31: Le pourcentage de l'expression relative de l'ARNm des *Esr α* au niveau hippocampique, six se-maines après la chirurgie chez les souris WT (A), et chez les souris transgéniques (B). La zone de référence était l'hippocampe droit du groupe WT SHAM. HipD : hippocampe droit ; HipG : hippocampe gauche. WT SHAM : n=5 ; WT MHC : n=5 ; WT MHC+AT : n=5 ; APP SHAM : n=4 ; APP MHC : n=4 ; APP MHC+AT : n=4

d. L'expression génique des *Esr β* au niveau hippocampique

Le pourcentage d'expression relative d'ARNm des *Esr β* semblait être plus élevé dans le cortex ipsilatéral à l'injection dans le groupe WT MHC (254 +/- 59,0%), et également dans le cortex controlatéral à l'injection dans ce même groupe (220,7 +/- 66,8%). La MHC ne semblait pas exercer d'effet sur l'expression génique des *Esr β* chez les souris transgéniques (Figure 32).

La modulation pharmacologique par atorvastatine semblait limiter l'expression génique des *Esr β* chez les souris WT (51,9 +/- 5,4%). Chez les souris transgéniques, l'atorvastatine semblait stimuler l'expression génique au niveau de l'hippocampe droit (466,3 +/- 120,3%).

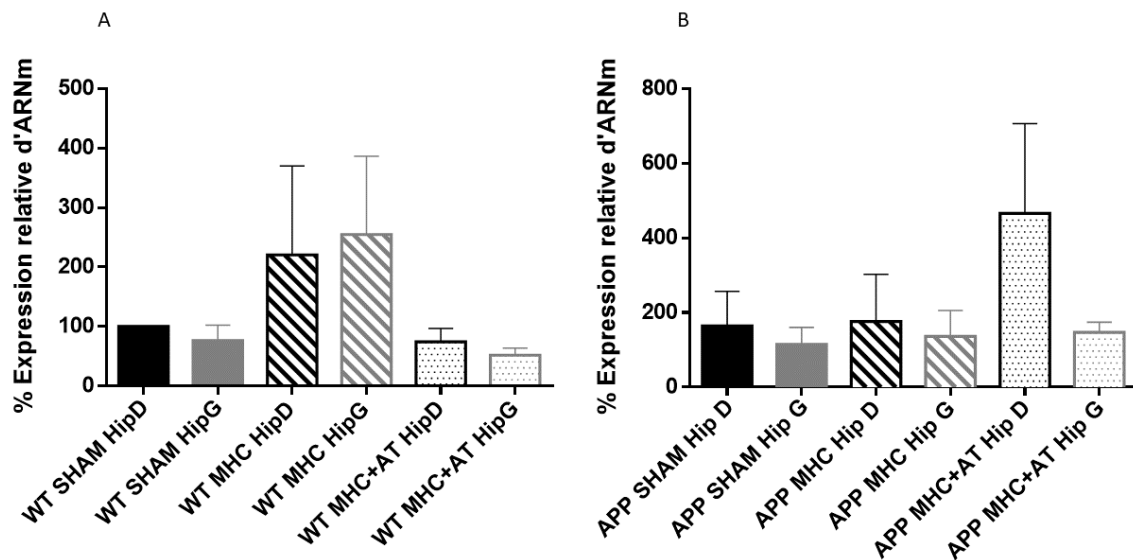


Figure 32: Le pourcentage de l'expression relative de l'ARNm des Esr β au niveau hippocampique, six se-maines après la chirurgie chez les souris WT (A), et chez les souris transgéniques (B). La zone de référence était l'hippocampe droit du groupe WT SHAM. HipD : hippocampe droit ; HipG : hippocampe gauche. WT SHAM : n=5 ; WT MHC : n=5 ; WT MHC+AT : n=5 ; APP SHAM : n=4 ; APP MHC: n=4; APP MHC+AT: n=4

D. Impact à moyen terme de la lésion microhémorragique et de la modulation pharmacologique

1. Impact neurocomportemental

a. Activité locomotrice spontanée

Six mois après la chirurgie, il n'y avait pas de différence significative entre les groupes MHC et les groupes SHAM, quel que soit le génotype. Il n'y avait pas non plus d'influence significative de l'administration d'atorvastatine (Figure 33A).

Les mêmes tendances ont été observées pour le nombre total de redressements (Figure 33B).

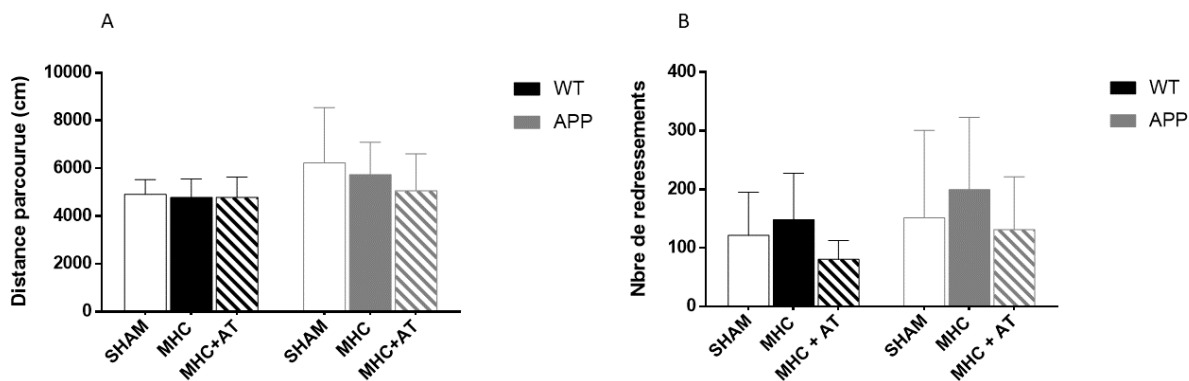


Figure 33: La distance totale parcourue (A) et le nombre total de redressements (B) évalués par l'actimétrie, six mois après la chirurgie.

WT SHAM : n=11 ; WT MHC : n=10 ; WT MHC+AT : n=13; APP SHAM : n=8; APP MHC: n=9; APP MHC+AT: n=14

b. Anxiété

Six mois après la chirurgie, la MHC ne semblait pas exercer d'effet sur l'anxiété, quelques soient les groupes comparés. (Figure 34).

L'administration d'atorvastatine ne semblait pas non plus diminuer le temps passé dans les bras ouverts pour les souris WT et les souris transgéniques.

Par ailleurs, les souris du groupe APP SHAM n'ont pas montré un niveau d'anxiété différent de celui du groupe WT SHAM.

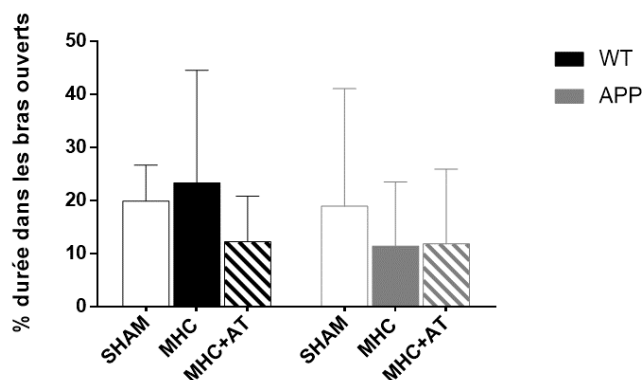


Figure 34: Le pourcentage de temps passé dans les bras ouverts du labyrinthe en croix surélevé par rapport au temps passé dans les bras ouverts et fermés, six mois après la chirurgie

WT SHAM : n=11; WT MHC : n=10 ; WT MHC+AT : n=13; APP SHAM : n=8; APP MHC: n=9; APP MHC+AT: n=14

c. Mémoire de travail

Six mois après la chirurgie, la MHC ne semblait pas avoir d'impact sur la mémoire de travail que ce soit chez les souris WT ou chez les souris transgéniques (Figure 35). La modulation pharmacologique par atorvastatine ne semblait pas modifier la mémoire de travail.

La mutation d'APP ne semblait pas avoir un impact différent par rapport aux groupes SHAM.

Une souris du groupe APP MHC+AT n'a pas rempli le critère minimum de 8 bras visités au total, et n'a donc pas été incluse dans l'analyse.

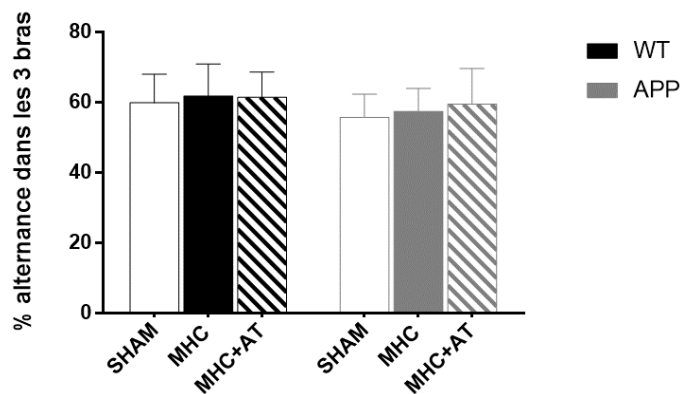


Figure 35: Le pourcentage d'alternance dans les trois bras du labyrinthe en Y, six mois après la chirurgie.

WT SHAM : n=11 ; WT MHC : n=10 ; WT MHC+AT : n=13; APP SHAM : n=8; APP MHC: n=9; APP MHC+AT: n=13

d. Mémoire de reconnaissance

Six mois après la chirurgie, la MHC semblait avoir un impact sur la mémoire de reconnaissance, quel que soit le génotype. Chez les souris WT, la mémoire de reconnaissance était diminuée par la MHC, l'indice de discernement étant plus bas dans le groupe WT MHC que dans le groupe WT SHAM (15,4 +/- 18,0% vs 26,4 +/- 13,0%, NS). Chez les souris transgéniques, on observait un impact positif sur la mémoire de reconnaissance, l'indice de discernement étant plus élevé dans le groupe APP MHC que dans le groupe APP SHAM (17,2 +/- 13,5% vs 3,4 +/- 15%, p=0,053) (Figure 36).

L'administration d'atorvastatine semblait corriger l'altération de la mémoire de reconnaissance occasionnée par la MHC chez les WT, l'indice de discernement étant supérieur dans le groupe WT MHC+AT que dans le groupe WT MHC (26,2 +/- 14,0% vs 15,4 +/- 18,0%, NS). Cette correction était plus modérée chez les souris transgéniques, l'indice de discernement pour le nouvel objet étant légèrement plus élevé dans le groupe APP MHC+AT que le groupe APP MHC (18,3 +/- 3,1% vs 26,7 +/- 6,8%, NS) (Figure 36).

Par ailleurs, les souris du groupe APP SHAM présentaient un niveau de mémoire de reconnaissance bien plus altéré que les souris WT SHAM (3,4 +/- 15,0% VS 26,4 +/- 13,0%, p=0,003).

Une souris du groupe WT MHC et une du groupe APP MHC n'ont pas atteint le critère d'exploration minimale pendant le test, et ont ainsi été exclues de l'analyse.

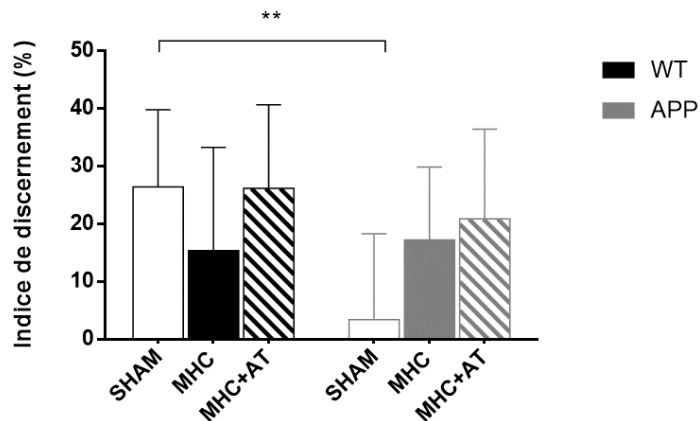


Figure 36: L'indice de discernement en pourcentage dans le test de reconnaissance d'objet, 6 mois après la chirurgie
 WT SHAM : n=11 ; WT MHC : n=9 ; WT MHC+AT : n=11; APP SHAM : n=8; APP MHC: n=8; APP MHC+AT: n=9; **: p<0,001

2. Impact sur la volumétrie et le métabolisme cérébraux

a. Résultats au niveau cortical

Il n'a pas été constaté de différence significative du volume cortical en fonction de la présence ou non d'une MHC, et de l'administration ou non d'atorvastatine, chez les souris WT et transgéniques (Figure 37).

En revanche, le volume cortical du côté homolatéral à la chirurgie était significativement supérieur à celui du côté controlatéral dans tous les groupes, sauf le groupe WT MHC+AT, au sein duquel le volume du côté lésé était plus bas que le côté controlatéral.

Le volume cortical était plus petit chez les souris transgéniques que les souris WT, à droite et à gauche (A droite : 68,8 +/- 1,6 vs 72,6 +/- 2,3 mm³, p=0,001 ; A gauche : 70,5 +/- 2,0 vs 73,9 +/- 1,5 mm³, p=0,0007).

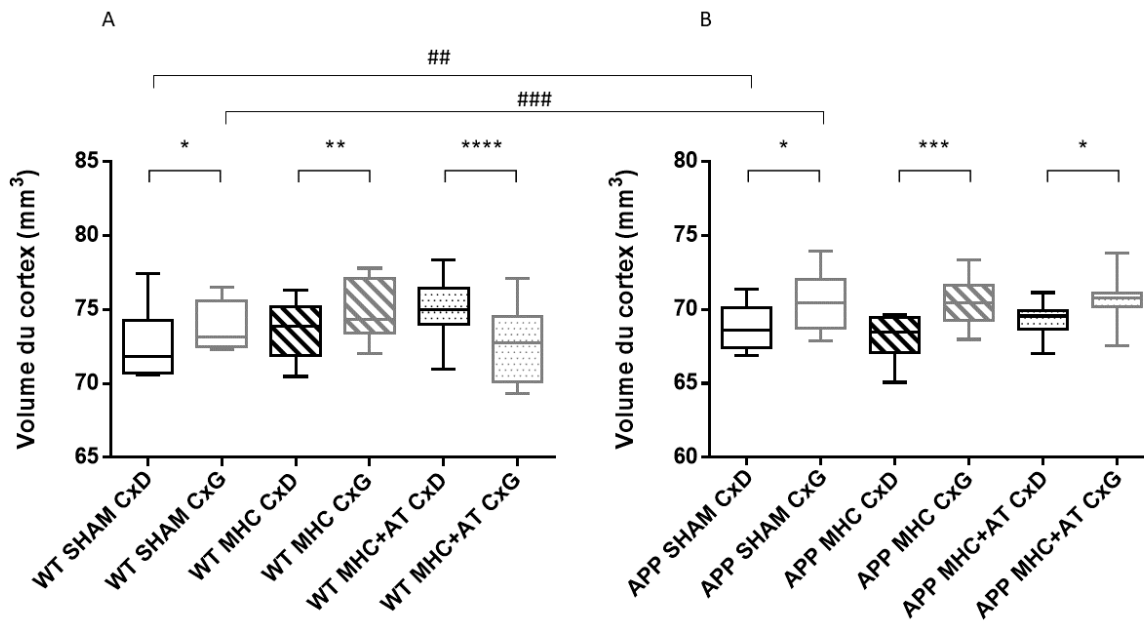


Figure 37: L'évolution du volume cortical six mois après la chirurgie

A : le volume cortical en mm³ chez les souris WT. B : le volume cortical en mm³ chez les souris transgéniques. CxD : cortex droit ; CxG : cortex gauche. WT SHAM : n=11 ; WT MHC : n=10 ; WT MHC+AT : n=11; APP SHAM : n=8; APP MHC : n=9; APP MHC+AT : n=9. Pour les comparaisons concernant l'effet de la chirurgie : * : p<0,05 ; ** : p<0,01 ; *** : p<0,001; **** : p<0,0001. Pour les comparaisons concernant l'effet du transgène : ## : p<0,01 ; ### : p>0,001.

En termes de métabolisme, il n'a pas non plus été constaté de différence significative en fonction de la présence ou non d'une MHC, et de l'administration ou non d'atorvastatine, et quel que soit le génotype des souris (Figure 38).

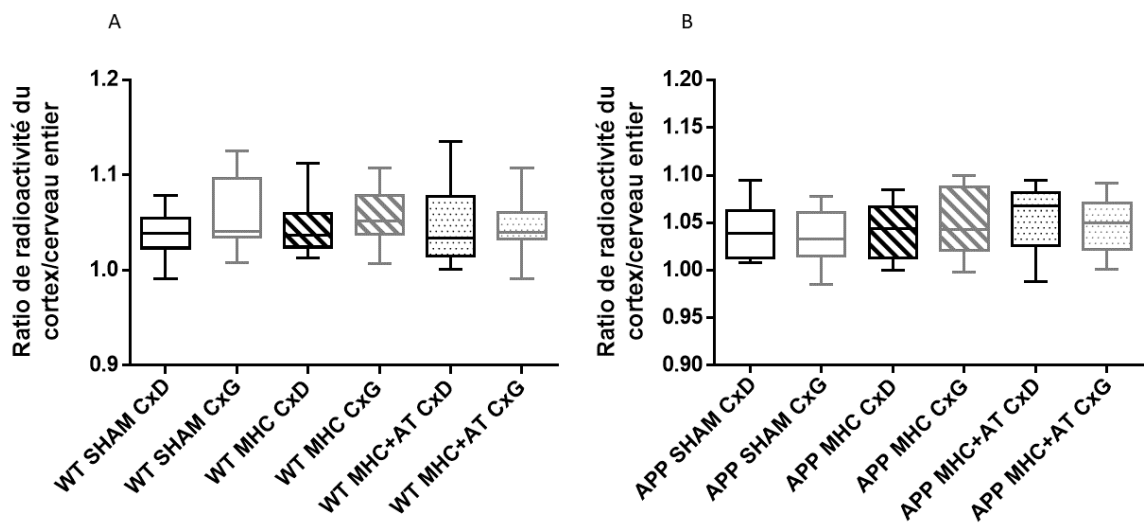


Figure 38: L'évolution du métabolisme cortical, six mois après la chirurgie

A : le ratio de radioactivité absorbée au niveau cortical par rapport au cerveau entier chez les souris WT. B : chez les souris transgéniques. CxD : cortex droit ; CxG : cortex gauche. WT

SHAM : n=11 ; WT MHC : n=10 ; WT MHC+AT : n=11; APP SHAM : n=8; APP MHC: n=8; APP MHC+AT: n=9

b. Résultats au niveau hippocampique

Six mois après la chirurgie, il n'a pas été constaté de différence significative en termes de volume hippocampique en fonction de la présence ou non d'une MHC quel que soit le génotype. (Figure 39).

En revanche, le volume hippocampique du côté homolatéral à la chirurgie était significativement supérieur à celui du côté controlatéral dans tous les groupes, sauf le groupe WT MHC+AT, au sein duquel le volume du côté lésé était plus bas que le côté controlatéral.

L'administration de l'atorvastatine semblait réduire le volume de l'hippocampe gauche du groupe WT MHC+AT par rapport à celui du groupe WT MHC ($14,2 \pm 0,3 \text{ mm}^3$ vs $15,2 \pm 0,5 \text{ mm}^3$ $p=0,0001$) (Figure 39). Il n'a pas été observé d'impact d'atorvastatine chez les souris transgéniques.

Les volumes hippocampiques des souris transgéniques étaient légèrement inférieurs que ceux des souris WT, (A droite : $13,5 \pm 0,5$ vs $14,1 \pm 0,7$, $p=0,05$; A gauche : $14,4 \pm 0,7$ vs $14,9 \pm 0,5$, $p=0,06$).

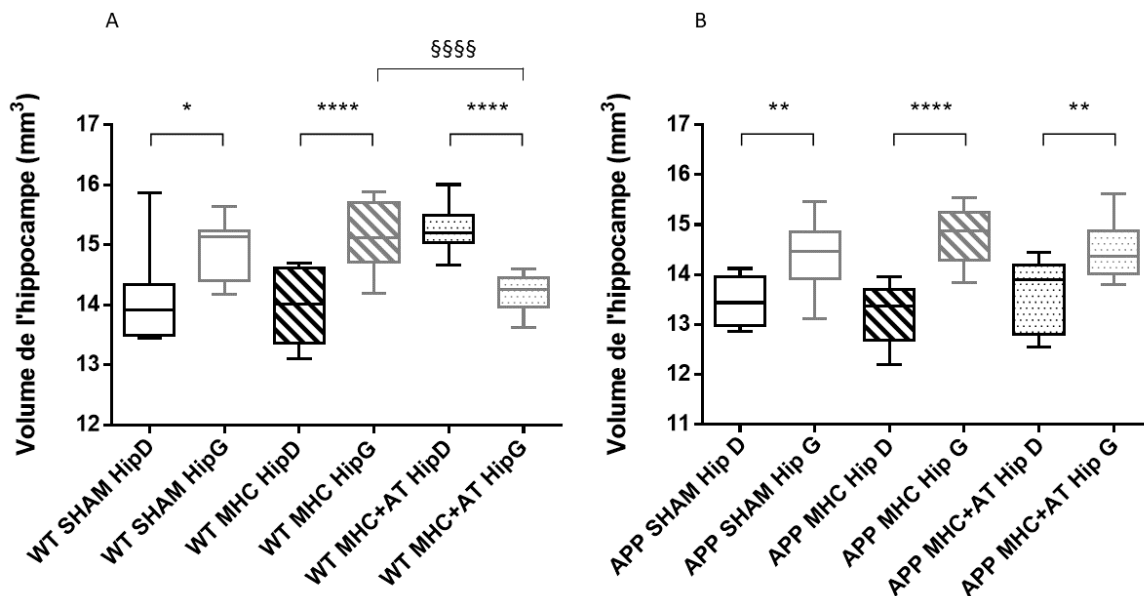


Figure 39: L'évolution du volume hippocampique six mois après la chirurgie

A : le volume hippocampique en mm^3 chez les souris WT. B : le volume cortical en mm^3 chez les souris transgéniques. CxD : cortex droit ; CxG : cortex gauche. WT SHAM : n=11 ; WT MHC : n=10 ; WT MHC+AT : n=11; APP SHAM : n=8; APP MHC: n=9; APP MHC+AT: n=9. Pour les comparaisons concernant l'effet du groupe : §§§§: $p<0,0001$. Pour les comparaisons concernant l'effet de la chirurgie : *: $p<0,05$; **: $p<0,01$; ****: $p<0,0001$.

Il n'y avait pas de différence de métabolisme selon la présence d'une MHC, d'une administration d'atorvastatine quel que soit le génotype (Figure 40).

Alors le volume tendait à être plus réduit, le métabolisme hippocampique était légèrement plus élevé chez les souris transgéniques par rapport aux souris WT, à droite et à gauche (A droite : 0,89 +/- 0,05 vs 0,84 +/- 0,03, p=0,01 ; A gauche : 0,91 +/- 0,04 vs 0,86 +/- 0,05, p=0,04)

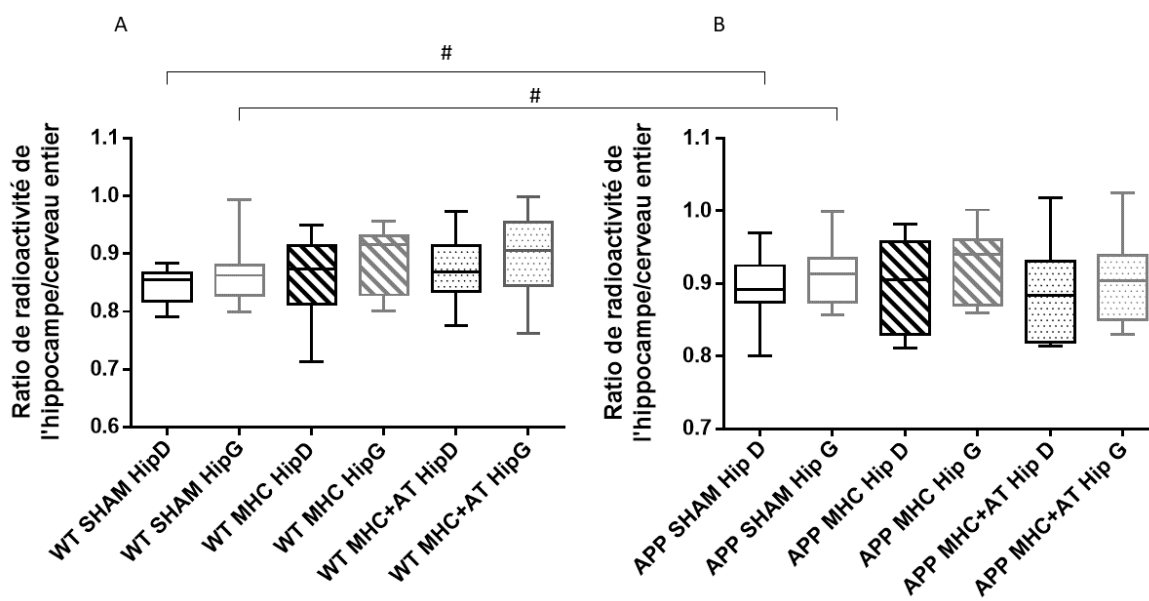


Figure 40: L'évolution du métabolisme hippocampique, 6 mois après la chirurgie

A : le ratio de radioactivité absorbée au niveau cortical par rapport au cerveau entier chez les souris WT. B : chez les souris transgéniques. CxD : cortex droit ; CxG : cortex gauche. WT SHAM : n=11 ; WT MHC : n=10 ; WT MHC+AT : n=11 ; APP SHAM : n=8 ; APP MHC : n=8 ; APP MHC+AT : n=9. Pour les comparaisons concernant l'effet du transgene : # : p<0,05.

E. Impact à long terme de la lésion microhémorragique et de la modulation pharmacologique

1. Impact neurocomportemental

a. Activité locomotrice spontanée

Douze mois après la chirurgie, il n'y avait pas de différence significative entre les groupes MHC et les groupes SHAM, quel que soit le génotype. L'administration de l'atorvastatine ne semblait pas non plus intervenir de manière significative (Figure 41A).

La distance parcourue par les souris transgéniques et par les souris WT était comparable.

Les mêmes tendances ont été observées pour le nombre total de redressements (Figure 41B), en ce qui concerne l'impact d'une MHC et de l'atorvastatine. Les souris transgéniques

avaient un nombre total de redressement plus limité que celui des groupes WT ($53,4 \pm 46,7$ vs $107,2 \pm 63,4$, $p=0,02$).

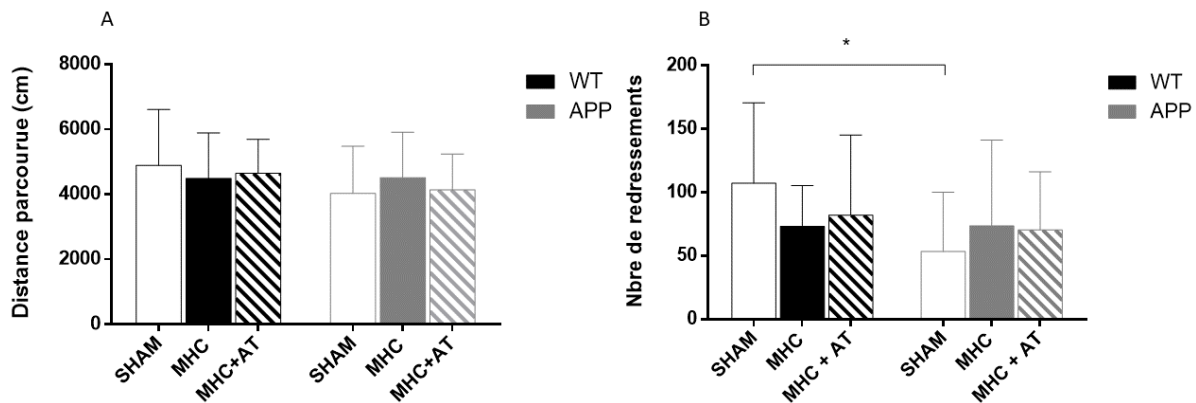


Figure 41: La distance totale parcourue (A) et le nombre total de redressements (B) évalués par l'actimétrie, 12 mois après la chirurgie

WT SHAM : n=14 ; WT MHC : n=13 ; WT MHC+AT : n=9; APP SHAM : n=12; APP MHC: n=8; APP MHC+AT: n=9, *: $p<0,05$

b. Anxiété

Douze mois après la chirurgie, le pourcentage du temps passé dans les bras ouverts du labyrinthe en croix surélevé était moins élevé dans le groupe MHC que dans le groupe SHAM, chez les souris WT ($12,0 \pm 7,0\%$ vs $17,7 \pm 7,0\%$, $p=0,09$). Il n'a pas été observé de différence significative chez les souris transgéniques (Figure 42).

Il n'y avait pas de différence en présence d'atorvastatine chez les souris WT et transgéniques.

Par ailleurs, les souris APP SHAM passaient moins de temps dans les bras ouverts que les souris WT SHAM, témoignant d'un niveau d'anxiété bien plus élevé ($8,1 \pm 4,5\%$ VS $17,7 \pm 7,0\%$, $p=0,0008$).

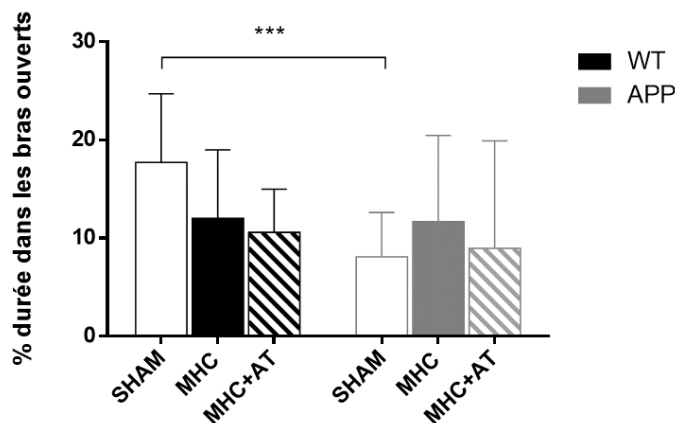


Figure 42: Le pourcentage de temps passé dans les bras ouverts du labyrinthe en croix surélevé par rapport au temps passé dans les bras ouverts et fermés, 12 mois après la chirurgie.

WT SHAM : n=14 ; WT MHC : n=13 ; WT MHC+AT : n=9; APP SHAM : n=12; APP MHC: n=8; APP MHC+AT: n=9. ***: p<0,001

c. Mémoire de travail

Douze mois après la chirurgie, la MHC ne semblait pas avoir un impact sur la mémoire de travail que ce soit chez les souris WT ou chez les souris transgéniques (Figure 43).

La modulation pharmacologique par atorvastatine ne semblait pas intervenir de façon significative sur la mémoire de travail.

Les souris transgéniques et les souris WT connaissaient une altération comparable de leur mémoire de travail.

Une souris du groupe APP SHAM et une autre du groupe APP MHC n'ont pas rempli le critère minimum de 8 bras visités au total, et n'ont donc pas été incluses dans l'analyse.

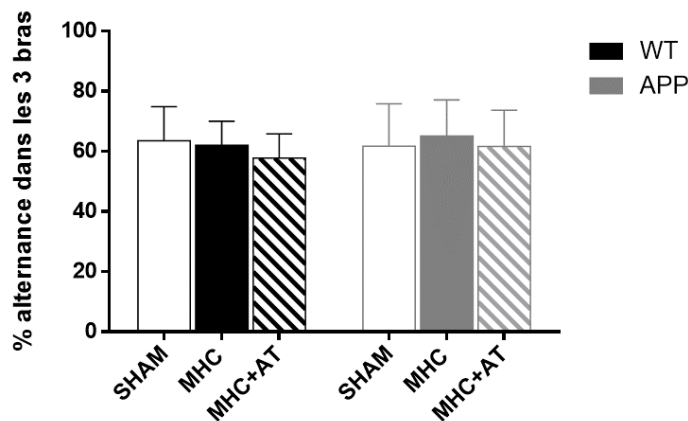


Figure 43: Le pourcentage d'alternance dans les trois bras du labyrinthe en Y, 12 mois après la chirurgie.

WT SHAM : n=14 ; WT MHC : n=13 ; WT MHC+AT : n=9; APP SHAM : n=11; APP MHC: n=7; APP MHC+AT: n=9

d. Mémoire de reconnaissance

Douze mois après la chirurgie, la MHC exerçait toujours un effet délétère sur la mémoire de reconnaissance chez les souris WT. L'indice de discernement était significativement différent parmi les trois groupes (WT SHAM, WT MHC et WT MHC+AT) ($p=0,029$). Il était par ailleurs bien plus bas chez les souris du groupe WT MHC par rapport aux souris du groupe WT SHAM ($23,7 \pm 3,9\%$ vs $40,6 \pm 5,9\%$, $p=0,065$). L'utilisation de l'atorvastatine ne semblait plus restaurer ce déclin (Figure 44).

Chez les souris transgéniques, l'indice de discernement restait supérieur dans le groupe APP MHC par rapport au groupe APP SHAM ($13,4 \pm 7,2\%$ VS $5,9 \pm 11,8\%$), le test statistique n'était pas possible en raison du faible nombre de souris dans les groupes APP SHAM et

APP MHC. L'utilisation de l'atorvastatine n'apportait pas de bénéfice sur la mémoire de reconnaissance. Au contraire, l'indice de discernement était plus bas dans le groupe APP MHC+AT que dans le groupe APP MHC (5,7 +/- 7,0% VS 13,4 +/- 7,2%), le test statistique n'était pas possible en raison du faible nombre de souris dans le groupe APP MHC (Figure 44).

En revanche, il est à signaler que toutes les souris du groupe APP MHC+AT ont validé le critère d'exploration minimale (n=9). Alors que huit souris du groupe APP SHAM (n=6) (soit deux tiers du groupe), et deux souris du groupe APP MHC (n=4) (soit 28,7% du groupe) n'ont pas pu valider le critère d'exploration minimale pendant l'habituation et ont été exclues de l'analyse.

Par ailleurs, la mémoire de reconnaissance s'est effondrée chez les souris transgéniques par rapport aux souris WT, mais le test statistique n'était pas possible en raison du faible nombre de souris dans les groupes APP SHAM et APP MHC.

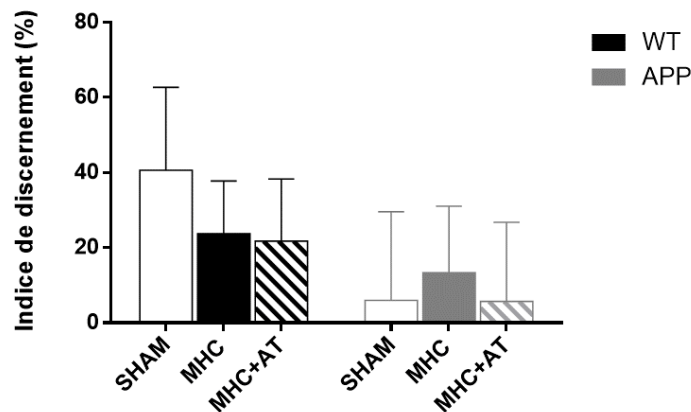


Figure 44: L'indice de discernement en pourcentage dans le test de reconnaissance d'objet, 12 mois après la chirurgie.

WT SHAM : n=14 ; WT MHC : n=13 ; WT MHC+AT : n=8; APP SHAM : n=4; APP MHC: n=6; APP MHC+AT: n=9

2. Impact sur la volumétrie et le métabolisme cérébraux

a. Résultats au niveau cortical

Un an après la chirurgie, le volume cortical gauche (côté lésé) était réduit en présence d'une MHC chez les WT (71,4 +/- 2,5 vs 73,1 +/- 3,5 mm³, p=0,05), et l'administration d'atorvastatine ne modifiait pas le volume de façon significative. Il n'y a pas de modification chez les souris transgéniques en présence de MHC ou d'atorvastatine (Figure 45).

En revanche, le volume cortical du côté homolatéral à la chirurgie était devenu significativement inférieur à celui du côté controlatéral dans les groupes WT MHC, APP SHAM et APP

MHC+AT. Le volume du côté lésé était devenu, à l'inverse, plus grand que celui du côté controlatéral dans le groupe WT MHC+AT.

En revanche, le volume cortical des souris transgéniques a continué de décroître par rapport aux souris WT (A droite : 70,9 +/- 3,2 vs 74,6 +/- 3,4 mm³, p=0,008; A gauche : 68,6 +/- 2,3 vs 73,1 +/- 3,5 mm³, p=0,001).

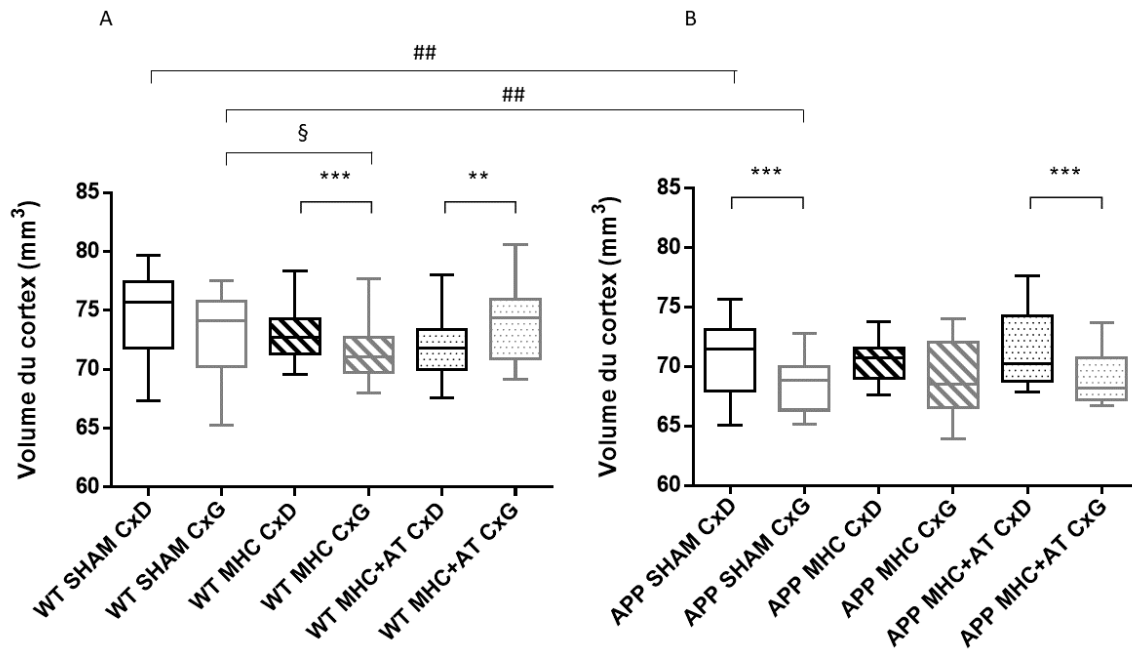


Figure 45: L'évolution du volume cortical un an après la chirurgie

A : le volume cortical en mm³ chez les souris WT. B : le volume cortical en mm³ chez les souris transgéniques. CxD : cortex droit ; CxG : cortex gauche. WT SHAM : n=16 ; WT MHC : n=21 ; WT MHC+AT : n=15; APP SHAM : n=12; APP MHC: n=9; APP MHC+AT: n=9. Pour les comparaisons concernant l'effet de la chirurgie : **: p<0,01; ***: p<0,001. Pour les comparaisons concernant l'effet du groupe : § : p<0,05. Pour les comparaisons concernant l'effet du transgène : ## : p<0,01.

En ce qui concerne le métabolisme il n'a pas été constaté de différence significative en fonction de la présence ou non d'une MHC, et de l'administration ou non d'atorvastatine, et quel que soit le génotype des souris (Figure 46).

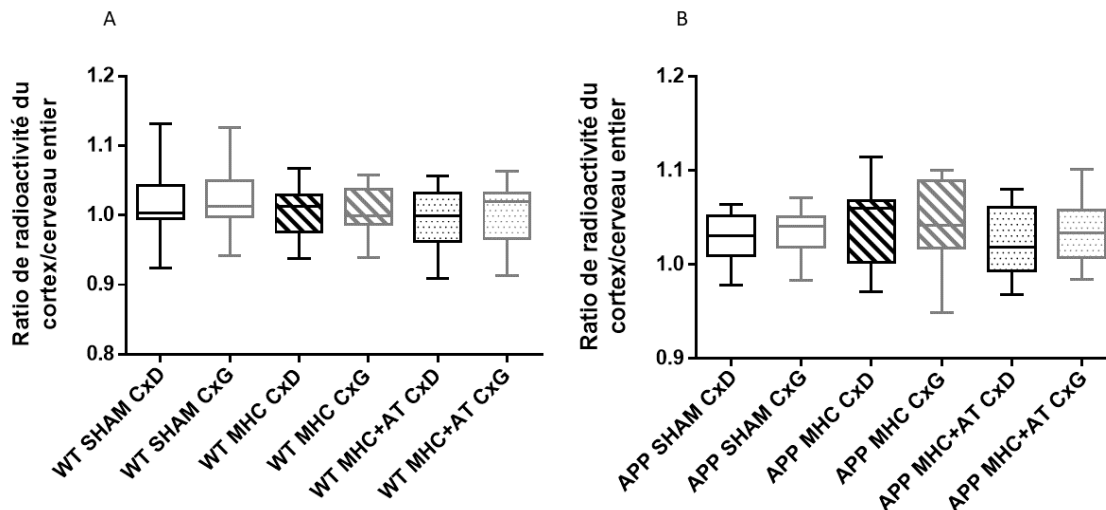


Figure 46 : L'évolution du métabolisme cortical, un an après la chirurgie

A : le ratio de radioactivité absorbée au niveau cortical par rapport au cerveau entier chez les souris WT. B : chez les souris transgéniques. CxD : cortex droit ; CxG : cortex gauche. WT SHAM : n=16 ; WT MHC : n=20 ; WT MHC+AT : n=15; APP SHAM : n=12; APP MHC: n=9; APP MHC+AT: n=9.

b. Résultats au niveau hippocampique

Au niveau hippocampique, il n'y avait pas d'impact de la MHC ni de l'atorvastatine quel que soit le génotype (Figure 47).

Néanmoins, les volumes hippocampiques gauches (côté lésé), étaient tous plus petits que les volumes hippocampiques droits (côté non lésé), quel que soit le groupe, quel que soit le génotype, suggérant une évolution d'effet de la chirurgie à distance.

Le volume hippocampique gauche était plus petit dans le groupe APP SHAM que le groupe WT SHAM ($13,9 \pm 0,6 \text{ mm}^3$ vs $14,4 \pm 0,6 \text{ mm}^3$, $p=0,02$).

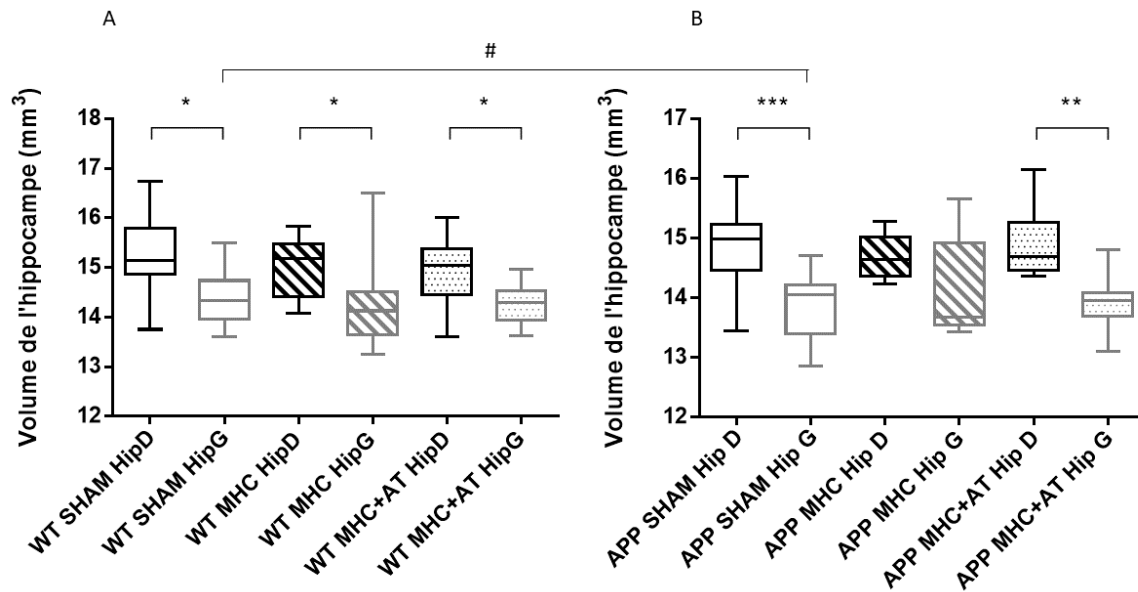


Figure 47: L'évolution du volume hippocampique un an après la chirurgie.

A : le volume hippocampique en mm³ chez les souris WT. B : le volume cortical en mm³ chez les souris transgéniques. CxD : cortex droit ; CxG : cortex gauche. WT SHAM : n=14 ; WT MHC : n=21 ; WT MHC+AT : n=14; APP SHAM : n=12; APP MHC: n=9; APP MHC+AT: n=9. Pour les comparaisons concernant l'effet de la chirurgie : * : p<0,05 ; ** : p<0,01; ***: p<0,001. Pour les comparaisons concernant l'effet du transgène : # : p<0,05.

Le métabolisme restait similaire. Aucune autre différence de ratio de radioactivité n'a été constatée dans les autres groupes (Figure 48).

L'administration de l'atorvastatine ne modifiait pas le profil du métabolisme hippocampique chez les souris WT et transgéniques (Figure 48).

Alors que le volume était plus faible, le métabolisme était plus élevé dans l'hippocampe gauche des souris APP SHAM que celui des WT SHAM (1,0 +/- 0,1 vs 0,9 +/- 0,1, p=0,02).

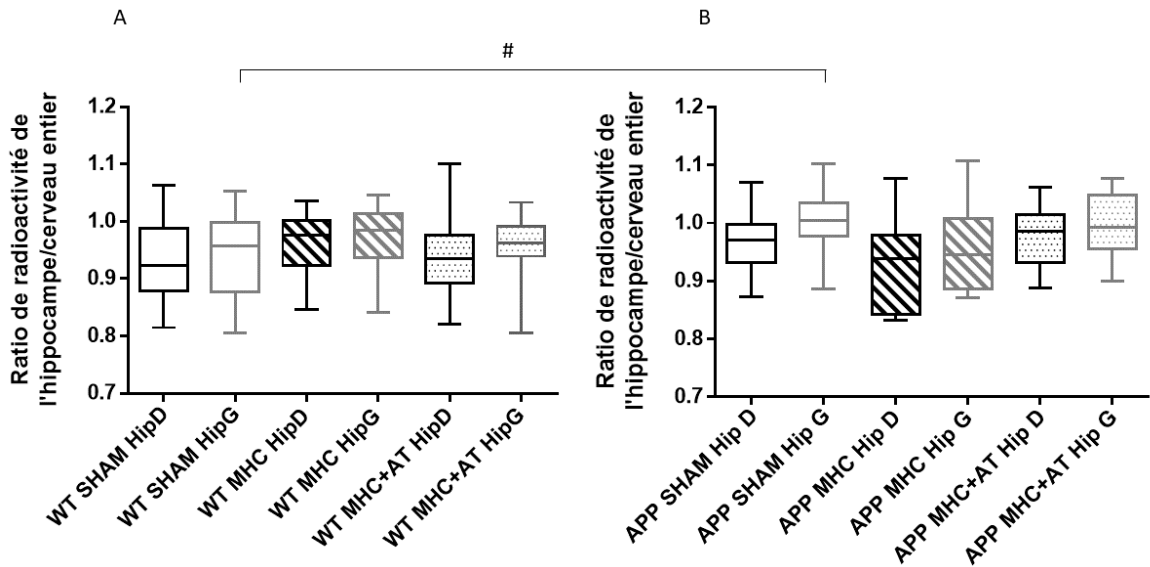


Figure 48: L'évolution du métabolisme hippocampique un an après la chirurgie

A : le ratio de radioactivité absorbée au niveau cortical par rapport au cerveau entier chez les souris WT. B : chez les souris transgéniques. CxD : cortex droit ; CxG : cortex gauche. WT SHAM : n=16 ; WT MHC : n=20 ; WT MHC+AT : n=15; APP SHAM : n=12; APP MHC: n=9; APP MHC+AT: n=9. Pour les comparaisons concernant l'effet du transgène : # : p<0,05.

F. Récapitulatif des modifications neurocomportementales, morphologiques et moléculaires

Les différentes modifications neurocomportementales ont été résumées dans le tableau 8.

La volumétrie ainsi que le métabolisme corticaux et hippocampiques étaient peu modifiés par rapport aux observations neurocomportementales. L'impact sur l'expression génique des Esr α et β était également faible, et était dépendante de la topographie. Ces résultats ont été résumés dans le tableau 9.

Pour des raisons de clarté de présentation, nous n'avons pas intégré dans le tableau les résultats concernant l'effet de la chirurgie sur le volume cortical et hippocampique. Globalement, le volume était plus élevé du côté de la chirurgie, pour le cortex et l'hippocampe quel que soit le groupe, à court et à moyen terme, sauf pour le groupe WT MHC+AT à moyen terme, où le volume hippocampique était plus bas du côté lésé. Enfin, à long terme, le volume cortical et hippocampique du côté lésé était devenu plus bas que le côté controlatéral quasi dans tous les groupes. Pour le groupe WT MHC+AT, le volume cortical était supérieur du côté lésé. Et pour les groupes APP MHC, il n'y avait pas de différence significative du fait d'une variabilité plus grande.

	Effet de la lésion		Effet de la modulation pharmacologique		Effet de la mutation d'APP
	WT	APP	WT	APP	
A court terme (six semaines après la chirurgie)					
Locomotion	=	=	=	=	=
Anxiété	=	↓*	=	↑*	=
Mémoire de travail	↓	=	↑*	=	=
Mémoire de reconnaissance	=	↓	=	=	=
Mémoire visuo-spatiale	↑	↑	=	↓	↓↓***
A moyen terme (six mois après la chirurgie)					
Locomotion	=	=	=	=	=
Anxiété	=	=	=	=	=
Mémoire de travail	=	=	=	=	=
Mémoire de reconnaissance	↓	↑	↑	↑	↓↓**
A long terme (douze mois après la chirurgie)					
Locomotion	=	=	=	=	↓#
Anxiété	↑	=	=	=	↑↑***
Mémoire de travail	=	=	=	=	=
Mémoire de reconnaissance	↓↓	=	=	=	↓↓↓

Tableau 8: Récapitulatif des modifications neurocomportementales chez les souris femelles WT et transgéniques sous l'effet d'une MHC, d'atorvastatine, et de la mutation d'APP (lignée J20)
 WT : souris Wild-type ; APP : souris portant la mutation du gène de la protéine précurseur d'amyloïde. * : p<0,05 ; ** : p<0,01 ; *** : p<0,001 ; # : p<0,05 uniquement pour le nombre total de redressements

	Effet de la lésion		Effet de la modulation pharmacologique		Effet de la mutation d'APP
	WT	APP	WT	APP	
A court terme (six semaines après la chirurgie)					
Volume					
Cortex	=	=	=	=	↓*
Hippocampe	=	=	=	=	↓*
Métabolisme					
Cortex	=	=	=	=	↑*
Hippocampe	=	=	=	=	↓**
Expression génique des Esr α					
Cortex	↑	=	↓	↓	↑
Hippocampe	=	=	=	=	=
Expression génique des Esr β					
Cortex	=	=	=	=	=
Hippocampe	↑	=	↓	↑	=
A moyen terme (six mois après la chirurgie)					
Volume					
Cortex	=	=	=	=	↓***
Hippocampe	=	=	↓***	=	↓*
Métabolisme					
Cortex	=	=	=	=	=
Hippocampe	=	=	=	=	↑*
A long terme (douze mois après la chirurgie)					
Volume					
Cortex	↓*	=	↑*	=	↓*

Hippocampe	=	=	=	=	↓*
Métabolisme					
Cortex	=	=	=	=	=
Hippocampe	=	=	=	=	↑*

Tableau 9: Récapitulatif des modifications de la volumétrie et du métabolisme au niveau cortical et hippocampique chez les souris femelles WT et transgéniques sous l'effet d'une MHC, d'atorvastatine, et de la mutation d'APP (lignée J20)

APP : protéine précurseur de l'amyloïde * : $p < 0,05$; ** : $p < 0,01$; *** : $p < 0,001$.

G. Estimation du taux d'œstrogène plasmatique chez les souris femelles

Le dosage d'œstrogène plasmatique a été effectué à un mois et demi et à douze mois après la chirurgie.

Il nous a été impossible de faire des analyses statistiques à partir des valeurs obtenues du fait de l'effectif trop faible de nos échantillons.

Les résultats obtenus étaient très hétérogènes (Figure 49).

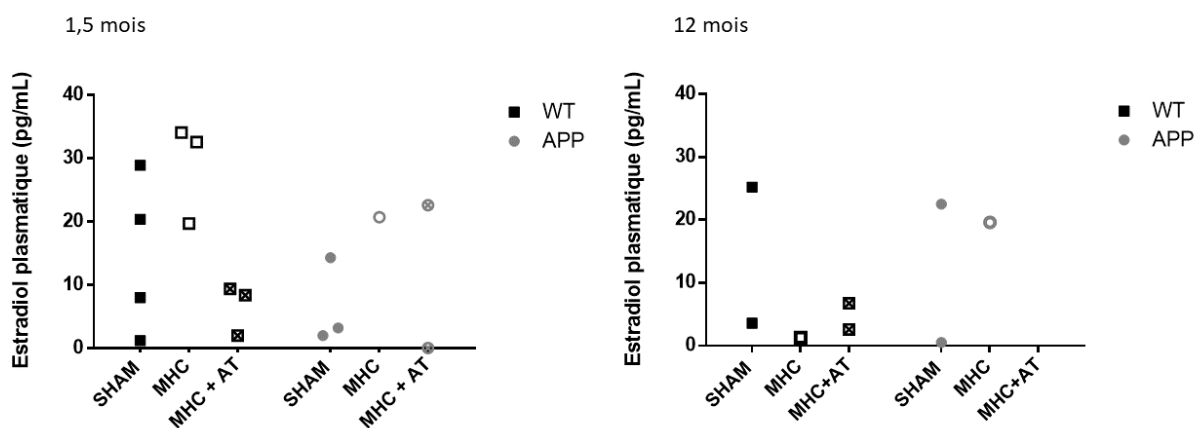


Figure 49: Taux d'œstrogène plasmatique chez les différents groupes de souris à un mois et demi et douze mois après la chirurgie

Représentation sous la forme de nuage de points, un point correspondant à un échantillon. Un échantillon du groupe APP MHC n'a pas été représenté sur la figure, ayant une valeur extrême de 404,39 pg/mL. Il n'y avait pas de données pour le groupe APP MHC+AT à douze mois.

H. Evaluation de l'effet hypolipémiant de l'atorvastatine

Le dosage du cholestérol total plasmatique a été effectué chez les souris MHC et MHC+AT, à un mois et demi et à douze mois après la chirurgie comme assurance de l'administration et assimilation de l'atorvastatine par les souris. Il y a eu 4 à 5 échantillons par groupe.

Il nous a été impossible de faire des analyses statistiques à partir des valeurs obtenues du fait de l'effectif trop faible de nos échantillons.

Le taux de cholestérol total plasmatique était plus bas chez les souris transgéniques traitées par atorvastatine lors du premier dosage à un mois et demi après le début du traitement, et restait plus bas un an après le traitement (Figure 50).

Chez les souris WT, le taux demeurait comparable au premier dosage, et ensuite diminuait par rapport aux souris non traitées, un an après le début du traitement.

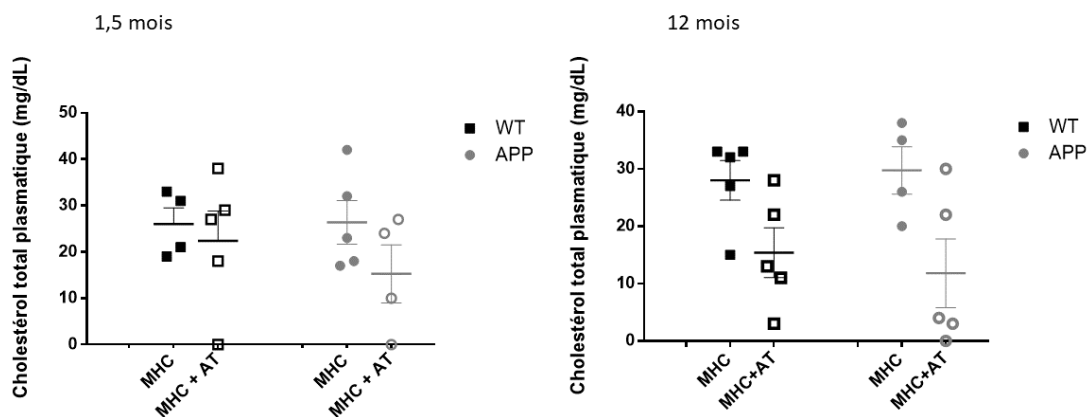


Figure 50: Dosage du taux de cholestérol total plasmatique à un mois et demi et à douze mois après la chirurgie.

A gauche: un mois et demi après: WT MHC : n=4 ; WT MHC+AT : n=5; APP MHC: n=5; APP MHC+AT: n=5 ; A droite: douze mois après: WT MHC : n=5 ; WT MHC+AT : n=5; APP MHC: n=4; APP MHC+AT: n=5

RESULTATS

Partie clinique

A. Description de la population

Trois cents soixante-neuf patients ont au total été inclus dans notre étude. Parmi les patients inclus, 58,8% étaient des femmes.

En ce qui concerne le niveau d'étude, 1,9% des patients n'avaient pas été scolarisés, 26,7% avaient le niveau primaire, 44,4% le niveau secondaire, et 27,0% le niveau supérieur. Pour les analyses suivantes, nous avons regroupé les patients non scolarisés avec ceux ayant un niveau primaire en raison du faible nombre de patients composant le premier groupe.

L'âge médian des patients lors de la première consultation était de 63,3 ans (IQR : 57,6-71,8), de 59,0 ans (IQR : 54,0-68,0) lors de l'apparition des premiers signes et de 65,8 ans (IQR : 58,4-74,2) lors du diagnostic de la MA.

Le score médian du premier MMSE était de 24,0 points (IQR : 19,0-27,0). Le score du MMSE lors du diagnostic de MA était de 21,0 points (IQR : 17,0-24,0).

Lors de la première consultation, le diagnostic de MA avait été retenu pour 46,6% des patients, celui de TCL, pour 49,1% des patients et une autre étiologie de démence était évoquée pour 3,8% des patients.

La médiane de la durée de suivi pour les patients était de 4 ans (IQR : 2-7). La médiane du nombre de scores successifs du MMSE réalisés lors du suivi était de 9 (IQR : 6-13).

24,3% des patients n'ont pas été revus depuis plus d'un an avant la fin de l'inclusion dans notre étude. Parmi les 279 patients pour lesquelles nous disposons des informations récentes, 26,9 % des patients ont été institutionnalisés à la fin du suivi, tandis que 12,9% des patients étaient décédés.

Les données manquantes étaient le statut du génotype de l'APOE pour 64,8 % des patients ainsi que les biomarqueurs dans le LCS (A β 1-42, Tau, Phospho-Tau) pour 26,6% des patients.

1. Données de l'IRM

Parmi ces 369 patients, 290 IRMs au total ont pu être interprétées. Les clichés manquants avaient en général été réalisés dans des centres de radiologie de ville, et n'avaient pas pu être archivés dans notre système informatique. Le délai médian de réalisation d'IRM après les premiers signes était de 53,5 mois, soit un peu plus de quatre ans (IQR : 32,0-81,6).

Le champ magnétique utilisé était de 3 Tesla pour 227 IRMs, de 1,5 Tesla pour 44 IRMs et non précisé pour 19.

Deux cent soixante-quinze IRMs permettaient l'évaluation des lésions hémorragiques, grâce à une séquence T2* dans la plupart des cas, et grâce à des acquisitions réalisées avec la technique de SWIP dans 17 cas.

Parmi les 275 IRMs interprétables, nous avons identifié au-moins une MH chez 56 patients (20,4%). Parmi les 56 patients, 52 présentaient uniquement des MH corticales. 27 patients avaient plus d'une MH.

Par ailleurs, 17 patients présentaient une hémosidérose et 2 patients une hémorragie lobaire.

Des lacunes ont été identifiées chez 23 patients ; 17 d'entre eux n'en présentaient qu'une seule.

Concernant les lésions de SB-PV, 30,6% des patients avaient un score de Fazekas côté entre 2 et 3, signifiant des lésions d'intensité modéré à sévère. Et concernant les lésions de SB-SC, 20,4% des patients avaient un score de Fazekas côté entre 2 et 3.

A la fin du suivi, 170 patients (soit 61,8% des 275 patients ayant eu une première IRM interprétable) ont bénéficié d'une 2ème IRM, disponible et interprétable. Le délai médian entre la première IRM et la deuxième IRM était de 25,8 mois, soit à peu près deux ans (IQR : 15,8-40,0). Trente patients (17,6%) avaient au-moins une MH. Parmi ces 30 patients, 7 n'avaient aucune MH à la première IRM et avaient une moyenne de 1,6 MHs par patient à la deuxième IRM. Huit patients qui avaient déjà des MHs à la première IRM ont vu leur nombre de MHs augmenté à la deuxième IRM, avec une augmentation en moyenne de 10,3 MHs par patient. Les 15 autres patients avaient un nombre de MHs stable au cours du suivi.

Quant aux lésions de SB-PV à la deuxième IRM, 40,6% des patients avaient un score de Fazekas entre 2 et 3, la moitié d'entre eux ont vu leurs lésions s'aggraver par rapport à l'IRM initiale.

2. Données concernant la prescription des statines

Cent vingt-sept patients (34,4%) ont reçu des statines pendant au moins 6 mois :

- statines lipophiles pour 66,9% de patients
- statines hydrophiles pour 23,6% de patients
- alternance de statines lipophiles et hydrophiles pour 12 patients (9,4%) .

Par ailleurs, des hypolipémiants sans plus de précision auraient été administrés à 10 patients, leur nature exacte n'ayant pu être précisément déterminée à la consultation de leur dossier médical.

3. Récapitulatif des 3 analyses

Pour répondre à nos objectifs, et du fait des données manquantes, nous avons dû réaliser 3 analyses (Schéma 10).

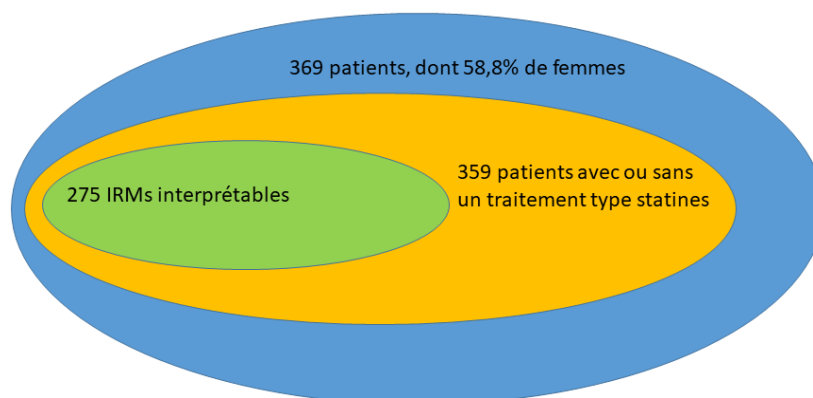


Schéma 10: L'effectif réel pour les analyses de comparaison en fonction des MH, du genre, et du traitement sous analyses

B. Comparaison entre les patients présentant ou non des microhémorragies

1. Les caractéristiques au début du suivi

Le résultat des analyses univariées portant sur les différentes variables lors de la consultation initiale sont présentés dans le Tableau 10.

Le sexe ratio n'était pas différent entre les deux groupes ($p=0,277$).

L'âge lors de la première consultation, au moment des premiers signes comme lorsque le diagnostic de MA a été posé, est en moyenne de 7 ans supérieur chez les patients présentant une ou plusieurs MH ($p<0,0001$). Un antécédent personnel d'AVC était retrouvé trois fois plus souvent chez les patients présentant au moins une MH ($p=0,025$). Quant aux FDRV, seule l'HTA était significativement plus fréquente chez les patients présentant au moins une MH (66,1% vs 44,8%, $p=0,004$). En ce qui concerne les traitements pharmacologiques, les antihypertenseurs étaient plus souvent prescrits aux patients présentant au moins une MH (69,6% vs 48,4%, $p=0,005$) tout comme les antiagrégants plaquettaires (50% vs 25,6% respectivement, $p=0,004$).

L'âge des premiers signes restait significativement plus élevé chez les patients présentant au moins une MH, même après réajustement sur l'HTA et les antihypertenseurs ($p<0,0001$).

Les données des biomarqueurs (LCS et IRM) sont présentées dans le Tableau 11. Il n'y avait pas de différence de taux d'A β 1-42, de Tau et de Phospho-tau entre les groupes.

Les lésions de la substance blanche étaient plus sévères chez les patients présentant au moins une MH, que ce soit en périventriculaire ou en sous-cortical ($p < 0,0001$).

2. L'impact des microhémorragies sur l'évolution des patients

La durée moyenne de suivi était similaire dans les deux groupes. Il n'y avait pas de différence en termes d'institutionnalisation entre ces groupes à la fin du suivi ($p = 0,498$) (Tableau 12).

De plus, il n'y avait pas d'impact significatif de la présence d'une ou plusieurs MH sur le déclin du score de MMSE ($p = 0,66$) (Figure 51).

Les patients qui ont connu une augmentation du nombre de MH au cours du suivi n'avaient pas de déclin du score de MMSE différent de celui des patients qui n'avaient pas de MH ou qui avaient un nombre de MH stable au cours du suivi ($p = 0,71$) (Tableau 13).

En ce qui concerne l'évolution de l'imagerie, aucune différence statistiquement significative n'était mise en évidence entre les deux groupes pour ce qui était de la perte de volume hippocampique droite ($p = 0,405$) et gauche ($p = 0,887$), ni pour l'aggravation de lésions de SB-PV ($p = 0,55$).

L'augmentation du nombre de MHs était significativement plus importante pour le groupe qui avait au-moins une MH à la première IRM (36,4%) que celui qui n'en avait aucune (5,0%) ($p < 0,0001$).

	Sans microhémorragie n = 219	Ayant au-moins une microhémorragie n = 56	Données manquantes	p
<u>Caractéristiques démographiques</u>				
Sexe féminin	131 (59,8)	29 (51,8)	0	0,277
Niveau d'éducation non scolarisé et niveau primaire	55 (25,2)	16 (29,1)		
Secondaire	101 (46,3)	23 (41,8)	0	0,797
Supérieur	62 (28,4)	16 (29,1)		
Âge lors de la première consultation*	61,4 (56,6-68,0)	68,7 (62,0-76,3)	0	< 0,0001
Âge lors des premiers signes*	57 (53-64)	65 (58-73)	6	< 0,0001
<u>Antécédents familiaux</u>				
Maladies cardiovasculaires	81 (42,2)	19 (42,2)	38	0,997
Démences	130 (66,7)	24 (49,0)	31	0,022
<u>Facteurs de risque vasculaire</u>				
HTA	98 (44,8)	37 (66,1)	0	0,004
Diabète	19 (8,7)	7 (12,5)	0	0,383
Dyslipidémie	95 (43,4)	24 (42,9)	0	0,944
Tabagisme	63 (28,8)	22 (39,3)	0	0,129
Alcoolisme	46 (21)	12 (21,4)	0	0,945
IMC				
<18,5	10 (4,8)	5 (9,3)		
18,5<IMC<30	149 (71,0)	39 (72,2)	11	0,340
>30	51 (24,3)	10 (18,5)		
<u>Génotype APOE</u>				
Ayant au moins un allèle ε4	53 (53,5)	4 (36,4)	165	0,280
Ayant les deux allèles ε4	12 (12,1)	2 (18,2)		0,630
<u>Comorbidités</u>				
AVC	9 (4,1)	7 (12,5)	0	0,025
Maladies cardiovasculaires	38 (17,4)	16 (28,6)	0	0,059
<u>Statut cognitif</u>				
Premier MMSE*	23,5 (19-27)	24,5 (20,5-27,5)	3	0,193
Premier Mattis*	122 (109-131)	122,5 (113-132)	26	0,318
Age du diagnostic de la MA*	62,6 (57,0-70,8)	71,2 (64,6-79,2)	0	< 0,0001
MMSE lors du diagnostic de la MA*	21 (18-24)	22 (16-25)	1	0,681
<u>Traitement</u>				
Inhibiteur de l'acétylcholinestérase	185 (84,5)	42 (75)	0	0,096
Antagoniste NMDA	57 (26,0)	15 (26,8)	0	0,908
Antihypertenseur	106 (48,4)	39 (69,6)	0	0,005
Antidiabétique	20 (9,1)	8 (14,3)	0	0,255
Hypolipémiant	89 (40,6)	28 (50)	0	0,206
Statine	77 (36,0)	26 (46,4)	5	0,152
Antiagrégant plaquettaire	56 (25,6)	28 (50)	0	0,004
Anticoagulant	7 (3,2)	4 (7,1)	0	0,243
Antidépresseur	122 (55,7)	24 (42,9)	0	0,086
Anxiolytique	67 (30,6)	19 (33,9)	0	0,631
Hypnotique	26 (11,9)	9 (16,1)	0	0,400
Neuroleptique	22 (10,1)	8 (14,3)	0	0,364
Nootrope	18 (8,22)	6 (10,7)	0	0,596

Tableau 10: Analyse univariée des caractéristiques cliniques des patients au début du suivi selon la présence ou non d'une microhémorragie

MMSE : mini mental state examination / AVC : accident vasculaire cérébral / HTA : hypertension artérielle / IMC : indice de masse corporelle / NMDA : acide N-méthyl-D-aspartique / MA : maladie d'Alzheimer / APOE : apolipoprotéine E

Les données sont exprimées en chiffres (pourcentage) pour les variables qualitatives, et * indique les données quantitatives exprimées en médiane (interquartiles)

	Sans microhémorragie n = 219	Ayant au moins une microhémorragie n = 56	Données manquantes	p
<u>Biomarqueurs du LCS</u>				
Aβ 1-42*	606 (491-721)	574,5 (482,5-654,5)	71	0,172
Tau total*	662,5 (461-920)	619,5 (461-844)	71	0,596
Phospho-Tau*	96,5 (75-126,5)	92 (78-122)	72	0,668
<u>Données radiologiques (1^{ère} IRM)</u>				
Délai entre les 1 ^{ers} signes et la 1 ^{ère} IRM*	51,0 (31,6-74,7)	60,1 (38,6-105,3)	8	0,06
Score de Fazekas en périventriculaire				
0-1	166 (75,8)	26 (46,4)	0	< 0,0001
2-3	53 (24,2)	30 (53,6)		
Score de Fazekas en sous-cortical				
0-1	188 (85,8)	32 (57,1)	0	< 0,0001
2-3	31 (14,2)	24 (42,9)		
Volume hippocampique				
Hippocampe Droit				
Exprimé en ‰ par rapport au volume total*	2,4 (2,1-2,6)	2,5 (2,1-2,6)	26	0,738
Hippocampe Gauche				
Exprimé en ‰ par rapport au volume total*	2,3 (2,0-2,5)	2,3 (1,9-2,5)	26	0,965

Tableau 11: Analyse univariée des données des biomarqueurs des patients au début du suivi selon la présence ou non d'une microhémorragie

LCS : liquide céphalo-spinal / PL : ponction lombaire / IRM : imagerie par résonance magnétique.

Les données sont exprimées en chiffres (pourcentage) pour les variables qualitatives, et * indique les données quantitatives exprimées en médiane (interquartiles). Le délai entre les 1^{ers} signes et la 1^{ère} IRM est exprimé en mois.

	Sans microhémorragie n = 219	Ayant au moins une microhémorragie n = 56	Données manquantes	p
<u>Devenir</u>				
Institutionnalisation	37 (16,9)	12 (21,4)	55	0,429
Durée de suivi*	4 (2-6)	5 (2-7,5)	55	0,498

Tableau 12: Analyse univariée du taux d'institutionnalisation des patients en fonction de la présence ou non d'une microhémorragie

Les données manquantes concernent les patients qui n'ont pas été revus plus d'un an avant la fin de l'inclusion dans notre étude

Les données sont exprimées en chiffres (pourcentage) pour les variables qualitatives, et * indique les données quantitatives exprimées en médiane (interquartiles)

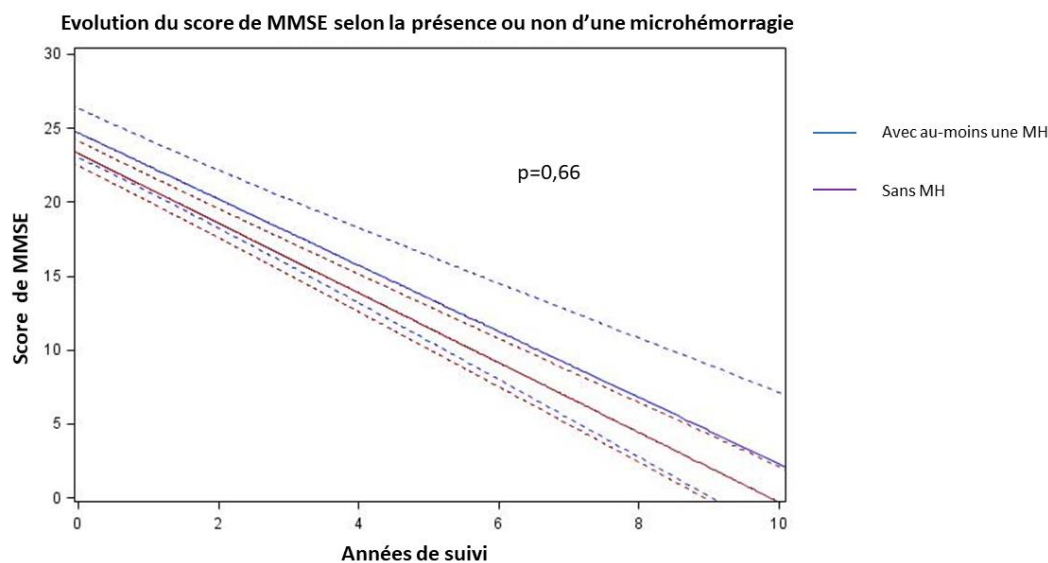


Figure 51: Le déclin du score de MMSE dans le temps selon la présence ou non d'une microhémorragie.

	Sans microhémorragie n = 219	Ayant au moins une microhémorragie n = 56	Données manquantes	p
<u>Données radiologiques (dernière IRM)</u>				
Délai entre la 1 ^{ère} et la dernière IRM*	26,0 (14,7-40,4)	27,1 (19,1-39,9)	104	0,657
Augmentation du nombre de MHs	7 (5,0)	8 (36,4)	108	0,0001
Score de Fazekas en périventriculaire				
0-1	90 (63,4)	9 (39,1)		0,028
2-3	52 (36,6)	14 (60,8)		
Aggravation de lésions périventriculaires	35 (24,7)	7 (30,4)	110	0,55
Score de Fazekas en sous-cortical				
0-1	122 (85,9)	16 (69,6)		0,066
2-3	20 (14,1)	7 (30,4)	110	
Atrophie hippocampique				
Perte de volume pour l'hippocampe droit*	9,6 (3,8-15,6)	8,7 (4,4-12,9)		0,405
Perte de volume pour l'hippocampe gauche*	8,4 (3,3-14,6)	8,7 (4,7-16,5)	126	0,887

Tableau 13: Analyse univariée des données de l'IRM cérébrale à la fin du suivi.

L'aggravation de lésions périventriculaires est définie par une cotation à 2 et 3 sur l'échelle de Fazekas à la deuxième IRM alors qu'elle ne l'était pas à la première.

Les données sont exprimées en chiffres (pourcentage) pour les variables qualitatives, et * indique les données quantitatives exprimées en médiane (inter-quartiles) Le délai entre les 1^{ère} IRM et la dernière IRM est exprimé en mois.

C. Comparaison entre les patients selon le sexe

1. Les caractéristiques au début du suivi

Les résultats de la comparaison par analyse univariée des différentes variables à la visite initiale sont présentés dans le Tableau 14.

Le niveau d'éducation était significativement plus bas chez les femmes (32,1% de patientes non scolarisées ou avec un niveau primaire vs 23,7% des patients, p=0,023).

Il n'a pas été constaté de différence significative en ce qui concerne le statut cognitif à la première visite, ni au moment du diagnostic de la MA.

L'obésité ainsi que la dénutrition étaient davantage présentes chez les patientes. Aucune différence statistiquement significative n'était mise en évidence pour le diabète. L'hypertension artérielle, la dyslipidémie, l'alcoolisme chronique ainsi que le tabagisme actif concernaient davantage les hommes. La prévalence des maladies cardiovasculaires était également plus faible chez les patientes (13,4% vs 32,9% $p < 0,0001$). En revanche, aucune différence statistiquement significative n'était mise en évidence pour le fait d'avoir un antécédent d'AVC ($p = 0,839$).

Davantage d'hommes suivaient un traitement à visée cardiovasculaire, exception faite pour les antidiabétiques et les anticoagulants, pour lesquels aucune différence significative n'était mise en évidence. Pour ce qui est des traitements psychotropes, les anxiolytiques étaient plus souvent prescrits chez les patientes (39,6% vs 27,6% $p = 0,017$).

Les données des biomarqueurs (LCS et IRM) sont présentées dans le tableau 15.

Le taux d'A β 1-42 était légèrement inférieur chez les patients (570 [IQR : 421,5-657,5] pg/mL vs 598 [481-711] pg/mL, $p = 0,018$), sans que le délai entre les premiers signes et la réalisation de la PL ne soit significativement différent. Aucune différence n'était mise en évidence pour les taux de Tau et de Phospho-tau.

Le pourcentage des patients ayant au-moins une MH tendait à être plus élevé que celui des patientes ayant au-moins une MH, mais la différence n'était pas significativement différente (23,5% vs 18,1%, $p = 0,28$).

Aucune différence significative n'était par ailleurs identifiée en ce qui concerne les lésions de la substance blanche. En revanche, il existait une tendance en faveur d'une atrophie hippocampique moins sévère à droite chez les patientes (3,1% [IQR 2,7-3,4] vs 3,3% [IQR 2,9-3,7] $p = 0,052$).

2. L'impact du sexe sur l'évolution des patients

La durée moyenne de suivi était similaire. Il n'y avait pas de différence en termes d'institutionnalisation entre les deux groupes à la fin du suivi ($p = 0,414$) (Tableau 16).

De plus, il n'y avait pas d'impact significatif du sexe sur le déclin du score de MMSE ($p = 0,38$) (Figure 52).

A noter que le délai entre la réalisation de la première IRM et la dernière était significativement plus courte de 10 mois chez les patientes que les patients ($p = 0,002$) (Tableau 17).

Sur le plan de l'évolution de l'imagerie, il n'y avait pas non plus de différence significative sur la perte de volume hippocampique droit ($p = 0,843$) et gauche ($p = 0,246$).

Le pourcentage de l'augmentation du nombre de MHs était significativement plus important pour les patients que les patientes (15,9% vs 4,4%, $p=0,01$), même après réajustement sur la différence de délai de réalisation entre la première et la deuxième IRM ($p=0,02$).

A la fin du suivi, les lésions de substance blanche en périventriculaire se sont aggravées dans les deux groupes, sans différence selon le sexe.

	Hommes n = 152	Femmes n = 215	Données manquantes	p
<u>Caractéristiques démographiques</u>				
Niveau d'éducation				
<i>Aucun et primaire</i>	36 (23,7)	69 (32,1)		
<i>Secondaire</i>	64 (42,1)	99 (46,1)	2	0,023
<i>Supérieur</i>	52 (34,2)	47 (21,9)		
Âge lors de la première consultation*	64,4 (58,2-72,4)	62,7 (57,4-70,3)	0	0,165
Âge lors des premiers signes*	60,5 (55-69)	59 (53-68)	9	0,262
<u>Antécédents familiaux</u>				
Maladies cardiovasculaires	52 (40,3)	70 (38,3)	57	0,714
Démences	84 (62,7)	108 (56,5)	44	0,268
<u>Facteurs de risque vasculaire</u>				
HTA	81 (53,3)	92 (42,4)	0	0,039
Diabète	19 (12,5)	24 (11,1)	0	0,671
Dyslipidémie	76 (50)	75 (34,6)	0	0,003
Tabagisme	77 (50,7)	39 (18,0)	0	<0,0001
Alcoolisme	48 (31,6)	23 (10,6)	0	<0,0001
IMC				
<18,5	4 (2,8)	21 (10,3)		
18,5<IMC<30	114 (79,2)	135 (66,5)	22	0,008
>30	26 (18,1)	47 (23,2)		
<u>Génotype APOE</u>				
Ayant au moins un allèle ε4	25 (48,1)	42 (53,9)	239	0,519
Ayant les deux allèles ε4	9 (17,3)	7 (9,0)		0,157
<u>Comorbidités</u>				
AVC	7 (4,6)	11 (5,1)	0	0,839
Maladies cardiovasculaires	50 (32,9)	29 (13,4)	0	<0,0001
<u>Statut cognitif</u>				
Premier MMSE*	24 (20-27)	23 (18-26)	3	0,051
Premier Mattis*	122 (112-131)	121,5 (107-132)	37	0,441
Age lors du diagnostic de la MA*	67,01 (59,1-76,0)	65,1 (58,0-72,8)	0	0,112
MMSE lors du diagnostic de la MA*	18 (0-22)	16,5 (1-21)	1	0,120
<u>Traitement</u>				
Inhibiteur de l'acétylcholinestérase	123 (80,9)	175 (80,6)	0	0,947
Antagoniste NMDA	48 (31,6)	71 (32,7)	0	0,818
Antihypertenseur	85 (55,9)	98 (45,2)	0	0,042
Antidiabétique	21 (13,8)	24 (11,1)	0	0,426
Hypolipémiant	76 (50,0)	75 (34,6)	0	0,003
Statine	67 (44,7)	60 (28,7)	10	0,002
Antiagrégant plaquettaire	59 (38,8)	53 (24,4)	0	0,003
Anticoagulant	10 (6,6)	6 (2,8)	0	0,077
Antidépresseur	77 (50,7)	121 (55,8)	0	0,333
Anxiolytique	42 (27,6)	86 (39,6)	0	0,017
Hypnotique	16 (10,5)	33 (15,2)	0	0,192
Neuroleptique	16 (10,5)	28 (12,9)	0	0,488
Nootrope	18 (11,8)	21 (9,7)	0	0,506

Tableau 14: Analyse univariée des caractéristiques cliniques des patients au début du suivi selon le sexe.

MMSE : mini mental state examination / AVC : accident vasculaire cérébral / HTA : hypertension artérielle / IMC : indice de masse corporelle / NMDA : acide N-méthyl-D-aspartique / MA : maladie d'Alzheimer / APOE : apolipoprotéine E

Les données sont exprimées en chiffres (pourcentage) pour les variables qualitatives, et * indique les données quantitatives exprimées en médiane (interquartiles)

	Hommes n = 152	Femmes n =215	Données manquantes	p
<u>Biomarqueurs du LCS</u>				
Aβ 1-42*	570 (421,5-657,5)	598 (481-711)	98	0,018
Tau total*	643 (457,5-863)	671 (463-1021)	98	0,163
Phospho-Tau*	98 (73-117)	97 (77-129)	99	0,178
<u>Données radiologiques (1^{ère} IRM)</u>				
Délai entre les 1 ^{ers} signes et la 1 ^{ère} IRM*	53,8 (30,6-81,5)	51,7 (33,4-81,8)	77	0,868
Score de Fazekas en périventriculaire				
0-1	87 (73,1)	114 (66,7)	79	0,242
2-3	32 (26,9)	57 (33,3)		
Score de Fazekas en sous-cortical				
0-1	97 (82,2)	133 (77,8)	80	0,359
2-3	21 (17,8)	38 (22,2)		
Volume hippocampique				
Hippocampe Droit				
Exprimé en % par rapport au volume total*	2,3 (2,0-2,5)	2,4 (2,1-2,6)	106	0,052
Hippocampe Gauche				
Exprimé en % par rapport au volume total*	2,2 (2,0-2,5)	2,3 (2,0-2,5)		0,278
Les microhémorragies				
Ayant au-moins une MH	27 (23,5)	29 (18,1)	94	0,277
Ayant uniquement les MH corticales	26 (22,6)	26 (16,4)		0,192

Tableau 15: Analyse univariée des données des biomarqueurs des patients au début du suivi selon le sexe.

LCS : liquide céphalo-spinal / PL : ponction lombaire / IRM : imagerie par résonance magnétique / MH : microsaignement

Les données sont exprimées en chiffres (pourcentage) pour les variables qualitatives, et * indique les données quantitatives exprimées en médiane (interquartiles) Le délai entre les 1^{ers} signes et la 1^{ère} IRM est exprimé en mois.

	Hommes n = 152	Femmes n =215	Données manquantes	p
<u>Devenir</u>				
Institutionnalisation	34 (22,4)	41 (18,9)	90	0,414
Durée de suivi*	5 (2,5-7)	4 (2-7)	0	0,220

Tableau 16: Analyse univariée du taux d'institutionnalisation des patients selon le sexe

Les données sont exprimées en chiffres (pourcentage) pour les variables qualitatives, et * indique les données quantitatives exprimées en médiane (interquartiles)

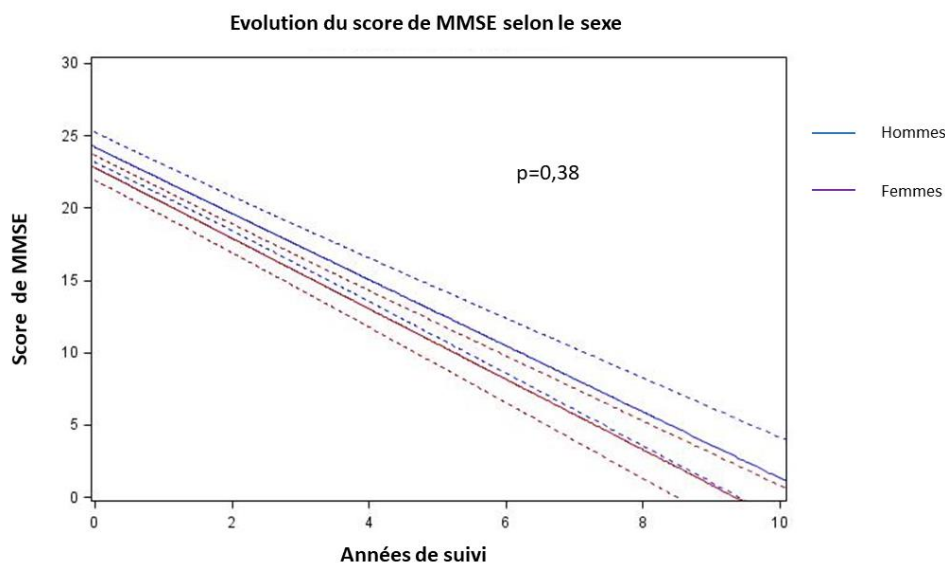


Figure 52: Le déclin du score de MMSE dans le temps selon le sexe

	Hommes n = 152	Femmes n =215	Données manquantes	p
<u>Données radiologiques (dernière IRM)</u>				
Délai entre la première et la dernière IRM*	35,5 (21,6-48,1)	24,6 (14,4-37)	191	0,002
Augmentation du nombre de MHs	11 (15,9)	4 (4,4)	208	0,01
Score de Fazekas en périventriculaire				
0-1	46 (63,0)	55 (56,7)		0,407
2-3	27 (37,0)	42 (43,3)	199	
Aggravation de lésion périventriculaires	19 (26,0)	24 (24,8)		0,849
Score de Fazekas en sous-cortical				
0-1	63 (86,3)	79 (81,4)	199	0,398
2-3	10 (13,7)	18 (18,6)		
Atrophie hippocampique				
Perte de volume pour l'hippocampe droit*	9,8 (4,4-15 ,4)	8,7 (3,8-15,1)	213	0,843
Perte de volume pour l'hippocampe gauche*	10,0 (4,5-17,0)	7,3 (2,9-14,0)		0,246

Tableau 17: Analyse univariée des données de l'IRM cérébrale à la fin du suivi.

L'aggravation de lésions périventriculaires est définie par une cotation à 2 et 3 sur l'échelle de Fazekas à la deuxième IRM alors qu'elle ne l'était pas à la première.

Les données sont exprimées en chiffres (pourcentage) pour les variables qualitatives, et * indique les données quantitatives exprimées en médiane (interquartiles) Le délai entre les 1^{ère} IRM et la dernière IRM est exprimé en mois.

D. Comparaison entre les patients traités ou non par des statines

1. Les caractéristiques au début du suivi

Les résultats de la comparaison univariée des différentes variables à la visite initiale sont présentés dans le Tableau 18.

Les statines étaient administrées à une proportion plus importante d'hommes que de femmes (52,8% vs 47,2%, p=0,002).

L'âge lors des premiers signes (p=0,039), et l'âge lors de la première consultation (p=0,023) étaient plus élevés d'environ 3 années chez les patients sous statines. L'âge des pa-

tients lors du diagnostic de MA était supérieur de quatre années chez les patients sous statines ($p=0,013$). Il n'y avait néanmoins pas de différence statistiquement significative entre les deux groupes en termes de statut cognitif.

Le profil vasculaire était plus sévère chez les patients suivant un traitement par statines. La prévalence de tous les facteurs de risque vasculaire, d'AVC, ainsi que de maladies cardiovasculaires était plus importante chez les patients sous statines.

Les patients traités par statines prenaient plus souvent d'autres traitements visant à contrôler les FDRV, si ce n'est pour les anticoagulants, pour lesquels aucune différence n'était constatée. Aucune différence significative n'était par ailleurs mise en évidence en ce qui concerne l'administration de psychotropes.

Après réajustement sur les traitements visant à contrôler les FDRV (antihypertenseurs, antidiabétiques et antiagrégants), il n'y avait plus de différence significative d'âge des premiers signes entre les patients sous statines et ceux sans statines ($p=0,825$).

Les données des biomarqueurs (LCS et IRM) sont présentées dans le tableau 19.

Sur le plan des lésions vasculaires à l'IRM, les patients sous statines présentaient davantage de lésions sévères de la SB-PV (score de Fazekas compris entre 2 et 3) (24,8% vs 18,4% $p=0,009$). Aucune différence significative n'était mise en évidence en termes de volume hippocampique, de présence d'au-moins une MH, de taux d'a β 1-42, de Tau et de Phospho-tau.

2. L'impact du traitement par statines sur l'évolution des patients

Les patients sous statines étaient suivis légèrement plus longtemps (5 [IQR : 3-8] ans vs 4 [IQR ; 2-6] ans $p=0,043$) la fréquence de l'institutionnalisation était comparable entre les deux groupes à la fin du suivi ($p=0,238$) (Tableau 20).

Il n'y avait pas d'impact significatif du traitement par statines sur le déclin du score de MMSE ($p=0,73$) (Figure 53)

Pour ce qui est de l'évolution de l'imagerie, il n'y avait pas non plus d'impact du traitement par statines sur la modification sur la perte de volume hippocampique, l'aggravation de lésions de SB-PV, ni d'augmentation du nombre de MHs (Tableau 21).

	Sans statines n = 232	Avec statines n = 127	Données manquantes	p
<u>Caractéristiques démographiques</u>				
Niveau d'éducation				
<i>Non scolarisé et niveau primaire</i>	62 (27,0)	41 (32,3)		
<i>Secondaire</i>	106 (46,1)	55 (43,3)	2	0,563
<i>Supérieur</i>	62 (27,0)	31 (24,4)		
Âge lors de la première consultation*	62,4 (56,32-71,8)	65,1 (60,8-71,3)	0	0,023
Âge lors des premiers signes*	58 (52-68)	61 (57-68)	9	0,039
<u>Antécédents familiaux</u>				
Maladies cardiovasculaires	63 (32,1)	58 (52,7)	53	0,0004
Démences	119 (57,8)	70 (62,0)	40	0,467
<u>Facteurs de risque vasculaire</u>				
HTA	84 (36,2)	83 (65,4)	0	<0,0001
Diabète	17 (7,3)	25 (19,7)	0	0,0005
Dyslipidémie	46 (19,8)	102 (80,3)	0	<0,0001
Tabagisme	65 (28,0)	50 (39,4)	0	0,028
Alcoolisme	35 (15,1)	36 (28,4)	0	0,003
IMC				
<18,5	22 (10,1)	3 (2,5)		
18,5<IMC<30	158 (72,8)	84 (68,9)	20	0,003
>30	37 (17,1)	35 (28,7)		
<u>Génotype APOE</u>				
Ayant au moins un allèle ε4	45 (50,6)	21 (55,3)	232	0,627
Ayant les deux allèles ε4	9 (10,1)	7 (18,4)		0,244
<u>Comorbidités</u>				
AVC	4 (1,7)	13 (10,2)	0	0,0003
Maladies cardiovasculaires	35 (15,1)	42 (33,1)	0	<0,0001
<u>Statut cognitif</u>				
Premier MMSE*	24 (18-27)	24 (20-27)	3	0,338
Premier Mattis*	122 (109-131,5)	121 (110-131)	36	0,858
Age lors du diagnostic de la MA*	64,3 (57,2-73,9)	68,2 (61,3-74,8)	0	0,013
MMSE lors du diagnostic de la MA*	21 (16-24)	22 (18-24)	1	0,495
<u>Traitement</u>				
Inhibiteur de l'acétylcholinestérase	187 (80,6)	104 (81,9)	0	0,766
Antagoniste NMDA	74 (31,9)	39 (30,7)	0	0,817
Antihypertenseur	89 (38,4)	86 (67,7)	0	<0,0001
Antidiabétique	17 (7,3)	27 (21,3)	0	0,0001
Antiagrégant	45 (19,4)	63 (49,6)	0	<0,0001
Anticoagulant	8 (3,5)	7 (5,5)	0	0,350
Antidépresseur	121 (52,2)	68 (53,5)	0	0,801
Anxiolytique	84 (36,2)	39 (30,7)	0	0,294
Hypnotique	25 (10,8)	19 (15,0)	0	0,245
Neuroleptique	26 (11,2)	16 (12,6)	0	0,695
Nootrope	25 (10,8)	13 (10,2)	0	0,874

Tableau 18: Analyse univariée des caractéristiques cliniques des patients au début du suivi selon l'administration ou non de statines

MMSE : mini mental state examination / AVC : accident vasculaire cérébral / HTA : hypertension artérielle / IMC : indice de masse corporelle / NMDA : acide N-méthyl-D-aspartique / MA : maladie d'Alzheimer / APOE : apolipoprotéine E

Les données sont exprimées en chiffres (pourcentage) pour les variables qualitatives, et * indique les données quantitatives exprimées en médiane (interquartiles)

	Sans statines n = 232	Avec statines n = 127	Données manquantes	p
<u>Biomarqueurs du LCS</u>				
Aβ 1-42*	595 (473-657,5)	566,5 (470-679)	96	0,206
Tau total*	673 (466-863)	604 (440-955)	96	0,573
Phospho-Tau*	97 (78-117)	93 (71,7-123)	97	0,700
<u>Données radiologiques (1^{ère} IRM)</u>				
Délai entre les 1 ^{ers} signes et la 1 ^{ère} IRM*	53,4 (34,3-78,1)	53,5 (31,5-88,6)	73	0,848
Score de Fazekas en périventriculaire				
0-1	142 (81,6)	82 (75,2)	75	0,009
2-3	32 (18,4)	27 (24,8)		
Score de Fazekas en sous-cortical				
0-1	97 (82,2)	133 (77,8)	76	0,199
2-3	21 (17,8)	38 (22,2)		
Volume hippocampique				
Hippocampe Droit				
Exprimé en % par rapport au volume total*	2,4 (2,1-2,5)	2,4 (2,0-2,6)		0,708
Hippocampe Gauche				
Exprimé en % par rapport au volume total*	2,3 (2,0-2,5)	2,3(2,0-2,6)	192	0,964
Les microhémorragies				
Ayant au-moins une MH				
	30 (18,0)	26 (25,2)	89	0,157
Ayant uniquement les MH corticales				
	29 (17,5)	23 (22,3)		0,327

Tableau 19: Analyse univariée des données des biomarqueurs des patients au début du suivi selon l'administration ou non de statines.

LCS : liquide céphalo-spinal / PL : ponction lombaire / IRM : imagerie par résonance magnétique / MH : microsaignement

Les données sont exprimées en chiffres (pourcentage) pour les variables qualitatives, et * indique les données quantitatives exprimées en médiane (interquartiles)

Le délai entre les 1^{ers} signes et la 1^{ère} IRM est exprimé en mois.

	Sans statines n = 232	Avec statines n = 127	Données manquantes	p
<u>Devenir</u>				
Institutionnalisation	41 (17,7)	29 (22,8)	86	0,238
Durée de suivi*	4 (2-6)	5 (3-8)	0	0,043

Tableau 20: Analyse univariée du taux d'institutionnalisation des patients selon l'administration ou non de statines.

Les données sont exprimées en chiffres (pourcentage) pour les variables qualitatives, et * indique les données quantitatives exprimées en médiane (interquartiles)

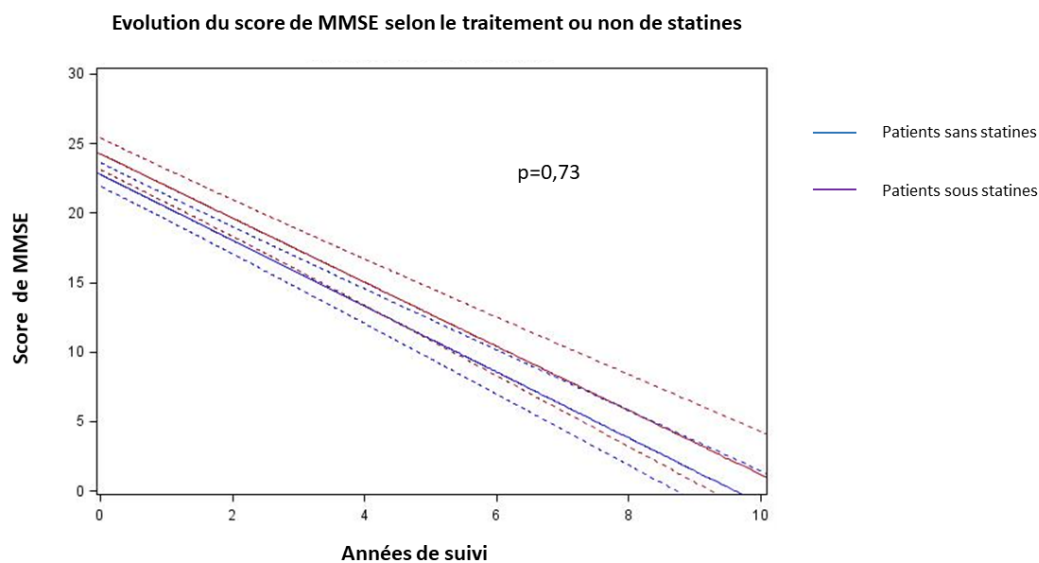


Figure 53: Le déclin du score de MMSE dans le temps selon l'administration ou non de de statines.

	Sans statines n = 232	Avec statines n = 127	Données manquantes	p
Données radiologiques (dernière IRM)				
Délai entre la première et la dernière IRM*	25,6 (14,5-40,0)	27,5 (18,5-39,6)	184	0,615
Augmentation du nombre de MHs	8 (7,8)	7 (12,5)	211	0,340
Score de Fazekas en péri-ventriculaire				
0-1	67 (63,2)	34 (55,7)		0,342
2-3	39 (36,8)	27 (44,3)	192	
Aggravation de lésions péri-ventriculaires	25 (23,6)	15 (24,6)		0,884
Score de Fazekas en sous-cortical				
0-1	92 (86,8)	48 (78,7)	192	0,171
2-3	14 (13,2)	13 (21,3)		
Atrophie hippocampique				
Perte de volume pour l'hippocampe droit*	9,6 (4,2-15,4)	8,7 (3,0-15,1)	206	0,312
Perte de volume pour l'hippocampe gauche*	9,1 (4,3-15,5)	8,4 (3,0-14,5)		0,577

Tableau 21: Analyse univariée des données de l'IRM cérébrale à la fin du suivi

Les données sont exprimées en chiffres (pourcentage) pour les variables qualitatives, et * indique les données quantitatives exprimées en médiane (interquartiles)

Le délai entre les 1^{ère} IRM et la dernière IRM est exprimé en mois.

DISCUSSION

Les résultats vont être discutés selon trois axes. Le premier axe concerne l'impact de la lésion microhémorragique sur la cognition et les biomarqueurs. Le deuxième s'intéresse à l'effet de la modulation pharmacologique par atorvastatine. Le dernier porte sur les différences liées au sexe.

Les résultats comportementaux ont été présentés de façon descriptive, avec une analyse statistique. La grande variabilité observée dans tous les modèles animaux explique la limite statistique (HÅnell et Marklund, 2014).

Dans le modèle préclinique, l'impact de la MH est constaté précocement en condition saine (souris WT) et en condition pathologique (souris APP) : altération de la mémoire de travail chez les souris WT ; altération de la mémoire de reconnaissance et diminution du niveau d'anxiété, chez les souris APP. Au cours du temps, l'effet de la MH a persisté et s'est aggravé, sur la mémoire de reconnaissance et sur le niveau d'anxiété pour les souris WT, tandis que l'effet n'a plus été mis en évidence chez les souris APP, au profit d'un impact prépondérant de la mutation APP mimant la MA. La MH a exercé un effet délétère sur la mémoire visuo-spatiale chez les souris APP, alors que l'effet était paradoxalement bénéfique chez les souris sans pathologie sous-jacente. L'administration précoce d'atorvastatine a montré sa capacité à moduler l'impact de la MH. Chez la souris WT, elle a amélioré la mémoire de travail à court terme et la mémoire de reconnaissance à moyen terme. Chez la souris APP, l'effet de l'atorvastatine était observé sur l'anxiété, et sur la mémoire visuo-spatiale à court terme, et sur la mémoire de reconnaissance à moyen terme. Enfin, la différence des résultats obtenus entre souris femelles et souris mâles, notamment en ce qui concerne la mémoire visuo-spatiale, était améliorée en présence de la MH, différence qui pourrait être en partie en lien avec une surexpression génique des récepteurs aux œstrogènes β .

Ces modifications comportementales chez les rongeurs ne s'expliquent pas par une modification du volume ou du métabolisme cérébral, car très peu de différences ont été constatées en IRM et en TEP, mise à part une atrophie corticale chez les souris douze mois après l'induction de la MH chez les souris WT.

Chez les patients, la présence d'au-moins une MH n'a pas eu d'impact sur l'évolution du déclin cognitif, ni sur sa sévérité mais est associé à un recul significatif de l'âge du premier signe de la MA. Le traitement par statines est associé également à un recul de l'âge des premiers signes de la MA, marqueur sûrement d'une meilleure prise en compte de la dysfonction vasculaire. Il n'a cependant pas été observé d'effet sur l'évolution du déclin cognitif, ni sur le volume hippocampique. L'augmentation du nombre de MHs au terme du suivi était plus importante chez les hommes que chez les femmes. Les femmes n'avaient pas un profil cognitif différent de celui

des hommes, mais un profil vasculaire moins marqué, ce qui a pu influencer l'expression des biomarqueurs de la MA. Les femmes avaient en effet un taux d'A β 1-42 légèrement supérieur aux hommes, et une atrophie hippocampique moins avancée, signifiant une amyloïdogénèse et une neurodégénération moins sévère chez les femmes.

Les effets de la MH observés en préclinique sont moins retrouvés chez les patients, en raison sans doute d'une pathologie dégénérative déjà avancée dans notre cohorte clinique et du fait d'un rôle de la dysfonction vasculaire plutôt en amont du processus neurodégénératif dans la MA.

Une partie de ce travail a fait l'objet d'une publication, portant sur la mise au point du modèle et sa caractérisation fonctionnelle précoce. Et deux autres articles sont en cours de préparation. Le premier portera sur l'approche translationnelle de l'effet de MH dans notre modèle préclinique de souris femelles, et dans notre base de données de patients atteints de la MA. Le deuxième portera sur la comparaison des résultats entre le sexe mâle et le sexe femelle.

A. Microhémorragie : un impact cognitif différentiel selon la condition pathologique et le temps

1. MH : acteur du déficit cognitif

Dans notre modèle animal, la MH agit en tant que véritable acteur du déclin chez les souris sans pathologie sous-jacente, dès la phase précoce, et l'effet persiste à moyen et long terme, suggérant un mécanisme constamment actif. Tandis que chez les souris en condition pathologique, la MH a exercé son rôle surtout en phase précoce.

a. En condition saine, sans pathologie sous-jacente

En effet, chez les souris sans pathologie sous-jacente, l'altération de la mémoire de travail a été observée à court terme après la chirurgie. La mémoire de travail met principalement en jeu le cortex préfrontal ainsi que le cortex pariétal pour la mémoire de travail plutôt spatiale (Gisquet-Verrier, 2006; Hamilton et Brigman, 2015; Jones, 2002). La lésion MH induite se situait au niveau du cortex pariéto-frontal. L'altération cognitive occasionnée par la MH pourrait donc être expliquée par des phénomènes locaux, telles que la rupture de la BHE (Sweeney et al., 2018), et une inflammation locale (He et al., 2016) Cet effet sur la mémoire de travail ne persiste pas à moyen et à long terme, suggérant la mise en place de mécanismes de réparation/compensation.

Un corrélat translationnel de l'effet local de MHs en condition saine pourrait être fait chez l'homme. Un déficit de l'attention, élément indispensable de la mémoire de travail, a été

observé chez les sujets sains présentant des MHs, probablement en rapport avec une réduction du flux sanguin cérébral (Gregg et al., 2015). La réduction du flux sanguin pourrait également être en lien avec des phénomènes locaux d'hypoperfusion induite par la MH (Kisler et al., 2017).

L'impact de la MH chez les souris saines a persisté dans le temps. La mémoire de reconnaissance était altérée en sa présence. La mémoire de reconnaissance fait référence à la mémoire à long terme explicite chez les rongeurs, et modélise la mémoire épisodique chez l'homme. Elle met en jeu les structures parahippocampiques, le cortex entorhinal, et la zone périrhinale (Cohen et Stackman, 2015; Hammond et al., 2004). En tenant compte de la localisation de notre lésion MH induite, qui n'était pas hippocampique, cette altération pourrait être en lien avec des phénomènes régionaux provoqués par les MHs (Ungvari et al., 2017), qu'il s'agisse d'une interruption de la connectivité (Heringa et al., 2014), ou d'une hypoperfusion plus régionale (Kisler et al., 2017). De plus, l'altération de cette mémoire a été observée à partir du sixième mois après la lésion, suggérant qu'un certain délai soit nécessaire pour que ces phénomènes régionaux parviennent à se traduire par une atteinte de la cognition. Le fait que l'altération ait persisté et se soit aggravée dans le temps, jusqu'à douze mois après la chirurgie plaide également en faveur d'un phénomène continu, dépassant progressivement les « capacités de réparation » de la souris saine. En plus de l'effet sur la cognition, le niveau d'anxiété était également augmenté chez ces souris. Même si une augmentation du niveau d'anxiété avait été observée en parallèle au vieillissement de la souris (Fahlström et al., 2011; Walf et Frye, 2007), cet effet semble se majorer en présence de MH chez les souris saines âgées de quinze mois.

De manière translationnelle, chez les sujets sains, il a également été noté une altération de la mémoire épisodique verbale en présence de MHs (Heringa et al., 2014; X. Li et al., 2017; Qiu et al., 2010). En ce qui concerne les atteintes non cognitives des MHs chez les sujets sains, aucun signe d'anxiété n'a été mis en évidence en présence de MHs, mais des symptômes dépressifs semblaient être associés à ces lésions (Feng et al., 2014).

Les perturbations locales ou régionales engendrées par la MH n'ont eu que très peu d'impact sur le volume cérébral ainsi que sur son métabolisme chez les souris saines, sauf en fin de suivi. L'atrophie corticale observée en présence d'une MH, plaide également en faveur d'un processus délétère actif et persistant de la MH d'autant que la neurodégénérescence est un phénomène lentement progressif. Les données chez l'humain concernent plutôt le volume hippocampique, qui serait plus atrophié chez les sujets âgés sains en présence de MHs lobaires (Chowdhury et al., 2011).

b. En condition pathologique de la MA

Chez les souris en condition pathologique avec la mutation du gène d'APP, la MH a exercé un effet direct majeur sur la cognition en phase précoce, probablement en amont de la cascade amyloïde.

Il est intéressant de constater que les souris transgéniques ont d'emblée présenté une altération marquée de la mémoire de reconnaissance, à six semaines après la chirurgie. D'après la description de la lignée, la mémoire de reconnaissance est altérée dès deux mois de vie, soit bien avant les phénomènes de dépôts amyloïdes (Harris et al., 2010; Webster et al., 2014), ce qui suppose la survenue de phénomènes de neuroinflammation induits par des oligomères A β bien avant même l'apparition des dépôts amyloïdes vers le cinquième mois (Wright et al., 2013). L'impact direct de la MH s'ajoute à cette altération basale, peut-être par un double effet vasculaire (Kisler et al., 2017), à la fois local avec la neuroinflammation, et locorégional et général par rupture de la BHE et majoration du stress oxydant (Ungvari et al., 2017). Il est par ailleurs probable que cet effet vasculaire soit entretenu par la pathologie sous-jacente, la rupture de la BHE contribuant possiblement à une dysrégulation de la clairance amyloïde, et en définitive à la genèse d'une cascade de neurodégénérescence (Sweeney et al., 2018)).

Sur le plan comportemental, la présence de MH chez les souris en condition pathologique était également associée à une diminution du niveau d'anxiété, à six semaines après la chirurgie. Il n'a pas été noté de lien entre le niveau d'anxiété et la présence de MH chez les patients dans les études cliniques (Xu et al., 2017).

Dans la partie clinique de notre étude, nous avons montré que la MH ne semblait plus jouer son rôle d'acteur en condition pathologique chez les patients. En effet, la présence d'au moins une MH ne modifiait pas le score du premier MMSE ni le déclin du MMSE dans le temps. Ce résultat pourrait être mis en parallèle avec l'absence d'effet de la MH chez les souris transgéniques à un stade d'évolution avancé, sûrement en partie expliqué par le poids de l'impact des lésions neurogénératives, comme on le voit dans notre modèle préclinique, avec un effet du transgène qui devient de plus en plus prégnant au cours du temps. Néanmoins, nos résultats sont à modérer par certaines considérations.

En effet, les patients inclus dans notre étude étaient en moyenne âgés de moins de 65 ans au début des premiers signes, ce qui représente un groupe de malades jeunes pour la MA. Dans la plupart des études, les patients étaient âgés de plus de 70 ans. C'est le cas par exemple de l'étude de Goos qui a montré un impact sur la cognition (Goos et al., 2009). Les MHs pourraient avoir un impact sur la cognition variable selon l'âge. Ainsi, une méta-analyse ayant inclus des sujets sains, des sujets sains à risque et des patients atteints de MA, a montré que les MHs alté-

raient la cognition des patients âgés de 70 à 80 ans, de 80 à 90ans, mais pas celle des patients de plus de 90 ans (X. Li et al., 2017).

Le critère de jugement principal dans notre étude était le score de MMSE. Il est légitime de se questionner sur la pertinence de ce critère. Une méta-analyse n'a pas réussi à montrer de relation significative entre l'existence de MHs et le score de MMSE (Sepehry et al., 2016b). Les autres paramètres évalués en neuropsychologie, tels que les fonctions exécutives, ou les fonctions visuo-spatiales n'ont été incluses que dans deux études (Goos et al., 2009; Pettersen et al., 2008). Chez les sujets sains, les MHs avaient un impact au niveau de la cognition globale, et surtout au niveau des fonctions exécutives (Wu et al., 2014). Le MMSE peut ainsi manquer de sensibilité en omettant d'explorer réellement ce domaine (Folstein et al., 1985). Chez les patients avec des TCL, le test de la MOCA était plus sensible pour détecter un déclin cognitif que le test du MMSE (Trzepacz et al., 2015).

Dans notre travail, le nombre de patients avec au-moins une MH était de 56, et moins de la moitié avait plus d'une MH, ce qui peut limiter l'interprétation des données. Dans l'étude qui a montré un impact des MHs sur la cognition des patients, le nombre de MHs était supérieur à huit, ce qui impliquait une charge lésionnelle vasculaire plus importante (Goos et al., 2009). D'une manière similaire, une étude chinoise a montré que le risque des TCL chez des patients hypertendus était devenu significativement différent à partir de cinq MHs (Zhang et al., 2018). Les résultats sur l'impact cognitif des MHs chez les patients atteints de la MA sont beaucoup plus controversés que ceux chez les sujets sains (Sepehry et al., 2016b). Néanmoins, ces études sont en générale transversales cas-témoin. Les études longitudinales sont plus rares, et ne mettent en évidence aucun impact des MHs sur le déclin cognitif dans le temps (Van Der Vlies et al., 2012). Nos résultats s'avèrent donc relativement concordants avec les études antérieures lorsqu'on compare les patients qui présentaient au-moins une MH à ceux qui n'en présentaient pas (Benedictus et al., 2013; Nakata-Kudo et al., 2006; Pettersen et al., 2008; van Assema et al., 2012; Van Der Vlies et al., 2012). Chez les patients atteints de la MA, il pourrait donc exister un effet seuil des MHs sur la cognition.

Par ailleurs, tel qu'évoqué précédemment, l'effet des MHs serait probablement double, locorégional et dépendant de la pathologie sous-jacente. L'effet locorégional s'étudie par une évaluation précise de la localisation des MHs (pariétal, occipital ou temporal). En raison du faible effectif, il n'a pas été possible dans notre étude d'affiner notre analyse du déclin cognitif, en fonction de chaque lobe cérébral, contrairement aux études chez les sujets sains (Chung et al., 2016).

L'effet en lien avec la pathologie sous-jacente s'étudie par le caractère lobaire ou non lobaire des MHs. Dans notre étude, la plupart des MHs étaient localisés au niveau lobaire (92,9%), ce qui est concordant avec les autres études chez les patients atteints de MA (Goos et al., 2009; Nakata-Kudo et al., 2006; Pettersen et al., 2008). La localisation préférentiellement lobaire suggère une association entre la pathologie vasculaire et la pathologie amyloïde et concorde pour un effet propre des MH qui s'ajoute à l'effet des lésions neurodégénératives.

Le score médian de MMSE lors du diagnostic de la MA chez nos patients était de 20,1 points, ce qui est à la frontière du stade léger/modéré. Même si ce score correspond à celui des patients inclus dans des études antérieures (Sepehry et al., 2016b), il se pourrait que l'effet des MHs se produise bien en amont. Dans une étude japonaise ayant inclus des sujets sans maladie neurologique apparente, recrutés à partir d'une base de données de service de neurologie, et âgés en moyenne de 56 ans, les personnes ayant un score de MMSE inférieur à 27 avaient significativement 2 MHs de plus que les personnes ayant un score de MMSE supérieur à 27 (Yakushiji et al., 2008). Mais la différence n'était plus significative lorsqu'on analysait le score de MMSE en fonction de la présence ou non d'une MH.

La présence d'au-moins une MH ne modifiait pas l'expression des biomarqueurs classiques de la MA dans notre cohorte clinique (atrophie hippocampique, augmentation de la protéine Tau totale ou phospho-tau, et diminution d'A β 1-42 dans le LCS). Certaines études suggèrent que l'expression des biomarqueurs du LCS serait influencée par la présence de MH, notamment lorsque leur nombre dépasse 6. Les taux des biomarqueurs sont d'autant plus perturbés que le nombre de MHs est élevé (Shams et al., 2016). Dans l'étude longitudinale d'Amsterdam, le taux d'A β 1-42 et le volume hippocampique étaient abaissés chez les patients (âgés en moyenne de 71 ans) présentant des MHs (Van Der Vlies et al., 2012). Le faible nombre de patients concernés par une MH et leur faible nombre (20% des patients avec au-moins une MH, peut être en raison de leur jeune âge) expliquent peut-être cette absence d'effet propre de la MH dans notre étude.

2. MH : collaborateur du déficit cognitif

En condition pathologique notamment, la MH ajoute certainement à son rôle propre, un rôle de collaborateur dans le déclin cognitif.

a. Dans le modèle préclinique

A long terme, nous avons observé un déficit cognitif majeur chez les souris en condition pathologique et sans MH, c'est-à-dire porteuses de la mutation du gène APP, associé à une atro-

phie corticale et hippocampique et une altération du métabolisme. La mémoire de reconnaissance était profondément altérée. Pour le test de reconnaissance du nouvel objet, qui évalue la mémoire de reconnaissance et qui est basé sur la curiosité spontanée du rongeur pour l'exploration d'un nouvel objet par rapport à un objet familier, sans avoir recours à un système de récompense (Grayson et al., 2015), seul un tiers des souris transgéniques APP SHAM ont validé le critère d'analyse pendant la phase d'habituation (c'est-à-dire explorant les deux objets pendant au moins 20 secondes). En tenant compte de la diminution de la locomotion et de l'augmentation du niveau d'anxiété, que ce soit en présence ou l'absence de MH, la faible proportion des souris ayant validé l'étape de l'habituation pourrait être expliquée par une certaine apathie chez ces souris transgéniques âgées. L'anxiété fait partie des symptômes fréquemment observés chez les patients atteints de la MA, et ce, dès le début de la maladie (Holtzer et al., 2005). Aucune association n'a cependant été mise en évidence entre le niveau d'anxiété chez les patients atteints de la MA et la présence de MH (Xu et al., 2017). De la même manière que chez les sujets sains, la dépression serait quant à elle plus fréquemment observée chez les patients atteints de MA et présentant des MHs (Leeuwis et al., 2018). L'apathie par ailleurs est un signe clinique fréquent chez les patients atteints de la MA, tous stades confondus (Robert et al., 2004).

A cette période de vie (15 mois), les lésions caractéristiques de dépôts amyloïdes sont déjà solidement ancrées dans le parenchyme cérébral (Karl et al., 2012). Dans ce contexte, l'effet propre de la MH, a été probablement intégré dans un ensemble de processus de neurodégénérescence. En effet, la MH ne s'accompagnait d'aucun effet additionnel sur le déclin de la mémoire de reconnaissance à douze mois de suivi. Par ailleurs, les souris transgéniques ont une altération tellement sévère de la mémoire de reconnaissance à quinze mois que le déclin provoqué par la MH ne peut plus être mis en évidence par ce test. Enfin, une autre explication pourrait être l'effet « plancher » que nous pouvons observer en pratique clinique chez les patients (Dupont et al., 2008).

b. Dans l'étude clinique

De la même manière que dans le modèle préclinique, nos observations cliniques ont montré que les MHs ne sembleraient pas jouer un rôle en tant qu'acteur du déclin chez les patients avec une MA, mais plutôt un rôle en tant que collaborateur dans un cadre plus large de dysfonction vasculaire dans la MA. Le début des signes cognitifs était plus tardif de 7 ans dans le groupe des patients présentant des MHs. Compte tenu de la dysfonction vasculaire concomitante observée, ce début de signes plus tardif pourrait être expliqué par la prise en charge précoce de ces facteurs vasculaires.

En effet, les patients présentant des MH étaient plus fréquemment hypertendus et bénéficiaient davantage d'un traitement antihypertenseur. L'HTA est un FRDV statistiquement associé aux MHs profondes (Yubi et al., 2018). Dans une autre méta-analyse, il n'a pas été mis en évidence d'association entre les MHs et l'HTA chez les patients atteints de MA (Sepehry et al., 2016a). Dans d'autres cohortes, les MHs étaient associées à une plus grande prévalence d'HTA, lorsque celles-ci étaient situées dans des territoires mixtes (lobaires ou profonds) (Yakushiji et al., 2011), lorsque l'analyse était effectuée en prenant en compte les maladies cardio-vasculaires (Nakata-Kudo et al., 2006), ou lorsque les auteurs n'avaient pas distingué les différentes localisations des MHs (Benedictus et al., 2013). L'association entre l'HTA seule et les MHs de localisation lobaire ne fait pas consensus. Certaines études ne mettent en évidence aucune relation (Pettersen et al., 2008; Vernooij et al., 2008) tandis qu'une équipe suggère l'existence d'un lien entre HTA et MH situées sur le territoire de l'artère cérébrale postérieure (Jia et al., 2014).

Dans notre étude, nous n'avons pas décrit systématiquement le territoire concerné par les MHs. Néanmoins, la prévalence plus élevée d'hypertension dans notre étude suggère une association entre la dysfonction vasculaire et la pathologie Alzheimer, et notamment sa composante amyloïde. En effet, l'hypertension chronique induit progressivement un épaissement des fibres de collagène au niveau de la paroi des vaisseaux, puis une diminution de la lumière, une perte progressive des muscles lisses, et une exsudation de fibrine (Pantoni, 2010). Ces anomalies locales ont pour conséquence une diminution de la compliance vasculaire, une hypoperfusion, une dysfonction de l'unité neuro-vasculaire, ce qui peut à terme contribuer à la diminution de l'A β périvasculaire et favoriser de manière synergique l'apparition des MHs dans le cadre d'une pathologie amyloïde en lien avec un dépôt excessif d'a bêta au niveau de la paroi des vaisseaux. Ces dépôts fragilisent à leur tour les vaisseaux et altèrent la barrière hématoencéphalique. Ainsi s'installe un mécanisme lésionnel en mesure de s'auto entretenir (Charidimou et al., 2017). Dans notre étude, le groupe des patients qui avaient au moins une MH à la première IRM était associé à une augmentation plus importante de MHs à la deuxième IRM. Dans la littérature, le nombre de MH initial serait également prédictif d'une augmentation du nombre de MH lors du suivi sur une année (Kantarci et al., 2013; Yates et al., 2014), ce qui renforce l'hypothèse d'un auto-entretien des lésions.

Le retard de signes cliniques chez les patients avec MHs persistait après réajustement sur l'HTA et les antihypertenseurs, ce qui suggère la participation d'autres composantes. En effet, la dysfonction vasculaire dans notre étude se manifeste également par des lésions majeures de la SB-PV. La plupart des études ont mis en évidence une association entre le nombre de MHs et la sévérité de lésions de la SB, notamment PV, que ce soit au sein de cohortes de patients ou de

cohortes de sujets sains (Kim et al., 2015; Nakata-Kudo et al., 2006; Pettersen et al., 2008; Van Der Vlies et al., 2012; Vernooij et al., 2008; Yakushiji et al., 2011; Yang et al., 2015). Les lésions de la SB sont également le reflet de la maladie des petites artères et représentent un facteur de risque d'évolution vers la MA (Bos et al., 2018), en particulier les lésions de la SB-PV (Kim et al., 2015). Cette différence peut être expliquée par une densité de fibres associatives et de fibres cholinergiques plus élevée dans la zone PV. Histologiquement, les lésions PV sont plus liées à une raréfaction de la myéline (Schmidt et al., 2011), une gliose inflammatoire, alors que les lésions sous-corticales (SC) sont davantage des lésions ischémiques focales.

Par ailleurs, dans notre étude, les patients qui présentaient des MHs étaient davantage concernés par des ATCD d'AVC et l'administration de traitements antiagrégants plaquettaires. Dans la littérature, les MHs sont également associées à des lésions ischémiques cérébrales (Benedictus et al., 2015). Cette association témoigne bien de la dysfonction vasculaire qui concerne nos patients.

Enfin, notre observation sur le retard des signes en présence de MHs pourrait aussi être expliquée par une présentation de la maladie plutôt dysexécutive en présence de lésions vasculaires, les signes dysexécutifs appelant moins souvent à consulter un centre mémoire que les signes amnésiques (Bruandet et al., 2009).

Au total, les effets des MHs selon la condition saine ou pathologique ont été résumés dans le tableau 22.

	Rôle d'acteur	Rôle de collaborateur
Condition saine	<u>Modèle murin :</u> Altération cognitive et non cognitive à court, moyen et long terme	
Condition pathologique	<u>Modèle murin :</u> Altération cognitive et non cognitive à court terme, puis stable dans le temps	<u>Modèle murin :</u> Impact plus global et profond de la mutation du gène d'APP, sans distinction de l'effet MH
	<u>Etude clinique :</u> Nos données n'ont pas permis de le démontrer (limitées par plusieurs facteurs, tels que l'âge, le nombre seuil de MHs, etc)	<u>Etude clinique :</u> Retard des premiers signes cliniques dans le cadre d'une prise en charge plus globale de la dysfonction vasculaire

Tableau 22: Résumé des effets des MHs en fonction de la condition. APP : protéine précurseur de l'amyloïde

3. MH, dysfonction vasculaire, MA : approche originale et limites

Notre modèle est original par le suivi multimodal proposé à chaque temps d'évaluation. L'évaluation multimodale comprenait une batterie assez complète de test comportementaux, permettant d'évaluer les effets locaux et à distance de la MH, ainsi que des perturbations non cognitives. Parmi les différents modèles de MH décrits dans la littérature, rares sont ceux ayant proposé une évaluation cognitive aussi complète que celle que nous avons réalisée (He et al., 2016; Sudduth et al., 2017). De plus, aucune étude disponible dans la littérature n'a, à notre connaissance, proposé une évaluation systématique par IRM et par TEP lors du suivi des modèles animaux présentant des MHs. D'ailleurs, grâce aux données de ces deux examens, nous avons pu constater que les perturbations locales ou régionales engendrées par la MH n'ont eu que très peu d'impact sur le volume cérébral ainsi que sur son métabolisme chez les souris saines et transgéniques, ce qui permettra de préciser les mécanismes de l'impact de la MH.

Notre modèle est pertinent. Ce modèle permet l'étude des effets propres de la MH chez des souris sans pathologie sous-jacente, ainsi que les effets en lien avec la pathologie amyloïde

chez des souris transgéniques. Le geste stéréotaxique est reproductible et s'avère être bien toléré aussi bien chez les souris WT que chez les souris transgéniques.

Notre groupe témoin présente l'avantage d'être comparable au groupe avec MH, à l'exception de la nature du produit injecté. L'injection du sérum physiologique permet de s'affranchir des potentiels biais consécutifs au traumatisme occasionné par la chirurgie, l'hippocampe ipsilatéral à la chirurgie étant souvent plus volumineux que l'hippocampe controlatéral. Dans notre étude, nous avons observé un volume cortical et hippocampique plus élevé du côté de la chirurgie, pour tous les groupes à court et à moyen terme. Cette augmentation pourrait être un effet œdémateux de la chirurgie, puisqu'à long terme, ce volume est devenu plus petit. Il n'y a pas eu pas d'étude dans la littérature sur l'évolution d'un éventuel œdème à long terme, suite à une incision minimale, comme c'est le cas dans notre modèle. Néanmoins, certains modèles de trauma crânien chez la souris qui ont recours à une procédure chirurgicale stéréotaxique, mais avec une aiguille plus large que le nôtre ont bien induit un œdème à court terme (Yang et al., 2018). Cet œdème était observé jusqu'à 5 mois après la chirurgie, mais il s'agissait des lésions bien plus larges (Chen et al., 2018). De plus, il a été démontré qu'une anesthésie était également en mesure d'induire une rupture de la BHE (Yang et al., 2017), ce qui pourrait aussi expliquer les différences observées dans notre modèle.

Aucune différence n'a été observée sur la locomotion. Aucune donnée n'était à ce jour disponible concernant l'impact des microhémorragies sur l'activité locomotrice des rongeurs mais dans la littérature, il a été mis en évidence une diminution de la motricité transitoire dans le modèle de macrohémorragies chez les souris (MacLellan et al., 2009; Nakamura et al., 2004), ce qui confirme que notre modèle est différent de celui des macrohémorragies. De plus, l'absence d'impact sur l'activité motrice rend pertinent l'analyse de la cognition, sans biais liés à des troubles moteurs.

Pour la TEP au FDG, nous n'avons pas pu appliquer le même masque de découpage de zones du cerveau que lors de la mise au point, en raison d'une trop grande quantité de données d'imagerie à analyser. L'ancien découpage permettait une étude plus fine du métabolisme du cerveau, notamment au niveau du gyrus denté, du striatum et du thalamus (Bergeron et al., 2018). De plus, le post traitement des images de la TEP n'a pas été réalisé par les mêmes logiciels et ingénieurs, que ceux lors de la mise au point du modèle.

Dans l'étude clinique, l'IRM cérébrale était dans la majorité des cas réalisée dans un champ de 3 Tesla, permettant la réalisation d'images de meilleure définition. Les MHs sont détectées classiquement grâce à la séquence T2 écho de gradient, mais peuvent également être visualisées avec plus de précision par la séquence SWI (susceptibility-weighted imaging). La sé-

quence SWI offre une résolution spatiale plus grande. Les coupes sont d'une épaisseur plus fine, permettant de détecter les MHs de plus petite taille (Denk et Rauscher, 2010). Une étude récente estime la prévalence des MHs chez les patients atteints de la MA aux alentours de 68%, à l'aide de la technique SWI en IRM 3T (Bassellerie et al., 2017). Il est recommandé d'homogénéiser le type de protocole utilisé en IRM pour obtenir des résultats pertinents (Sepehry et al., 2016a). Notre étude n'était pas une cohorte, et tous les patients n'ont donc pas bénéficié du même protocole d'imagerie. Néanmoins, étant donné que les IRMs avaient quasiment toutes été réalisées sur le même site, la plupart des MHs ont été détectées à l'aide de l'IRM 3T, et la séquence T2 écho de gradient, ce qui permet une analyse assez fiable des données.

En conclusion de cette première partie, l'effet de la MH sur la cognition ainsi que sur les biomarqueurs est à apprécier en fonction du délai entre l'apparition de la MH et les premiers signes cliniques. Grâce à la combinaison des données précliniques et cliniques, nous arrivons à la conclusion que la MH exercerait un effet propre et un effet en lien avec la pathologie amyloïde. Les effets propres de la lésion à échelle locorégionale sont loin d'être négligeables, comme cela est montré en condition saine. Ils sont notamment à l'origine d'un déclin de la mémoire non réversible. Les effets de la MH en condition pathologique sont sans doute très précoces, et ne sont plus mis en évidence chez les patients avec une MA déjà symptomatique en raison du poids des lésions neurodégénératives. La dysfonction vasculaire dont la MH serait le marqueur semble donc être un phénomène dynamique, et surtout pré-symptomatique.

B. L'effet de la modulation pharmacologique par atorvastatine sur la microhémorragie : une neuroprotection au-delà de l'effet hypolipémiant

Nous avons choisi l'atorvastatine pour ses propriétés lipophiles (Duriez, 2003). La dose de 5mg/kg/j a été retenue en se basant sur les données de la littérature (Zhang et al., 2013). Cette dose est plus élevée que celle utilisée chez les humains (1.1 mg/kg par jour même pour la dose la plus élevée d'atorvastatine à 80mg/j), mais s'avère en concordance avec les données de pharmacocinétique disponibles sur le métabolisme de l'atorvastatine chez les rongeurs (Dostal et al., 1996).

1. Statines : modulateur des effets de la MH

Dans la première partie de la discussion, nous avons pu montrer que la MH exerçait un rôle d'acteur dans le déclin cognitif qui persistait dans le temps chez les souris saines, et qui affectait uniquement la phase précoce chez les souris pathologiques. De manière intéressante,

l'administration d'atorvastatine a un impact sur ce déclin, principalement durant la phase précoce chez les souris saines et pathologiques.

Cette amélioration pourrait corroborer l'hypothèse des altérations locales liées à la MH qui seraient des cibles d'intervention des effets pléiotropes des statines. Par exemple, le MMP9 est un des marqueurs de l'inflammation causée par les MHs (Duits et al., 2015). L'effet anti-inflammatoire des statines passe notamment par la diminution de MMP9 (Rosenson et al., 1999). La MH en altérant la BHE, pourrait être à l'origine d'une dysfonction endothéliale et d'une hypoperfusion (Sweeney et al., 2018). L'atorvastatine peut permettre l'amélioration de la fonction endothéliale (Endres et al., 1998), et une augmentation du flux sanguin cérébral (Cucchiara et Kasner, 2001; Sahebkar et al., 2015). De plus, les statines sont impliquées dans le recrutement de certaines protéines de signalisation mises en jeu par la fonction synaptique et intervenant dans la formation de la mémoire (Mizuno et al., 2002; Sanna et al., 2002).

En revanche, l'effet neuroprotecteur de l'atorvastatine n'a pas persisté dans le temps alors que le taux de cholestérol total était bien diminué dans notre modèle. Une équipe a administré pendant 14 mois un traitement par atorvastatine à 80mg par jour à des chiens de race Beagle (Murphy et al., 2010). Aucun effet bénéfique sur la cognition n'aurait été mis en évidence, alors que le taux de cholestérol était notablement diminué. Il est probable que les statines aient un effet moindre sur les cerveaux âgés. Une étude a d'ailleurs suggéré un effet plutôt délétère de l'atorvastatine à long terme sur la mémoire spatiale. Après sept mois d'administration d'atorvastatine par gavage chez des souris WT exemptes de lésion, a été constatée une altération de la mémoire de référence spatiale avec altération des fonctions synaptiques en lien avec l'homéostasie membranaire cholestérol-dépendante (Schilling et al., 2014).

Par ailleurs, l'impact d'atorvastatine chez les souris APP confirme l'effet du traitement sur la cascade amyloïde. Dans la littérature, l'atorvastatine et la simvastatine par exemple, inhibent la dimérisation du complexe de bêta site APP – β sécrétase. Il s'agit d'une enzyme qui favorise la voie amyloïdogénique des protéines précurseurs de l'amyloïde (APP). En diminuant sa présence et en inhibant son activité (Murphy et al., 2010; Parsons et al., 2006), les statines pourraient contribuer à une diminution des dépôts amyloïdes. De plus, le cholestérol intervient dans le clivage d'APP, en promouvant le clivage par β et γ sécrétases (Ehehalt et al., 2003). La réduction du taux du cholestérol intracérébral par les statines permet en quelque sorte de diminuer la voie amyloïdogénique en interagissant moins avec les β et les γ sécrétases (Silva et al., 2013). Dans une étude de culture cellulaire, l'administration d'une petite dose de lovastatine a induit une augmentation de l'activité de α -sécrétase, qui stimule la voie non-amyloïdogénique (Höglund et al., 2005). Dans une autre étude chez des souris de la lignée APP/PS1 de 9 mois, les

auteurs ont observé une amélioration de la mémoire de référence spatiale et de la mémoire de reconnaissance en présence d'un traitement par atorvastatine administré à 10mg/kg pendant 3 semaines, avec une diminution du niveau d'a bêta par diminution de β sécrétase (Zhou et al., 2016).

Par ailleurs, une neuroinflammation et une perte neuronale précèderaient les dépôts amyloïdes chez les souris de la lignée J20 (Wright et al., 2013). L'effet bénéfique des statines sur la cascade amyloïde pourrait également s'expliquer par une diminution de l'inflammation. Dans un modèle d'injection d'A β chez le rat, les auteurs ont mis en évidence une diminution de marqueurs d'inflammation (IL-1 β , IL-6, et TNF- α), accompagnée d'une amélioration de la mémoire de travail (Zhang et al., 2013).

A partir du sixième mois après la chirurgie, soit à neuf mois de vie, il n'y avait plus aucun effet de l'atorvastatine sur la cognition, alors que l'effet hypolipémiant était toujours présent. Il semblerait que la cascade amyloïde chez cette souche transgénique J20 ne puisse plus être modulée par l'atorvastatine. La lignée J20 est en effet caractérisée par un dépôt de plaques amyloïdes bien plus important que les autres lignées porteuses de mutations d'APP (Mucke et al., 2000).

L'effet des statines sur les lignées transgéniques des rongeurs reste néanmoins discuté dans la littérature, à la fois d'un point de vue mécanistique et en ce qui concerne leur impact sur la cognition (Barone et al., 2014). Ces différences observées s'expliquent probablement par la diversité des statines utilisées, la chronologie de l'introduction du traitement, la durée d'exposition, le type de modèle animal utilisé (ayant une lésion ou pas, ayant une hypercholestérolémie ou pas, le type de souche transgénique).

L'équipe de Kurinami par exemple a montré qu'un pré-traitement par fluvastatine (5mg/kg/jour) administré avant l'injection stéréotaxique d'A β pouvait améliorer la mémoire visuo-spatiale et diminuer le niveau de stress oxydant ainsi que les dépôts amyloïdes. Cependant, si le traitement par statines était débuté après l'injection, aucun effet n'était mis en évidence (Kurinami et al., 2008).

Nos résultats sont concordants avec une étude portant également sur les souris de la lignée J20, sans lésion induite (Tong et al., 2009). Les auteurs avaient proposé l'administration de simvastatine (20mg/kg/j) pendant deux mois. Ils avaient constaté une amélioration de la réactivité des artères cérébrales, une restauration du flux sanguin cérébral, une atténuation du stress oxydant et de l'inflammation, ainsi qu'une diminution du nombre de neurites dystrophiques en lien avec les plaques A β . Cependant, chez ces souris âgées de dix mois, les auteurs n'ont pas réussi à mettre en évidence d'amélioration au niveau comportemental, ni au niveau des dépôts amyloïdes (Tong et al., 2009).

Chez les souris d'une autre lignée (Tg2576), les résultats obtenus étaient différents. Les auteurs ont administré conjointement atorvastatine (30 mg/kg/j) et pitavastatine (3mg/kg/j) chez des souris femelles transgéniques de la lignée Tg2576 du 5^{ème} mois au 20^{ème} mois de vie. Ils ont montré une amélioration de la mémoire de référence spatiale, accompagnée d'une réduction du nombre de plaques amyloïdes et du taux d'hyperphosphorylation de Tau, à partir du 15 et du 20^{ème} mois de vie (Kurata et al., 2011).

Dans une étude chez les souris de la lignée APP23, qui est un modèle de la MA et de l'angiopathie amyloïde cérébrale (caractérisées par le développement de MHs de manière spontanée), l'administration chronique d'atorvastatine (10mg/kg/j) était associée à une diminution significative des MHs après 24 mois de traitement (Reuter et al., 2016).

Au niveau comportemental, même si l'administration d'atorvastatine ne s'accompagnait d'aucun impact sur la cognition à douze mois après la chirurgie, le pourcentage des souris traitées ayant validé l'étape d'habituation du test de reconnaissance d'objet était quant à lui amélioré. La totalité des souris APP MHC AT avait validé l'étape d'habituation du test alors que seule un tiers des souris APP SHAM et deux tiers des souris APP MHC l'avaient validé. De plus, le nombre d'essais total ainsi que le nombre total de corrections au Touchscreen[®] étaient plus élevés dans le groupe APP MHC+AT. Ces différences pourraient refléter un effet positif de l'atorvastatine sur l'apathie observée chez les souris transgéniques lésées. D'un point de vue clinique, alors que les statines chez les patients atteints de la MA au stade léger à modéré n'avaient pas d'impact sur la cognition, elles auraient néanmoins un effet bénéfique sur l'autonomie des patients (Capisizu et al., 2017).

A notre connaissance, aucune autre étude portant sur la modulation des statines chez des souris porteuses de MH et sans pathologie sous-jacente, n'est disponible dans la littérature. Dans une étude de 2009, les auteurs ont mis en évidence un effet bénéfique de la simvastatine sur la mémoire de référence spatiale chez des rongeurs ayant subi un traumatisme cérébral (Abrahamson et al., 2009). Pour des modèles de MHs, seule une autre étude a proposé une modulation pharmacologique par chélateur de fer, ayant permis une amélioration de la mémoire de référence spatiale, accompagnée d'une inhibition d'activation microgliale, et d'une atténuation de perturbation de la BHE (He et al., 2016).

Pour ce qui est des études cliniques dans la littérature, notons qu'une équipe a proposé 6 mois de traitement par Atorvastatine à 80 mg par jour à des sujets sains âgés en moyenne de 50 ans. Sans parvenir à objectiver d'effet sur les tests neuropsychologiques, l'étude aurait toutefois, lors de tests en IRM fonctionnelle, mis en évidence une activité plus importante au niveau des précunéi en cas de traitement (Taylor et al., 2018).

2. Statines : modulateur de la dysfonction vasculaire et rôle de la neuroprotection en phase précoce de la MA

Nous n'avons pas observé de différence en terme de score de MMSE à la première visite au centre mémoire, ou au moment du diagnostic de la MA, ni de modification de la courbe du déclin cognitif une fois le diagnostic posé, entre les patients suivant un traitement par statines et les patients témoins.

En revanche, nous avons observé un recul du début de signes de la maladie d'environ trois ans chez les patients traités par statines. Le recul n'était plus significatif après réajustement sur le traitement de l'ensemble des facteurs, ce qui suggère que l'hypothèse la plus vraisemblable pour le recul du début des signes serait la prise en charge plus globale de la dysfonction vasculaire. Des études ont montré qu'un meilleur contrôle des FDRV permettait de retarder le début de la maladie (Deschaintre et al., 2009). Selon une récente méta-analyse, un tiers des cas de MA dans le monde pourrait être attribué à 7 facteurs modifiables, dont le niveau d'éducation bas, l'obésité en milieu de vie, l'hypertension en milieu de vie, le diabète, le manque d'activité physique, le tabac et la dépression (Norton et al., 2014). De plus, certains de ces traitements de FDRV, certains antihypertenseurs, antidiabétiques, possèdent des effets pléiotropes, à l'image des statines (Li et al., 2015; Marfany et al., 2018).

Les données paracliniques plaident également en faveur d'un rôle de statines dans la dysfonction vasculaire. Dans notre étude, les patients traités par des statines avaient des lésions de SB-PV plus étendues que les patients témoins lors de la première IRM. Les lésions sévères de SB-PV observées chez les patients traités par statines sont probablement en lien avec la prévalence plus importante chez ces mêmes patients de la majorité des FDRV (HTA, diabète, obésité, tabagisme). Une étude menée chez les sujets âgés de 75 ans en moyenne auxquels étaient administrées des statines depuis au moins 5 ans, avait mis en évidence chez ces patients une altération de la SB au niveau du genou du corps calleux, témoin de maladies cérébrovasculaires (Ramanan et al., 2018). Dans cette étude, le groupe de patients traités par statines était également caractérisé par une plus grande prévalence de FDRV.

Dans une étude chinoise, les auteurs ont proposé aux patients hypertendus un essai thérapeutique consistant en l'administration de rosuvastatine à raison de 10mg par jour pendant 5 ans. Une progression moins rapide de lésions de substance blanche était observée chez les patients traités. Aucune influence n'était cependant observée sur l'incidence des MH. L'étude ne proposait malheureusement pas d'évaluation cognitive (Ji et al., 2018).

Un ralentissement de la progression des lésions de SB a également été observé chez des patients aux antécédents d'AVC, traités par statines, pour lesquels un diagnostic de maladies des

petites artères était retenu (Xiong et al., 2014). Après 2 ans de suivi, l'augmentation du volume des lésions de SB était moins importante dans le groupe des patients traités par statines avant l'AVC par rapport au groupe témoin (sans traitement par statine). Une diminution moins rapide des fonctions exécutives était également observée (Xiong et al., 2014). Aucune différence n'était toutefois mise en évidence en termes d'incidence de nouvelles lacunes ou de MHs.

Par ailleurs, il ne serait pas aberrant de suggérer également un effet neuroprotecteur des statines dans la phase pré-symptomatique de la MA, au vu de nos résultats cliniques et surtout précliniques.

Dans la littérature, l'effet neuroprotecteur des statines dans la phase présymptomatique de la MA se traduit indirectement par le recul de l'incidence de MA chez les sujets à risque. L'administration de statines était associée à un déclin cognitif moins rapide chez les sujets avec des TCL de la base des données ADNI, sur l'évaluation du score ADAS13 (Smith et al., 2017). Une récente méta-analyse a mis en évidence que l'odd ratio d'une utilisation prolongée de statines était de 0,57 (IC 95% : 0,4-0,82) sur l'incidence de la MA (Larsson et Markus, 2018). De plus, dans une étude taïwanaise, l'introduction des statines au-moins un an avant le diagnostic de la MA de stade léger à modéré s'est accompagnée d'un ralentissement du déclin cognitif (Lin et al., 2015).

En revanche, nous n'avons pas pu stratifier nos données sur le statut du génotype d'APOE. D'après la littérature, le traitement par atorvastatine pourrait être bénéfique pour les patients au stade léger à modéré de la MA, si le traitement est introduit précocement, et en particulier chez les patients qui possèdent l'allèle $\epsilon 4$ de l'APOE et un niveau élevé du cholestérol (Sparks et Connor, 2006).

Pour ce qui est des biomarqueurs, nous n'avons pas observé d'effet du traitement par statines et le taux des biomarqueurs présents au niveau du LCS ($A\beta$ 1-42, Tau total et Phospho-Tau). Chez des sujets sains âgés entre 40 et 64 ans, le traitement par simvastatine à 40 mg par jour pendant un an était associé à une diminution du taux de phospho-Tau dans le LCS (Li et al., 2017; Riekse et al., 2006).

L'administration de statines ne semblait avoir aucun effet sur l'évolution de l'atrophie hippocampique. Nos données sont concordantes avec d'autres travaux disponibles dans la littérature (Doraiswamy et al., 2004). En revanche, l'utilisation de la simvastatine était associée à une atrophie cérébrale moins marquée chez les patients avec une sclérose en plaques de forme secondairement progressive dans un essai thérapeutique randomisé en double aveugle (Chataway et al., 2014)

3. L'action hypolipémiante des statines : preuve de l'effet, nos points forts et limites

Les souris transgéniques traitées par atorvastatine avaient un taux de cholestérol total significativement plus bas que les souris non traitées aux deux périodes de dosage, à un mois et demi et à douze mois après la chirurgie. Aucune différence significative n'était à l'inverse mise en évidence chez les souris saines à un mois et demi, mais le taux de cholestérol total diminuait lors du dosage douze mois après la chirurgie. L'équivalence de l'efficacité hypolipémiante des statines chez les hommes et chez les rongeurs a souvent été discutée, étant donné que les statines ont pour cible prioritaire le taux des LDL cholestérol chez les hommes, et que la composition principale des lipoprotéines plasmatiques chez les rongeurs est le HDL-cholestérol (Schonewille et al., 2016). Dans une étude recourant à des souris de la lignée transgéniques Tg2576, mimant la pathologie amyloïde, mâles et femelles, le taux de cholestérol total plasmatique était diminué trois semaines après le début du traitement par fluvastatine, et de manière similaire chez les souris mâles et chez les souris femelles (Park et al., 2003). Une étude chez les souris mâles WT a également montré une diminution du taux de cholestérol total après deux semaines de traitement par atorvastatine, rosuvastatine ou lovastatine (Schonewille et al., 2016).

Les différents degrés d'effet hypolipémiant chez les rongeurs dans les études sont certainement en lien avec le type de statines utilisés, le choix de l'animal, et la durée d'exposition.

Notre modèle présente l'avantage d'une administration chronique dans l'alimentation habituelle des rongeurs, ce qui évite les traumatismes liés au gavage répété. La limite de cette méthode est le doute sur la bonne prise du traitement et la posologie prise. La preuve de cette prise d'atorvastatine a été apportée de manière indirecte par le dosage du cholestérol. Le dosage du taux plasmatique des statines est techniquement complexe et n'est pas disponible en France. Pour une même dose de statines administrée, le taux plasmatique, quand il est réalisé, est très variable. De plus la relation entre le taux plasmatique de statines et le taux de cholestérol n'est pas nécessairement linéaire chez la souris (Thelen, 2005).

L'absence de diminution du taux de cholestérol à un mois et demi après le début du traitement chez les souris WT dans notre étude pourrait être expliquée par une sur régulation génique des ARNm d'HMG CoA au début du traitement. En effet, une étude portant sur les effets d'une administration ponctuelle de simvastatine et de pravastatine chez les souris mâles non transgéniques a montré une sur-expression génique d'HMG CoA, qui pourrait correspondre à un mécanisme d'adaptation physiologique (Thelen, 2005). D'ailleurs dans cette étude, aucune différence de taux plasmatique de cholestérol total n'a été mise en évidence après une courte période de traitement.

Dans notre étude clinique, plus de deux tiers des patients étaient sous statines lipophiles, et les autres étaient sous statines hydrophiles. La lipophilie des statines administrées aux patients n'était pas homogène. Dans la littérature, les statines lipophiles ont permis une réduction du risque de MA plus élevée que les statines hydrophiles (Larsson et Markus, 2018). Les études observationnelles sur les statines étaient principalement conçues pour diminuer le risque d'incidence de la MA chez les sujets à risque (Larsson et Markus, 2018). En revanche, les études portant sur l'effet des statines chez les patients atteints de MA n'ont pas mis en évidence de ralentissement du déclin cognitif (de Oliveira et al., 2017).

Une étude réalisée au sein de notre service de neurologie avait montré un déclin du MMSE moins rapide sous traitement hypolipémiant, quelle que soit la statine administrée (Masse et al., 2005). La population étudiée était cependant plus âgée en moyenne que la nôtre avec un âge moyen de 74 ans. De plus, l'étude avait inclus des patients suivis de 1992 à 2000, diagnostiqués selon les critères de NINCDS-ADRDA de 1984 (McKhann et al., 1984).

Dans notre étude, nous n'avons pas d'éléments sur la durée de l'administration des statines chez les patients en amont de leur inclusion dans la cohorte. De plus, il nous est difficile de vérifier la bonne observance d'un traitement dans le cadre d'une étude observationnelle rétrospective. Le dosage de cholestérol plasmatique aurait pu être un élément indirect, comme dans le modèle préclinique. Mais nous ne disposons pas de cette donnée.

En conclusion de cette deuxième partie, nos données suggèrent qu'il existe un effet neuroprotecteur des statines. Cet effet est variable en fonction du délai d'introduction par rapport à l'installation des lésions neurodégénératives dans la MA et/ou à l'apparition des lésions vasculaires en condition saine ou pathologique. Les effets bénéfiques cliniques seraient d'autant plus marqués que l'introduction des statines est précoce, avec un effet maximal lors d'une administration au stade présymptomatique chez les sujets à risque. Les statines, par leurs mécanismes d'action pléiotrope, permettent également de restaurer les troubles en lien avec les MHs, surtout dans le modèle expérimental. Leurs effets chez des patients avec des MHs s'intègrent dans une prise en charge plus globale de la dysfonction vasculaire dans la MA.

C. Les spécificités du sexe féminin : des effets compensatoires dans le modèle préclinique, et un profil vasculaire différent dans l'étude clinique

1. Le rôle de l'estradiol

a. Dans le modèle préclinique

La mémoire visuo-spatiale, en phase précoce, était paradoxalement meilleure en présence de MH chez les souris femelles saines et pathologiques. Ces résultats sont en contradiction par rapport à ce qui a été décrit dans notre modèle chez les souris mâles (Bergeron et al., 2018). De plus, la mémoire de reconnaissance n'était pas impactée par la MH en phase précoce chez les souris saines, et elle était paradoxalement meilleure chez les souris pathologiques avec MH à six mois de la chirurgie.

Ces résultats pourraient être expliqués par le rôle de l'estradiol. En effet, ce dernier pourrait exercer un effet de renforcement de la mémorisation hippocampique chez les souris saines. Les études antérieures ont mis en évidence une augmentation de la plasticité synaptique en présence d'œstradiol, associée à une amélioration de plusieurs formes d'apprentissage et de mémoire dépendant de l'hippocampe (Foy et al., 2008; Spencer et al., 2008).

L'estradiol pourrait être l'élément clé d'une éventuelle neuro-réparation. En cas de souffrance cérébrale lors d'un AVC, l'Esr α et l'aromatase augmentent en quelques heures autour de la zone d'infarctus. Dans le modèle d'occlusion de l'artère cérébrale moyenne chez les souris, l'administration d'un inhibiteur de l'aromatase augmenterait la zone de nécrose (Carswell et al., 2005). Un surcroît de mortalité par AVC a été observé dans le groupe des patientes traitées par le tamoxifène dans le suivi des cancers du sein (Breast International Group (BIG) 1-98 Collaborative Group et al., 2005), suggérant que l'absence de synthèse d'estrogènes endogènes rend plus difficile la réparation neuronale. Dans un modèle animal de MH provoquée par injection de lipopolysaccharides, les auteurs ont observé un nombre plus important de MH chez les souris mâles âgées (18 mois) que chez les souris femelles du même âge, ce qui suppose l'existence d'un phénomène anti-inflammatoire chez les souris femelles (Sumbria et al., 2018).

Dans notre étude, nous avons constaté de manière concomitante une sur-expression génique de l'ARNm des Esr α dans le cortex et de l'ARNm des Esr β dans l'hippocampe dans le groupe WT MHC comparativement au groupe WT SHAM. Nos résultats suggéreraient que le renforcement de la mémoire hippocampique chez les souris saines s'explique en partie par la voie des Esr β , d'autant que l'Esr β serait davantage impliqué dans la plasticité synaptique hippocampique que l'Esr α , et donc plus impliqué dans la mémoire dépendante de l'hippocampe (H. Liu et al., 2014). Le traitement par un agoniste des Esr β avait dans une étude permis une amélioration

ration de la mémoire de reconnaissance chez les rats ovariectomisés, alors que l'agoniste des Esr α était resté sans effet (Jacome et al., 2010).

Alors que l'Esr β pourrait avoir un rôle plus important que l'Esr α dans la plasticité synaptique au niveau de l'hippocampe, l'Esr α serait plus impliqué que l'Esr β dans le rôle anti-inflammatoire des oestrogènes (Vegeto et al., 2003; Villa et al., 2016). Dans un modèle d'inflammation induit par injection de lipopolysaccharides, les auteurs avaient conclu à un rôle plus important de l'Esr α dans la réduction des cytokines proinflammatoires locales, et à un rôle de l'Esr β dans le maintien de l'intégrité de la BHE (Brown et al., 2010). La sur-expression génique des Esr α dans le cortex pourrait d'ailleurs être une réponse à l'inflammation locale provoquée par la MH. Néanmoins, nous n'avons pas observé d'effet pour la mémoire de travail en phase précoce après la chirurgie, qui restait déficitaire en présence de la MH.

Dans le groupe APP SHAM, l'expression des ARNm des Esr α au niveau cortical était supérieure à celle observée dans le groupe WT SHAM. Une réponse anti-inflammatoire plus importante serait donc présente chez les souris transgéniques. Cependant cette majoration de l'expression des ARNm des Esr α n'était pas observée chez les souris du groupe APP MHC. Dans un modèle de MA chez le rat avec injection stéréotaxique de Streptozocine, les auteurs ont également observé une absence d'altération de la mémoire de reconnaissance en phase aiguë (2, et 4 semaines) de la chirurgie chez les rats femelles, alors que la mémoire était impactée d'emblée chez les rats mâles. Les rats femelles ont présenté une altération de la mémoire de reconnaissance seulement à partir de la huitième semaine (Biasibetti et al., 2017).

Le rôle de l'estradiol pourrait également se manifester dans le cadre d'une réponse différente aux statines. Dans notre étude, sous atorvastatine, nous avons observé une restauration de plusieurs types de mémoire chez les souris transgéniques en phase aiguë, ce qui pourrait être mis en parallèle à une augmentation de l'expression des ARNm des Esr β au niveau hippocampique chez les souris du groupe APP MHC+AT par rapport à celles du groupe APP MHC. Dans la littérature, la lovastatine à forte dose (100mg/kg) administrée pendant trois semaines chez les souris transgéniques Tg 2576 a augmenté le nombre de plaque amyloïde en stimulant l'activité de β sécrétase mais uniquement chez les femelles, et pas chez les mâles (Park et al., 2003), suggérant une plus grande sensibilité à la diminution du cholestérol chez les souris transgéniques femelles.

L'effet positif de l'estradiol dans une éventuelle neuroréparation était constaté seulement dans les phases précoces, et n'a pas été observé à un temps tardif dans notre modèle. De plus, dans notre étude, l'altération de la mémoire de reconnaissance, ainsi que l'augmentation du niveau d'anxiété étaient observées chez les souris transgéniques à partir de neuf mois de vie, alors que les résultats différents étaient obtenus chez les souris mâles portant les mêmes mutations,

c'est-à-dire absence de différence de mémoire de reconnaissance, et niveau d'anxiété diminué (Harris et al., 2010; Karl et al., 2012).

Afin de vérifier que cette absence d'effet ne soit pas liée à une déplétion d'hormones sexuelles, qui pourrait s'apparenter à une ménopause chez les femmes, nous avons procédé à un dosage d'œstradiol. Ce dosage d'œstradiol s'est avéré difficile par la méthode ELISA par compétition, le taux plasmatique d'œstradiol étant en moyenne très bas dans les échantillons de rongeurs et variait selon le stade du cycle (Nelson et al., 1992). De plus, nous n'avons pas contrôlé le cycle au moment des sacrifices de souris. Chez les femmes, il existe également une variabilité importante du taux selon le cycle. En effet, le taux est estimé entre 100 et 420 pg /ml au pic pré ovulaire, puis diminue pour atteindre un niveau situé entre 60 et 230 pg /ml durant la phase lutéale. Cependant, des études dans la littérature suggèrent que chez les rongeurs femelles saines, il n'est pas observé de réelle ménopause et donc de chute drastique du taux circulant d'œstrogènes (Dubal et al., 2012; Nelson et al., 1992).

L'absence d'effet d'œstradiol à long terme pourrait également s'expliquer par une diminution d'œstradiol endogène. En effet, les œstrogènes présents au niveau du système nerveux central résultent d'une production périphérique et in situ. Les œstrogènes plasmatiques produits par les glandes endocrines traversent facilement la BHE. Les astrocytes et les neurones synthétisent in situ l'œstradiol, ces deux types cellulaires exprimant l'aromatase. L'œstradiol est donc un neurostéroïde. Il est synthétisé dans le système nerveux central à partir du cholestérol (Zwain et Yen, 1999). La concentration d'œstradiol au niveau de l'hippocampe est d'ailleurs six fois plus élevée que celle du plasma, témoignant de l'importance de cette synthèse in situ (Kretz, 2004). Ainsi, dans une étude translationnelle, les cerveaux des patientes atteintes de MA présentaient un taux intracérébral d'œstradiol total 2,5 fois moindre et un taux d'œstradiol libre 6,5 fois moindre comparativement aux taux observés dans l'étude des cerveaux des patientes âgées témoins (âge moyen de 74 ans), alors que les taux sériques étaient comparables entre les deux groupes. Cette réduction était associée à une expression réduite de deux tiers de l'aromatase (Yue et al., 2005). Chez les souris mutées de la lignée APP23, il y avait une diminution de la synthèse in situ d'œstradiol, par une diminution de l'activité de l'aromatase, accompagnées d'une augmentation de plaques amyloïdes (Yue et al., 2005).

Par conséquent, il serait intéressant dans notre modèle de compléter les données par le dosage du taux d'œstradiol intracérébral afin de calculer le ratio cerveau/sang.

Par ailleurs, l'absence de neuroprotection par œstradiol chez les souris pathologiques pourrait s'expliquer par un effet négatif des dépôts amyloïdes plus conséquent que l'effet positif de l'œstradiol (Levin-Allerhand et al., 2002).

b. Dans l'étude clinique

Dans notre registre de patients atteints de la MA, nous n'avons pas observé de différence en termes de profil cognitif entre les patients et les patientes, ni lors de l'évaluation initiale ni lors des évaluations ultérieures, même après réajustement sur le niveau scolaire, qui était plus bas chez les femmes.

Les résultats des études cliniques sur les liens entre estrogènes plasmatiques et déclin cognitif sont variables selon qu'elles incluent ou non des patientes atteintes de la MA. Une première étude chez les sujets sains a montré chez 465 femmes en post-ménopause, âgées en moyenne de 71 ans, qu'une diminution du déclin cognitif et de la mémoire verbale était significativement corrélée à un faible taux d'estrogènes plasmatique (Yaffe et al., 2000). Les mêmes observations avaient lieu chez les hommes âgés (Yaffe et al., 2007). L'effet protecteur relatif d'un taux d'estrogènes élevé était davantage significatif après réajustement sur le taux de « sex hormone binding globuline » (SHBG), suggérant que l'œstradiol libre pouvait être responsable de cet effet cérébral (Yaffe et al., 2000). Une deuxième étude amenait aux mêmes conclusions : après réajustements multiples, SHBG comprise, un taux élevé d'œstradiol protégeait significativement contre le déclin cognitif (Lebrun et al., 2005). Un taux plus élevé de SHBG était associé à un risque d'incidence plus élevé de MA chez les hommes et les femmes âgés (Muller et al., 2010). En revanche, dans un groupe de patients atteints de la MA, aucune corrélation n'était observée entre le taux plasmatique d'œstradiol et les performances cognitives (Thal et al., 2003).

En culture cellulaire, les réponses à l'œstradiol pourraient être dépendantes de l'isoforme de l'APOE présente. L'œstradiol était neurotrophique en présence d'allèle $\epsilon 2$ ou $\epsilon 3$ de l'APOE ; au contraire, l'allèle $\epsilon 4$ était associé à une absence de réponse à l'œstradiol ou à une neurodégénérescence (Nathan et al., 2004). L'effet neuroprotecteur de l'œstradiol semblait aboli chez les souris transgéniques homozygotes avec délétion du gène APOE humain (Horsburgh et al., 2002). Les études cliniques sont en accord avec ces données expérimentales : les œstrogènes seraient associés à une réduction du déclin cognitif chez les femmes âgées de plus de 65 ans non porteuses du génotype ApoE4 (Yaffe et al., 2000) et à de meilleures performances cognitives (Burkhardt et al., 2004). Les hommes en revanche présenteraient une sensibilité accrue aux conséquences de la présence de l'allèle $\epsilon 4$ de l'APOE. Comparativement aux patientes atteintes de MA, les patients atteints de MA présenteraient une atrophie cérébrale plus marquée et des dépôts amyloïdes plus nombreux et plus sévères (Sundermann et al., 2018).

2. Dysfonction vasculaire spécifique du sexe féminin

La prévalence de la plupart des FDRV était plus importante chez les hommes. Pour autant, seule la prévalence des maladies cardiovasculaires était plus importante chez les hommes. La prévalence des maladies cérébrovasculaires était similaire entre les deux sexes, qu'il s'agisse de la prévalence des AVC, des MH, ou des lésions de SB-PV et de SB-SC. Le risque vasculaire s'exprimerait différemment chez l'homme et chez la femme (Leening et al., 2014). L'augmentation du risque vasculaire chez les hommes favoriserait les maladies cardiovasculaires, tandis qu'un nombre plus élevé de FDRV chez les femmes s'accompagnerait d'une augmentation de la prévalence des maladies cérébrovasculaires.

De plus, même si la prévalence de MHs était comparable entre hommes et femmes à la première IRM dans notre étude, l'augmentation du nombre de MHs durant le suivi était bien plus importante pour les hommes. Ce sexe ratio des MHs en faveur des hommes chez les patients avec MA avait été observé dans d'autres cohortes cliniques de la littérature (Benedictus et al., 2015; Shams et al., 2015). Une autre étude translationnelle a suggéré une augmentation de deux fois de nombre de MHs chez les patients atteints de MA que les patientes, d'autant plus si les patients étaient porteurs de l'APOE4. Cependant l'effet inverse avait été observé pour le modèle murin, où le pourcentage des MHs était plus élevé chez les souris femelles transgéniques porteuses de l'APOE4 (Cacciottolo et al., 2016).

Associant une dysfonction vasculaire globalement moins sévère chez les femmes, et un déclin cognitif néanmoins similaire chez les hommes et les femmes, nos données suggèrent que les femmes seraient plus sensibles aux effets nocifs des lésions spécifiques de la MA.

Pour ce qui est des biomarqueurs de la MA, un taux plus élevé d'A β 1-42 était observé dans le LCS des patientes, ce qui témoignerait d'une moindre présence, de dépôts amyloïdes chez les patientes. Le volume hippocampique droit semblait également mieux préservé chez les patientes, même si cette différence n'était pas statistiquement significative. Aucune différence n'était mise en évidence pour ce qui est du taux de protéine Tau totale ou phospho-tau, ni du volume hippocampique gauche. Nos données témoignent indirectement d'une fragilité des femmes aux lésions de la MA, en mettant en évidence, pour un même score de MMSE une prévalence de lésions spécifiques de MA, similaire ou moins sévère chez les femmes que chez les hommes. D'après une récente étude longitudinale l'atrophie hippocampique serait davantage prédictive de la progression clinique de la MA chez les femmes, tandis que que l'aggravation des lésions de SB affecterait de façon prépondérante le déclin cognitif chez l'homme (Burke et al., 2018). Dans le cadre de la MA, les hommes seraient donc plus sensibles aux lésions vasculaires, et les

femmes plus sensibles aux lésions spécifiques de MA, ce qui est concordant avec les données de la littérature (Barnes et al., 2005).

Dans la population saine générale, aucune différence ne semblait exister entre les hommes et les femmes en termes de taux intrathécal de biomarqueurs (Jack et al., 2017).

3. Nos points forts et limites

Nous avons mis en évidence la pertinence de notre modèle animal pour étudier les spécificités liées au sexe. De plus, le modèle préclinique permet de s'affranchir de l'effet du genre, propre aux études cliniques, et en lien avec les événements socio-culturels entre autres.

Dans l'interprétation des résultats chez les souris femelles, il faudra tenir compte de l'influence potentielle du cycle hormonal des souris (Meziane et al., 2007). En effet, contrairement aux humains, le cycle hormonal des souris dure 4 à 5 jours (Byers et al., 2012). Le test dPAL du Touchscreen[®] se déroule sur 30 jours, auxquels s'ajoute la phase d'habituation qui dure en général également 30 jours. Nous avons interprété nos résultats par des blocs de trois jours, ce qui permettait de s'affranchir en partie de la variation hormonale. Or, les autres tests, par exemple, le test d'alternance spontanée pour la mémoire de travail, ou le test de reconnaissance d'objet pour la mémoire de reconnaissance, se déroulent sur un jour. Il se peut que les variations hormonales puissent modifier nos résultats. Pour contrôler les phases du cycle, la méthode standard est l'étude histologique d'un frottis vaginal, ce qui pourrait être source de stress pour les rongeurs. Cette méthode n'est pas envisageable dans notre étude. Néanmoins, nous aurions pu recourir à une méthode d'évaluation visuelle de l'ouverture vaginale, qui permettrait de renseigner sur la phase du cycle (Byers et al., 2012). Nous pourrions imaginer programmer les tests de comportements sur une période de 5 jours, et réaliser le test seulement quand l'ouverture vaginale des souris reflète toute la même phase. Une méta-analyse de 293 études sur le comportement animal a montré que la variabilité de comportement des femelles n'était cependant pas différente de celle des mâles (Prendergast et al., 2014).

Lors du dosage d'estradiol plasmatique, nous avons rencontré deux difficultés majeures, ce qui a beaucoup restreint le nombre des échantillons. La première était la valeur seuil minimale du kit (6,6 pg/mL), ce qui réduisait la sensibilité pour des taux faibles. La deuxième était la quantité insuffisante de volume pour faire une triple vérification de données, nécessitant au total 150 µL d'échantillon. La plupart du temps, il s'agit de ce volume-là obtenu lors du sacrifice des souris. En raison de la faible concentration en estradiol, nous ne pouvions pas non plus diluer nos échantillons pour obtenir des volumes plus grands.

En conclusion, notre modèle semble pertinent pour modéliser les différences en fonction du sexe, puisque nos données suggèrent qu'il existe un profil différent chez les femmes, que ce soit au niveau de l'impact de la MH ou de l'atorvastatine. Par ailleurs, les femmes ont une dysfonction vasculaire spécifique, et sont protégées de façon différentiel par les œstrogènes en fonction de la présence ou non des lésions spécifiques de la MA. Il conviendra de proposer une médecine personnalisée, en fonction du sexe et de la présence de lésions vasculaires spécifiques.

D. Limites et Perspectives

Notre travail a mis en évidence, dans une approche translationnelle, un impact cognitif et non cognitif des MHs, en présence ou non d'une maladie d'Alzheimer chez le sexe féminin. Nos résultats tendent à confirmer l'intérêt de l'atorvastatine dans la neuroprotection, grâce à ses effets pléiotropes. D'une manière générale, notre travail souligne, une fois de plus, l'intérêt d'une prise en charge personnalisée, et précoce de la MA.

Nous proposons de résumer une partie des résultats dans le schéma 11.

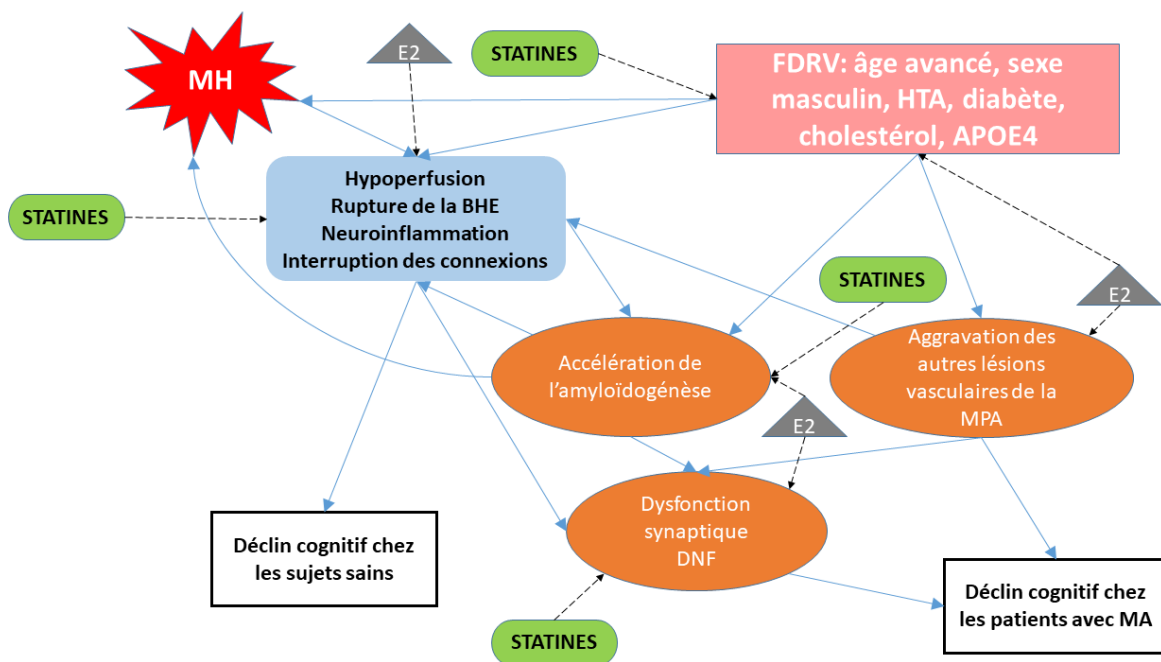


Schéma 11: Proposition des interactions entre les microhémorragies (MH), les statines, l'œstradiol (E2) sur le déclin cognitif chez les sujets sains et les patients avec la maladie d'Alzheimer (MA)

BHE : barrière hémato-encéphalique ; HTA : hypertension, APOE4 : l'allèle $\epsilon 4$ de l'apolipoprotéine E ; MPA : maladie des petites artères ; DNF : dégénérescence neuro-fibrillaire

En parallèle de façon translationnelle, nous avons également étudié les différences pouvant être liées aux MHs, aux statines, et au sexe, dans un registre de patients atteints de la MA.

Un suivi multimodal a été réalisé à chaque temps d'évaluation. Nous avons évalué la mémoire visuo-spatiale avec le Touchscreen®, test se révélant bien plus translationnel que les tests jusqu'alors disponibles, du fait de son utilisation chez l'homme dans le cadre du test CANTAB (Fowler et al., 2002). Les animaux sont très peu stressés par la présence de l'expérimentateur étant donné que les boîtes sont imperméables aux odeurs et au bruit.

Les souris ont plutôt bien toléré les examens para cliniques, lesquels ont pour la plupart d'entre eux, été réalisés sur deux jours successifs. L'IRM était caractérisée par un champ élevé de 7 Tesla. Les séquences mises au point permettaient ainsi de détecter des différences de volume avec une grande sensibilité (125 coupes de 3D T2).

La base de données a l'avantage d'inclure des patients bien caractérisés sur le plan de la MA. Nous disposons de données cliniques assez complètes, caractérisées par un très faible nombre de perdus de vue, et 4 ans de suivi en moyenne.

Notre étude comporte des limites.

Afin de réaliser un suivi sur le long terme de plusieurs groupes différents, avec trois étapes d'évaluation, nous devons disposer d'un grand nombre de souris. Malheureusement les souris transgéniques avaient un taux de mortalité non négligeable, et l'élevage de cette lignée J20 n'offrait pas un rendement satisfaisant. Il existe habituellement 15% de décès durant les six premiers mois de vie selon le site de Jax mice (JAX, n.d.). Il nous a donc fallu plusieurs campagnes de reproduction pour constituer l'ensemble des groupes. Il se peut que le phénotype de la lignée se soit modifié au fur et à mesure des générations.

L'analyse du test de la reconnaissance d'objet a été réalisée de manière manuelle et a ainsi pu s'accompagner de potentiels biais liés à l'évaluation, même si cette évaluation a été réalisée en aveugle par deux évaluateurs différents.

Pour l'étude de l'expression génique des ARNm, la méthode de PCR par quantification en fluorescence a ses limites. La PCR est une réaction enzymatique, qui permet d'amplifier le signal. Plus le gène est exprimé, moins l'enzyme est sollicitée. A l'inverse, moins le gène est exprimé, plus l'enzyme est sollicitée, et plus le risque d'erreur est élevé. En effet, chaque échantillon analysé l'est en triple exemplaires, et nous avons constaté que plus les crossing points sont élevés (signifiant une faible présence du gène d'intérêt), plus les écart-types sont importants, ce qui rend l'interprétation plus difficile.

Notre étude clinique n'était pas une étude de cohorte. Il manquait ainsi des données concernant la durée du traitement par statines, les causes de mortalité, et le statut du génotype de l'APOE.

Une deuxième IRM interprétable n'a pu être disponible que pour 61% des patients, ce qui réduit d'autant la puissance de l'interprétation des données en ce qui concerne notamment l'évolution du volume hippocampique dans le temps.

Le centre dans lequel étaient recrutés les patients est un centre mémoire tertiaire, principalement destiné aux patients jeunes, mais également aux patients résidant à proximité. Un biais de recrutement est inévitable. Nos patients étaient en moyenne plus jeunes que ceux inclus dans d'autres études portant sur le déclin cognitif en présence d'une MA (Benedictus et al., 2013; Goos et al., 2009; Pettersen et al., 2008), ce qui rend l'interprétation des données plus difficilement comparable aux données existantes. Néanmoins, cette particularité a permis d'obtenir des données complémentaires chez les patients jeunes atteints de MA. Les patients ont été informés de la possibilité de don du cerveau à l'issue du décès, les confirmations histologiques seront précieuses.

En ce qui concerne les perspectives, ce travail sera à compléter par une étude plus précise sur le plan mécanistique selon trois axes : la MH, l'atorvastatine et le sexe. Une partie est déjà en cours chez l'animal, dans le cadre d'une thèse d'Université.

Pour ce qui est des conséquences de la MH, il est prévu d'évaluer l'altération de la BHE (Séquences de diffusion en IRM ; Coloration par FITC-dextran) ; la neuroinflammation (microglie et astrocytes) ; l'altération de la microvascularisation (densité du collagène de type 4) et la dysfonction endothéliale (anticorps anti-ICAM1).

Pour étudier les effets pléiotropes de l'atorvastatine, nous pourrions étudier la plasticité synaptique (LTP au niveau de la CA1) ; l'altération de la fonction endothéliale (expression d'eNOS) et la neurogénèse (BrdU).

Pour les souris femelles, il est prévu de compléter l'étude de biologie moléculaire pour les temps M6 et M12, pour les Esr α et β . Nous pourrions également doser l'estradiol à partir des extraits de cerveau, afin de calculer le ratio cerveau/plasma de l'estradiol.

Nous pourrions étudier d'autres aspects mécanistiques qui différencient les deux sexes, tels que les produits de peroxydation de lipides comme marqueurs de stress oxydant.

Il faudra également prévoir un modèle de déplétion profonde en hormones sexuelles, soit par ovariectomie, soit par l'utilisation de bloqueurs des récepteurs aux œstrogènes type Tamoxifène.

Il est prévu de compléter, chez les souris transgéniques, une étude immunohistochimique de dépôts amyloïdes par l'anticorps 6E10, au niveau périlésionnel, et au niveau hippocampique. Nous pourrions également étudier les enzymes type β sécrétases par PCR, pour voir s'il existe une modulation par l'estradiol et par l'atorvastatine.

Notre modèle ouvre la voie d'autres types de modulation possible. Nous pouvons par exemple réaliser les mêmes procédures chirurgicales chez des souris avec des FDRV induits, tels que l'hypertension, le diabète ou le syndrome métabolique.

Pour l'étude clinique, il conviendra dans un premier temps de compléter nos données par la date de décès de nos patients pour estimer l'effet des MHs sur la mortalité.

Nous allons agrandir la base de données, en incluant des patients des autres centres de la région, atteints de la MA mais également au stade de troubles cognitifs légers, avec des biomarqueurs bien caractérisés, pour que ce soit plus représentatif.

Enfin, il sera indispensable d'inclure les patientes avec des renseignements sur la vie génitale, par exemple le nombre de grossesse, l'âge de la ménopause, etc.

ANNEXES

A. Annexe 1 : Article : Role of cortical microbleeds in cognitive impairment : In vivo behavioral and imaging characterization of a novel murine model. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*. 2018

B. Annexe 2 : Les modélisations expérimentales de la maladie d'Alzheimer et de la dysfonction vasculaire

Pour mieux comprendre les mécanismes de la MA et développer de nouvelles pistes thérapeutiques, il est indispensable de recourir aux modèles expérimentaux. Il n'existe pas de modèle « naturel » de MA dans les autres espèces. De plus, comme exposé plus haut, la MA est une maladie extrêmement complexe et hétérogène. Le modèle choisi sera donc fonction de l'hypothèse de travail. Par exemple pour comprendre une voie métabolique, il est possible de modéliser sur des cultures cellulaires *in vitro*.

Les modèles animaux offrent entre autres des possibilités d'étude neuro comportementale (Webster et al., 2014). On distingue un modèle quasi naturel chez le microcèbe, un modèle pharmacologique avec injection de scopolamine par exemple, un modèle induit avec injection de peptide A β en intracrânien par exemple, et enfin un modèle transgénique.

Il existe des centaines de souche transgéniques, notamment des souris. Ces modèles transgéniques présentent l'avantage de mimer la chronicité et l'installation progressive des symptômes chez le patient. Ils présentent en plus l'avantage de pouvoir mesurer les mêmes biomarqueurs que ceux chez l'homme, tels que l'A β ₁₋₄₂, avec bien sûr quelques petites variations.

Les possibilités de modélisation de dysfonction vasculaire sont également très nombreuses, à la fois *in vitro* et *in vivo*. Tout comme pour la MA, il existe également des modèles naturels de rongeurs obèses (Guerre-Millo, 2012), des modèles pharmacologiques avec un régime enrichi en vitamine B9, B12 et en méthionine pour induire une hyperhomocystéinémie (Sudduth et al., 2013), des modèles induits d'hypertension avec une sténose de l'aorte abdominale chez le cochon (Shih et al., 2018), ainsi que des modèles transgéniques de l'angiopathie amyloïde cérébrale par exemple (Kumar-Singh, 2009).

Il est également intéressant de pouvoir combiner les deux pathologies au sein d'un même modèle pour étudier leur interaction. Par exemple, un modèle d'HTA induite par infusion intracérébrale d'angiotensine II dans une souche transgénique de souris Tg2576 a montré une accélération de dépôts amyloïdes par l'hypertension (Faraco et al., 2016).

La cinétique des dépôts amyloïdes suite à des infarctus focaux chez des souris transgéniques a également fait l'objet d'une étude associant un modèle transgénique de pathologie amyloïde et d'induction de lésion vasculaire. Cette étude a suggéré un effet transitoire d'aggravation des dépôts d'A β (Garcia-Alloza et al., 2011).

REFERENCES

- Abdu, W.I., Olufunke, A.S., Ibrahim, A.M., Babagana, K.M., 2018. Hormone replacement therapy and Alzheimers disease in older women: A systematic review of literature. *J. Neurosci. Behav. Heal.* 10, 1–8. <https://doi.org/10.5897/JNBH2017.0148>
- Abdullah, J., Husin, A., 2011. Intracerebral Hemorrhage Research. *Acta Neurochir. Suppl.* 111, 421–24. <https://doi.org/10.1007/978-3-7091-0693-8>
- Abrahamson, E.E., Ikonovic, M.D., Edward Dixon, C., DeKosky, S.T., 2009. Simvastatin therapy prevents brain trauma-induced increases in β -amyloid peptide levels. *Ann. Neurol.* 66, 407–414. <https://doi.org/10.1002/ana.21731>
- Akoudad, S., Aarts, N., Noordam, R., Ikram, M.A., Tiemeier, H., Hofman, A., Stricker, B.H., Vernooij, M.W., Visser, L.E., 2016a. Antidepressant use is associated with an increased risk of developing microbleeds. *Stroke* 47, 251–254. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.115.011574>
- Akoudad, S., Wolters, F.J., Viswanathan, A., De Bruijn, R.F., Van Der Lugt, A., Hofman, A., Koudstaal, P.J., Arfan Ikram, M., Vernooij, M.W., 2016b. Association of cerebral microbleeds with cognitive decline and dementia. *JAMA Neurol.* 73, 934–943. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2016.1017>
- Allain, P., Etcharry-Bouyx, F., Verny, C., 2013. Executive functions in clinical and preclinical Alzheimer's disease. *Rev. Neurol. (Paris)*. 169, 695–708. <https://doi.org/10.1016/j.neurol.2013.07.020>
- Alzheimer's and Dementia in France [WWW Document], 2018. URL <https://www.alz.org/fr/dementia-alzheimers-france.asp>
- Alzheimer's Association, 2013. 2013 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimers. Dement.* 9, 208–45. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2013.02.003>
- Amarenco, P., Bogousslavsky, J., Callahan, A., Goldstein, L., Hennerici, M.G., Rudolph, A., Silleesen, H., Simunovic, L., Szarek, M., Welch, K., Zivin, J., Investigators, S., 2006. High-Dose Atorvastatin after Stroke or Transient Ischemic Attack. *N. Engl. J. Med.* 355, 549–559. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa061894>
- Amarenco, P., Labreuche, J., Lavallée, P., Touboul, P.J., 2004. Statins in stroke prevention and carotid atherosclerosis: Systematic review and up-to-date meta-analysis. *Stroke* 35, 2902–2909. <https://doi.org/10.1161/01.STR.0000147965.52712.f>
- Amieva, H., Le Goff, M., Millet, X., Orgogozo, J.M., Pérès, K., Barberger-Gateau, P., Jacqmin-Gadda, H., Dartigues, J.F., 2008. Prodromal Alzheimer's disease: Successive emergence of the clinical symptoms. *Ann. Neurol.* 64, 492–498. <https://doi.org/10.1002/ana.21509>
- Anstey, K.J., Lipnicki, D.M., Low, L.-F., 2008. Cholesterol as a Risk Factor for Dementia and Cognitive Decline: A Systematic Review of Prospective Studies With Meta-Analysis. *Am. J. Geriatr. Psychiatry* 16, 343–354. <https://doi.org/10.1097/JGP.0b013e31816b72d4>
- Arvanitakis, Z., Schneider, J.A., Wilson, R.S., Bienias, J.L., Kelly, J.F., Evans, D.A., Bennett, D.A., 2008. Statins, incident Alzheimer disease, change in cognitive function, and neuropathology. *Neurology* 70, 1795–1802. <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000288181.00826.63>
- Atkins, E.R., Bulsara, M.K., Panegyres, P.K., 2012. Cerebrovascular risk factors in early-onset dementia. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*. <https://doi.org/10.1136/jnnp.2009.202846>
- Banach, M., Rizzo, M., Nikolic, D., Howard, G., Howard, V.J., Mikhailidis, D.P., 2017. Intensive LDL-cholesterol lowering therapy and neurocognitive function. *Pharmacol. Ther.* 170, 181–191. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2016.11.001>
- Barnes, D.E., Yaffe, K., 2011. The projected effect of risk factor reduction on Alzheimer's disease prevalence. *Lancet. Neurol.* 10, 819–28. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(11\)70072-2](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(11)70072-2)
- Barnes, L.L., Wilson, R.S., Bienias, J.L., Schneider, J.A., Evans, D.A., Bennett, D.A., 2005. Sex differences in the clinical manifestations of Alzheimer disease pathology. *Arch. Gen. Psychiatry* 62, 685–691. <https://doi.org/10.1001/archpsyc.62.6.685>
- Barone, E., Cenini, G., Di Domenico, F., Martin, S., Sultana, R., Mancuso, C., Murphy, M.P., Head, E., Butterfield, D.A., 2011. Long-term high-dose atorvastatin decreases brain oxidative and nitrosative stress in a preclinical model of Alzheimer disease: A novel mechanism of action. *Pharmacol. Res.* 63, 172–180. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2010.12.007>
- Barone, E., Di Domenico, F., Butterfield, D.A., 2014. Statins more than cholesterol lowering agents in Alzheimer disease: Their pleiotropic functions as potential therapeutic targets. *Biochem. Pharmacol.* 88, 605–616. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2013.10.030>
- Basselerie, H., Bracoud, L., Zeestraten, E., Bouguen, E., Kiyasova, V., Pueyo, M., Cognard, C., Dumas, H., Gramada, R., Ousset, P.J., Vellas, B., Bonneville, F., 2017. Incident cerebral microbleeds detected by susceptibility weight-imaging help to identify patients with mild cognitive impairment progressing to Alzheimer's disease. *J. Alzheimer's Dis.* 60, 253–262. <https://doi.org/10.3233/JAD-170470>
- Bateman, R.J., Xiong, C., Benzinger, T.L.S., Fagan, A.M., Goate, A., Fox, N.C., Marcus, D.S., Cairns, N.J., Xie, X., Blazey, T.M., Holtzman, D.M., Santacruz, A., Buckles, V., Oliver, A., Moulder, K., Aisen, P.S., Ghetti, B., Klunk, W.E., McDade, E., Martins, R.N., Masters, C.L., Mayeux, R., Ringman, J.M., Rossor, M.N., Schofield, P.R., Sperling, R.A., Salloway, S., Morris, J.C., 2012. Clinical and Biomarker Changes in Dominantly

- Inherited Alzheimer's Disease. *N. Engl. J. Med.* 367, 795–804. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1202753>
- Beckmann, N., Doelemeyer, A., Zurbrugg, S., Bigot, K., Theil, D., Friauff, W., Kolly, C., Moulin, P., Neddermann, D., Kreutzer, R., Perrot, L., Brzak, I., Jacobson, L.H., Staufenbiel, M., Neumann, U., Shimshek, D.R., 2016. Longitudinal noninvasive magnetic resonance imaging of brain microhemorrhages in BACE inhibitor-treated APP transgenic mice. *Neurobiol. Aging* 45, 50–60. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2016.05.009>
- Beckmann, N., Gerard, C., Abramowski, D., Cannet, C., Staufenbiel, M., 2011. Noninvasive Magnetic Resonance Imaging Detection of Cerebral Amyloid Angiopathy-Related Microvascular Alterations Using Superparamagnetic Iron Oxide Particles in APP Transgenic Mouse Models of Alzheimer's Disease: Application to Passive A Immunotherapy. *J. Neurosci.* 31, 1023–1031. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4936-10.2011>
- Beeri, M.S., Schmeidler, J., Sano, M., Wang, J., Lally, R., Grossman, H., Silverman, J.M., 2006. Age, gender, and education norms on the CERAD neuropsychological battery in the oldest old. *Neurology* 67, 1006–1010. <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000237548.15734.cd>
- Benedictus, M.R., Goos, J.D.C., Binnewijzend, M.A.A., Muller, M., Barkhof, F., Scheltens, P., Prins, N.D., van der Flier, W.M., 2013. Specific risk factors for microbleeds and white matter hyperintensities in Alzheimer's disease. *Neurobiol. Aging*. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2013.04.023>
- Benedictus, M.R., Prins, N.D., Goos, J.D.C., Scheltens, P., Barkhof, F., Van Der Flier, W.M., 2015. Microbleeds, Mortality, and Stroke in Alzheimer Disease The MISTRAL Study. *JAMA Neurol.* 72, 539–545. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2015.14>
- Bergeron, S., Chen, Y., Auger, F., Deguil, J., Durieux, N., Skrobala, E., Barus, R., Potey, C., Cordonnier, C., Pasquier, F., Ravasi, L., Bordet, R., Gautier, S., 2018. Role of cortical microbleeds in cognitive impairment: In vivo behavioral and imaging characterization of a novel murine model. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 0271678X1775276. <https://doi.org/10.1177/0271678X17752765>
- Biasibetti, R., Almeida dos Santos, J.P., Rodrigues, L., Wartchow, K.M., Suardi, L.Z., Nardin, P., Selistre, N.G., Vázquez, D., Gonçalves, C.A., 2017. Hippocampal changes in STZ-model of Alzheimer's disease are dependent on sex. *Behav. Brain Res.* 316, 205–214. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2016.08.057>
- Biessels, G.J., Staekenborg, S., Brunner, E., Brayne, C., Scheltens, P., 2006. Risk of dementia in diabetes mellitus: a systematic review. *Lancet. Neurol.* 5, 64–74. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(05\)70284-2](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(05)70284-2)
- Blanc, F., Poisbeau, P., Sellal, F., Tranchant, C., de Seze, J., André, G., 2010. Maladie d'Alzheimer, mémoire et estrogènes. *Rev. Neurol. (Paris)*. 166, 377–388. <https://doi.org/10.1016/j.neurol.2009.07.010>
- Blennow, K., Hampel, H., 2003. CSF markers for incipient Alzheimer's disease. *Lancet Neurol.* [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(03\)00530-1](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(03)00530-1)
- Blennow, K., Mattsson, N., Schöll, M., Hansson, O., Zetterberg, H., 2015. Amyloid biomarkers in Alzheimer's disease. *Trends Pharmacol. Sci.* 36, 297–309. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2015.03.002>
- Bos, D., Wolters, F.J., Darweesh, S.K.L., Vernooij, M.W., de Wolf, F., Ikram, M.A., Hofman, A., 2018. Cerebral small vessel disease and the risk of dementia: A systematic review and meta-analysis of population-based evidence. *Alzheimer's Dement.* 47, 41–48. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2018.04.007>
- Braak, H., Braak, E., 1994. Morphological criteria for the recognition of Alzheimer's disease and the distribution pattern of cortical changes related to this disorder. *Neurobiol. Aging* 15, 355–356. [https://doi.org/10.1016/0197-4580\(94\)90032-9](https://doi.org/10.1016/0197-4580(94)90032-9)
- Braak, H., Braak, E., 1991. Neuropathological stageing of Alzheimer-related changes. *Acta Neuropathol.* 82, 239–259. <https://doi.org/10.1007/BF00308809>
- Breast International Group (BIG) 1-98 Collaborative Group, Thürlimann, B., Keshaviah, A., Coates, A.S., Mouridsen, H., Mauriac, L., Forbes, J.F., Paridaens, R., Castiglione-Gertsch, M., Gelber, R.D., Rabaglio, M., Smith, I., Wardley, A., Wardly, A., Price, K.N., Goldhirsch, A., 2005. A Comparison of Letrozole and Tamoxifen in Postmenopausal Women with Early Breast Cancer. *N. Engl. J. Med.* 353, 2747–2757. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa052258>
- Brown, C.M., Mulcahey, T.A., Filipek, N.C., Wise, P.M., 2010. Production of Proinflammatory Cytokines and Chemokines During Neuroinflammation: Novel Roles for Estrogen Receptors α and β . *Endocrinology* 151, 4916–4925. <https://doi.org/10.1210/en.2010-0371>
- Bruandet, A., Richard, F., Bombois, S., Maurage, C.A., Deramecourt, V., Lebert, F., Amouyel, P., Pasquier, F., 2009. Alzheimer disease with cerebrovascular disease and vascular dementia: Clinical features and course compared with Alzheimer disease. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 80, 133–139. <https://doi.org/10.1136/jnnp.2007.137851>
- Brundel, M., De Bresser, J., Van Dillen, J.J., Kappelle, L.J., Biessels, G.J., 2012. Cerebral microinfarcts: A systematic review of neuropathological studies. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 32, 425–436. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.2011.200>
- Buoncervello, M., Marconi, M., Carè, A., Piscopo, P., Malorni, W., Matarrese, P., 2017. Preclinical models in the study of sex differences. *Clin. Sci.* 131, 449–469. <https://doi.org/10.1042/CS20160847>
- Burke, S.L., Hu, T., Fava, N.M., Li, T., Rodriguez, M.J., Schuldiner, K.L., Burgess, A., Laird, A., 2018. Sex differences in the development of mild cognitive impairment and probable Alzheimer's disease as predicted by

the hippocampal volume or white matter hyperintensities. *J. Women Aging* 00, 1–25.
<https://doi.org/10.1080/08952841.2018.1419476>

- Burkhardt, M.S., Foster, J.K., Laws, S.M., Baker, L.D., Craft, S., Gandy, S.E., Stuckey, B.G.A., Clarnette, R., Nolan, D., Hewson-Bower, B., Martins, R.N., 2004. Oestrogen replacement therapy may improve memory functioning in the absence of APOE ϵ 4. *J. Alzheimer's Dis.* 6, 221–228. <https://doi.org/10.3233/JAD-2004-6302>
- Byers, S.L., Wiles, M. V., Dunn, S.L., Taft, R.A., 2012. Mouse estrous cycle identification tool and images. *PLoS One* 7, 1–5. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0035538>
- Cacciottolo, M., Christensen, A., Moser, A., Liu, J., Pike, C.J., Smith, C., LaDu, M.J., Sullivan, P.M., Morgan, T.E., Dolzhenko, E., Charidimou, A., Wahlund, L.O., Wiberg, M.K., Shams, S., Chiang, G.C.Y., Finch, C.E., 2016. The APOE4 allele shows opposite sex bias in microbleeds and Alzheimer's disease of humans and mice. *Neurobiol. Aging* 37, 47–57. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2015.10.010>
- Callahan, M.J., Lipinski, W.J., Bian, F., Durham, R.A., Pack, A., Walker, L.C., 2001. Amyloid Precursor Protein-Transgenic Mice 158, 1173–1177. <https://doi.org/10.1126/sageke.2004.5.tg1>
- Campion, D., Dumanchin, C., Hannequin, D., Dubois, B., Belliard, S., Puel, M., Thomas-Anterion, C., Michon, A., Martin, C., Charbonnier, F., Raux, G., Camuzat, A., Penet, C., Mesnage, V., Martinez, M., Clerget-Darpoux, F., Brice, A., Frebourg, T., 1999. Early-Onset Autosomal Dominant Alzheimer Disease: Prevalence, Genetic Heterogeneity, and Mutation Spectrum. *Am. J. Hum. Genet.* 65, 664–670. <https://doi.org/10.1086/302553>
- Capisizu, A., Aurelian, S.M., Paun, A.M., Omer, I., Dascalescu, R., Zamfirescu, A., 2017. Effects of lipid lowering therapy with statins on cognitive functions in patients diagnosed with dementia undergoing antidementive therapy. *Atherosclerosis* 263, e238. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2017.06.773>
- Carotenuto, A., Rea, R., Colucci, L., Ziello, A.R., Molino, I., Carpi, S., Traini, E., Amenta, F., Fasanaro, A.M., 2012. Late and early onset dementia: What is the role of vascular factors? A retrospective study. *J. Neurol. Sci.* 322, 170–175. <https://doi.org/10.1016/j.jns.2012.07.066>
- Carroll, J.C., Pike, C.J., 2008. Selective Estrogen Receptor Modulators Differentially Regulate Alzheimer-Like Changes in Female 3xTg-AD Mice. *Endocrinology* 149, 2607–2611. <https://doi.org/10.1210/en.2007-1346>
- Carswell, H.V.O., Dominiczak, A.F., Garcia-Segura, L.M., Harada, N., Hutchison, J.B., Macrae, I.M., 2005. Brain aromatase expression after experimental stroke: Topography and time course. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 96, 89–91. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2005.02.016>
- Chao, Y., Chen, J.S., Hunt, V.M., Kuron, G.W., Karkas, J.D., Liou, R., Alberts, A.W., 1991. Lowering of plasma cholesterol levels in animals by lovastatin and simvastatin. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 40 Suppl 1, S11-4.
- Charidimou, A., Imaizumi, T., Moulin, S., Biffi, A., Samarasekera, N., Yakushiji, Y., Peeters, A., Vandermeeren, Y., Laloux, P., Baron, J.C., Hernandez-Guillamon, M., Montaner, J., Casolla, B., Gregoire, S.M., Kang, D.W., Kim, J.S., Naka, H., Smith, E.E., Viswanathan, A., Jäger, H.R., Al-Shahi Salman, R., Greenberg, S.M., Cordonnier, C., Werring, D.J., 2017. Brain hemorrhage recurrence, small vessel disease type, and cerebral microbleeds: A meta-analysis. *Neurology*. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000004259>
- Charidimou, A., Krishnan, A., Werring, D.J., Rolf Jäger, H., 2013. Cerebral microbleeds: a guide to detection and clinical relevance in different disease settings. *Neuroradiology* 55, 655–674. <https://doi.org/10.1007/s00234-013-1175-4>
- Chataway, J., Schuerer, N., Alsanousi, A., Chan, D., MacManus, D., Hunter, K., Anderson, V., Bangham, C.R.M., Clegg, S., Nielsen, C., Fox, N.C., Wilkie, D., Nicholas, J.M., Calder, V.L., Greenwood, J., Frost, C., Nicholas, R., 2014. Effect of high-dose simvastatin on brain atrophy and disability in secondary progressive multiple sclerosis (MS-STAT): A randomised, placebo-controlled, phase 2 trial. *Lancet* 383, 2213–2221. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(13\)62242-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(13)62242-4)
- Chen, S.F., Su, W.S., Wu, C.H., Lan, T.H., Yang, F.Y., 2018. Transcranial Ultrasound Stimulation Improves Long-Term Functional Outcomes and Protects Against Brain Damage in Traumatic Brain Injury. *Mol. Neurobiol.* 55, 7079–7089. <https://doi.org/10.1007/s12035-018-0897-z>
- Chen, Y., Sillaire, A.R., Dallongeville, J., Skrobala, E., Wallon, D., Dubois, B., Hannequin, D., Pasquierthe, F., Bombois, S., Boutantin, J., Cassagnaud, P., Delbeuck, X., Delmaire, C., Deramecourt, V., Gele, P., Houssein-Foucher, C., Jacquemont, C., Lebert, F., Lebouvier, T., Lopez, R., Mackowiak, M.A., Maureille, A., Pasquier, F., Petyt, G., Pollet, M., Rollin-Sillaire, A., Schraen, S., Semah, F., Vanhoutte, M., 2017. Low Prevalence and Clinical Effect of Vascular Risk Factors in Early-Onset Alzheimer's Disease. *J. Alzheimer's Dis.* 60, 1045–1054. <https://doi.org/10.3233/JAD-170367>
- Chêne, G., Beiser, A., Au, R., Preis, S.R., Wolf, P.A., Dufouil, C., Seshadri, S., 2015. Gender and incidence of dementia in the Framingham Heart Study from mid-adult life. *Alzheimer's Dement.* 11, 310–320. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2013.10.005>
- Chiang, G.C., Cruz Hernandez, J.C., Kantarci, K., Jack, C.R., Weiner, M.W., 2015. Cerebral Microbleeds, CSF p-Tau, and Cognitive Decline: Significance of Anatomic Distribution. *Am. J. Neuroradiol.* 36, 1635–1641. <https://doi.org/10.3174/ajnr.A4351>
- Chou, P.-S., Kao, Y.-H., Wu, M.-N., Chou, M.-C., Chen, C.-H., Lin, R.-T., Yang, Y.-H., 2018. Effect of the interaction between hypertension and cerebral white matter changes on the progression of Alzheimer disease.

- Curr. Alzheimer Res. 15. <https://doi.org/10.2174/1567205015666181002141013>
- Chowdhury, M.H., Nagai, A., Bokura, H., Nakamura, E., Kobayashi, S., Yamaguchi, S., 2011. Age-related changes in white matter lesions, hippocampal atrophy, and cerebral microbleeds in healthy subjects without major cerebrovascular risk factors. *J. Stroke Cerebrovasc. Dis.* 20, 302–309. <https://doi.org/10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2009.12.010>
- Chu, C.S., Tseng, P.T., Stubbs, B., Chen, T.Y., Tang, C.H., Li, D.J., Yang, W.C., Chen, Y.W., Wu, C.K., Veronese, N., Carvalho, A.F., Fernandes, B.S., Herrmann, N., Lin, P.Y., 2018. Use of statins and the risk of dementia and mild cognitive impairment: A systematic review and meta-analysis. *Sci. Rep.* 8, 1–12. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-24248-8>
- Chung, C.P., Chou, K.H., Chen, W.T., Liu, L.K., Lee, W.J., Chen, L.K., Lin, C.P., Wang, P.N., 2016. Strictly Lobar Cerebral Microbleeds Are Associated with Cognitive Impairment. *Stroke* 47, 2497–2502. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.116.014166>
- Cohen, S.J., Stackman, R.W., 2015. Assessing rodent hippocampal involvement in the novel object recognition task. A review. *Behav. Brain Res.* 285, 105–17. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2014.08.002>
- Coleman, R.E., 2005. Positron Emission Tomography Diagnosis of Alzheimer’s Disease. *Neuroimaging Clin. N. Am.* 15, 837–846. <https://doi.org/10.1016/j.nic.2005.09.007>
- Cordonnier, C., Al-Shahi Salman, R., Wardlaw, J., 2007. Spontaneous brain microbleeds: systematic review, subgroup analyses and standards for study design and reporting. *Brain* 130, 1988–2003. <https://doi.org/10.1093/brain/awl387>
- Cordonnier, C., Potter, G.M., Jackson, C.A., Doubal, F., Keir, S., Sudlow, C.M., Wardlaw, J.M., Salman, R.A.-S., 2009. Improving Interrater Agreement About Brain Microbleeds. *Stroke* 40, 94–99. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.108.526996>
- Cordonnier, C., van der Flier, W.M., Sluimer, J.D., Leys, D., Barkhof, F., Scheltens, P., 2006. Prevalence and severity of microbleeds in a memory clinic setting. *Neurology* 66, 1356–60. <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000210535.20297.ae>
- Coupe, P., Yger, P., Prima, S., Hellier, P., Kervrann, C., Barillot, C., 2008. An Optimized Blockwise Nonlocal Means Denoising Filter for 3-D Magnetic Resonance Images. *IEEE Trans. Med. Imaging* 27, 425–441. <https://doi.org/10.1109/TMI.2007.906087>
- Cramer, C., Haan, M.N., Galea, S., Langa, K.M., Kalbfleisch, J.D., 2008. Use of statins and incidence of dementia and cognitive impairment without dementia in a cohort study. *Neurology* 71, 344–350. <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000319647.15752.7b>
- Cucchiara, B., Kasner, S.E., 2001. Use of statins in CNS disorders. *J. Neurol. Sci.* 187, 81–9.
- Cummings, J.A., Nicola, S.M., Malenka, R.C., 1994. Induction in the rat hippocampus of long-term potentiation (LTP) and long-term depression (LTD) in the presence of a nitric oxide synthase inhibitor. *Neurosci. Lett.* 176, 110–114. [https://doi.org/10.1016/0304-3940\(94\)90883-4](https://doi.org/10.1016/0304-3940(94)90883-4)
- Datta, S.R., Brunet, A., Greenberg, M.E., 1999. Cellular survival: A play in three acts. *Genes Dev.* 13, 2905–2927. <https://doi.org/10.1101/gad.13.22.2905>
- Daugherty, A.M., Raz, N., 2017. Incident risk and progression of cerebral microbleeds in healthy adults: a multi-occasion longitudinal study. *Neurobiol. Aging* 59, 22–29. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2017.07.003>
- De Laat, K.F., Van Den Berg, H.A.C., Van Norden, A.G.W., Gons, R.A.R., Olde Rikkert, M.G.M., De Leeuw, F.E., 2011. Microbleeds are independently related to gait disturbances in elderly individuals with cerebral small vessel disease. *Stroke* 42, 494–497. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.110.596122>
- De Lira, J., Ortiz, K., Campanha, A., Bertolucci, P., Minett, T., 2011. Microlinguistic aspects of the oral narrative in patients with Alzheimer’s disease. *Int. Psychogeriatrics* 23, 404–12. <https://doi.org/10.1017/S1041610210001092>
- de Oliveira, F.F., Chen, E.S., Smith, M.C., Bertolucci, P.H.F., 2017. Longitudinal lipid profile variations and clinical change in Alzheimer’s disease dementia. *Neurosci. Lett.* 646, 36–42. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2017.03.003>
- De Reuck, J., Deramecourt, V., Cordonnier, C., Leys, D., Pasquier, F., Maurice, C.A., 2011. Prevalence of small cerebral bleeds in patients with a neurodegenerative dementia: A neuropathological study. *J. Neurol. Sci.* 300, 63–66. <https://doi.org/10.1016/j.jns.2010.09.031>
- Décret, 2013. Réglementation pour l’expérimentation animale [WWW Document]. URL <https://www.legifrance.gouv.fr/eli/decret/2013/2/1/AGR1231951D/jo/texte>
- Denk, C., Rauscher, A., 2010. Susceptibility weighted imaging with multiple echoes. *J. Magn. Reson. Imaging* 31, 185–191. <https://doi.org/10.1002/jmri.21995>
- Deschaintre, Y., Richard, F., Leys, D., Pasquier, F., 2009. Treatment of vascular risk factors is associated with slower decline in Alzheimer disease. *Neurology* 73, 674–680. <https://doi.org/10.1212/WNL.0b013e3181b59bf3>
- Devine, M.E., Fonseca, J.A.S., Walker, Z., 2013. Do cerebral white matter lesions influence the rate of progression from mild cognitive impairment to dementia? *Int. Psychogeriatrics* 25, 120–127. <https://doi.org/10.1017/S1041610212000932>

- Ding, J., Sigurosson, S., Jónsson, P. V., Eiríksdóttir, G., Meirelles, O., Kjartansson, O., Lopez, O.L., Van Buchem, M.A., Gudnason, V., Launer, L.J., 2017. Space and location of cerebral microbleeds, cognitive decline, and dementia in the community. *Neurology* 88, 2089–2097. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000003983>
- Doraiswamy, P.M., Steffens, D.C., McQuoid, D.R., 2004. Statin use and hippocampal volumes in elderly subjects at risk for Alzheimer's disease: A pilot observational study. *Am. J. Alzheimers. Dis. Other Demen.* 19, 275–278. <https://doi.org/10.1177/153331750401900506>
- Dostal, L.A., Whitfield, L.R., Anderson, J.A., 1996. Fertility and general reproduction studies in rats with the HMG-CoA reductase inhibitor, atorvastatin. *Toxicol. Sci.* 32, 285–292. <https://doi.org/10.1093/toxsci/32.2.285>
- Dubal, D.B., Broestl, L., Worden, K., 2012. Sex and gonadal hormones in mouse models of Alzheimer's disease: What is relevant to the human condition? *Biol. Sex Differ.* 3, 1. <https://doi.org/10.1186/2042-6410-3-24>
- Dufouil, C., Seshadri, S., Chêne, G., 2014. Cardiovascular risk profile in women and dementia. *J. Alzheimer's Dis.* 42, S353–S363. <https://doi.org/10.3233/JAD-141629>
- Duits, F.H., Hernandez-Guillamon, M., Montaner, J., Goos, J.D.C., Montañola, A., Wattjes, M.P., Barkhof, F., Scheltens, P., Teunissen, C.E., Van Der Flier, W.M., Mroczko, B., 2015. Matrix Metalloproteinases in Alzheimer's Disease and Concurrent Cerebral Microbleeds. *J. Alzheimer's Dis.* 48, 711–720. <https://doi.org/10.3233/JAD-143186>
- Dupont, M.P., Pelix, C., Toulza, O., Trivalle, C., Baud, M., Jacus, J.P., 2008. Intérêts et limites de la procédure de Grober et Buschke dans le diagnostic précoce de la maladie d'Alzheimer et des démences mixtes. *NPG Neurol. - Psychiatr. - Geriatr.* 8, 25–34. <https://doi.org/10.1016/j.npg.2008.01.015>
- Duriez, P., 2003. Mécanismes d'action des statines et des fibrates. *Thérapie* 58, 5–14. <https://doi.org/10.2515/therapie>
- Eberling, J.L., Wu, C., Haan, M.N., Mungas, D., Buonocore, M., Jagust, W.J., 2003. Preliminary evidence that estrogen protects against age-related hippocampal atrophy. *Neurobiol. Aging* 24, 725–732. [https://doi.org/10.1016/S0197-4580\(02\)00056-8](https://doi.org/10.1016/S0197-4580(02)00056-8)
- Ehehalt, R., Keller, P., Haass, C., Thiele, C., Simons, K., 2003. Amyloidogenic processing of the Alzheimer β -amyloid precursor protein depends on lipid rafts. *J. Cell Biol.* 160, 113–123. <https://doi.org/10.1083/jcb.200207113>
- Endres, M., 2005. Statins and Stroke. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 25, 1093–1110. <https://doi.org/10.1038/sj.jcbfm.9600116>
- Endres, M., Laufs, U., Huang, Z., Nakamura, T., Huang, P., Moskowitz, M.A., Liao, J.K., 1998. Stroke protection by 3-hydroxy-3-methylglutaryl (HMG)-CoA reductase inhibitors mediated by endothelial nitric oxide synthase. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 95, 8880–8885. <https://doi.org/10.1038/nsmb.2208>
- Erickson, K.I., Colcombe, S.J., Raz, N., Korol, D.L., Scalf, P., Webb, A., Cohen, N.J., McAuley, E., Kramer, A.F., 2005. Selective sparing of brain tissue in postmenopausal women receiving hormone replacement therapy. *Neurobiol. Aging* 26, 1205–1213. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2004.11.009>
- Fagan, A.M., Xiong, C., Jasielec, M.S., Bateman, R.J., Goate, A.M., Benzinger, T.L.S., Ghetti, B., Martins, R.N., Masters, C.L., Mayeux, R., Ringman, J.M., Rossor, M.N., Salloway, S., Schofield, P.R., Sperling, R.A., Marcus, D., Cairns, N.J., Buckles, V.D., Ladenson, J.H., Morris, J.C., Holtzman, D.M., 2014. Longitudinal Change in CSF Biomarkers in Autosomal-Dominant Alzheimer's Disease. *Sci. Transl. Med.* 6, 226ra30-226ra30. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3007901>
- Fahlström, A., Yu, Q., Ulfhake, B., 2011. Behavioral changes in aging female C57BL/6 mice. *Neurobiol. Aging* 32, 1868–1880. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2009.11.003>
- Faraco, G., Park, L., Zhou, P., Luo, W., Paul, S.M., Anrather, J., Iadecola, C., 2016. Hypertension enhances A β -induced neurovascular dysfunction, promotes β -secretase activity, and leads to amyloidogenic processing of APP. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 36, 241–252. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.2015.79>
- Farrer, L.A., 1997. Effects of Age, Sex, and Ethnicity on the Association Between Apolipoprotein E Genotype and Alzheimer Disease. *JAMA* 278, 1349. <https://doi.org/10.1001/jama.1997.03550160069041>
- Fazekas, F., Kleinert, R., Offenbacher, H., Schmidt, R., Kleinert, G., Payer, F., Radner, H., Lechner, H., 1993. Pathologic correlates of incidental MRI white matter signal hyperintensities. *Neurology* 43, 1683–9.
- Feher, A., Pusch, G., Koltai, K., Tibold, A., Gasztonyi, B., Szapary, L., Feher, G., 2011. Statintherapy in the primary and the secondary prevention of ischaemic cerebrovascular diseases. *Int. J. Cardiol.* 148, 131–138. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2010.08.012>
- Feldman, H.H., Doody, R.S., Kivipelto, M., Sparks, D.L., Waters, D.D., Jones, R.W., Schwam, E., Schindler, R., Hey-Hadavi, J., Demicco, D.A., Breazna, A., 2010. Randomized controlled trial of atorvastatin in mild to moderate Alzheimer disease: LEADe. *Neurology* 74, 956–964. <https://doi.org/10.1212/WNL.0b013e3181d6476a>
- Feng, C., Fang, M., Xu, Y., Hua, T., Liu, X.-Y., 2014. Microbleeds in late-life depression: comparison of early- and late-onset depression. *Biomed Res. Int.* 2014, 682092. <https://doi.org/10.1155/2014/682092>
- Ferretti, M.T., Iulita, M.F., Cavedo, E., Chiesa, P.A., Schumacher Dimech, A., Santucci Chadha, A., Baracchi, F., Girouard, H., Misoch, S., Giacobini, E., Depypere, H., Hampel, H., 2018. Sex differences in Alzheimer disease — the gateway to precision medicine. *Nat. Rev. Neurol.* 1–13. <https://doi.org/10.1038/s41582-018->

- Folstein, M., Anthony, J.C., Parhad, I., Duffy, B., Gruenberg, E.M., 1985. The Meaning of Cognitive Impairment in the Elderly. *J. Am. Geriatr. Soc.* 33, 228–235. <https://doi.org/10.1111/j.1532-5415.1985.tb07109.x>
- Forster, L.F., Stewart, G., Bedford, D., Stewart, J.P., Rogers, E., Shepherd, J., Packard, C.J., Caslake, M.J., 2002. Influence of atorvastatin and simvastatin on apolipoprotein B metabolism in moderate combined hyperlipidemic subjects with low VLDL and LDL fractional clearance rates. *Atherosclerosis* 164, 129–145. [https://doi.org/10.1016/S0021-9150\(02\)00052-7](https://doi.org/10.1016/S0021-9150(02)00052-7)
- Fowler, K.S., Saling, M.M., Conway, E.L., Semple, J.M., Louis, W.J., 2002. Paired associate performance in the early detection of DAT. *J. Int. Neuropsychol. Soc.* 8, 58–71.
- Foy, M.R., Baudry, M., Diaz Brinton, R., Thompson, R.F., 2008. Estrogen and Hippocampal Plasticity in Rodent Models. *J. Alzheimer's Dis.* 15, 589–603. <https://doi.org/10.3233/JAD-2008-15406>
- Fratiglioni, L., Andersen, K., Breteler, M.M., Copeland, J.R., Dartigues, J.-F., Lobo, A., Martinez-Lage, J., Soininen, H., Hofman, A., 2000. Incidence of dementia and major subtypes in Europe: A collaborative study of population-based cohorts. *Neurology* 54, S10–S15. <https://doi.org/00006114-200006135-00003>
- Galvan, V., Gorostiza, O.F., Banwait, S., Ataie, M., Logvinova, A. V., Sitaraman, S., Carlson, E., Sagi, S.A., Chevallier, N., Jin, K., Greenberg, D.A., Bredesen, D.E., 2006. Reversal of Alzheimer's-like pathology and behavior in human APP transgenic mice by mutation of Asp664. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 103, 7130–7135. <https://doi.org/10.1073/pnas.0509695103>
- Gao, S., Hendrie, H.C., Hall, K.S., Hui, S., 1998. The relationships between age, sex, and the incidence of dementia and Alzheimer disease: a meta-analysis. *Arch. Gen. Psychiatry* 55, 809–15.
- Garcia-Alloza, M., Gregory, J., Kuchibhotla, K. V., Fine, S., Wei, Y., Ayata, C., Frosch, M.P., Greenberg, S.M., Bacskai, B.J., 2011. Cerebrovascular lesions induce transient β -amyloid deposition. *Brain* 134, 3694–3704. <https://doi.org/10.1093/brain/awr300>
- Gardner, R., Oliver-Munoz, S., Fisher, L., Empting, L., 1981. Mattis Dementia Rating Scale: Internal Reliability Study Using a Diffusely Impaired Population. *J. Clin. Neuropsychol.* 3, 271–275. <https://doi.org/10.1080/01688638108403130>
- Geifman, N., Brinton, R.D., Kennedy, R.E., Schneider, L.S., Butte, A.J., 2017. Evidence for benefit of statins to modify cognitive decline and risk in Alzheimer's disease. *Alzheimer's Res. Ther.* 9, 1–10. <https://doi.org/10.1186/s13195-017-0237-y>
- Gilsanz, P., Mayeda, E.R., Glymour, M.M., Quesenberry, C.P., Mungas, D.M., DeCarli, C., Dean, A., Whitmer, R.A., 2017. Female sex, early-onset hypertension, and risk of dementia. *Neurology* 89, 1886–1893. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000004602>
- Gisquet-Verrier, P., 2006. Neural bases of memory | Bases structurales et anatomiques de la m?moire. *Epilepsies* 18.
- Godefroy, O., Martinaud, O., Verny, M., Mosca, C., Lenoir, H., Bretault, E., Roussel, M., 2014. The dysexecutive syndrome of alzheimer's disease: The GREFEX study. *J. Alzheimer's Dis.* 42, 1203–1208. <https://doi.org/10.3233/JAD-140585>
- Goos, J.D.C., Kester, M.I., Barkhof, F., Klein, M., Blankenstein, M.A., Scheltens, P., Van Der Flier, W.M., 2009. Patients with alzheimer disease with multiple microbleeds: Relation with cerebrospinal fluid biomarkers and cognition. *Stroke* 40, 3455–3460. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.109.558197>
- Gorelick, P.B., Scuteri, A., Black, S.E., DeCarli, C., Greenberg, S.M., Iadecola, C., Launer, L.J., Laurent, S., Lopez, O.L., Nyenhuis, D., Petersen, R.C., Schneider, J.A., Tzourio, C., Arnett, D.K., Bennett, D.A., Chui, H.C., Higashida, R.T., Lindquist, R., Nilsson, P.M., Roman, G.C., Sellke, F.W., Seshadri, S., 2011. Vascular Contributions to Cognitive Impairment and Dementia. *Stroke* 42, 2672–2713. <https://doi.org/10.1161/STR.0b013e3182299496>
- Gosche, K.M., Mortimer, J.A., Smith, C.D., Markesbery, W.R., Snowdon, D.A., 2002. Hippocampal volume as an index of Alzheimer neuropathology: findings from the Nun Study. *Neurology* 58, 1476–82. <https://doi.org/10.1212/WNL.58.10.1476>
- Gould, E., Woolley, C., Frankfurt, M., McEwen, B., 1990. Gonadal steroids regulate dendritic spine density in hippocampal pyramidal cells in adulthood. *J. Neurosci.* 10, 1286–1291. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.10-04-01286.1990>
- Grady, D., Yaffe, K., Kristof, M., Lin, F., Richards, C., Barrett-Connor, E., 2002. Effect of postmenopausal hormone therapy on cognitive function: the Heart and Estrogen/progestin Replacement Study. *Am. J. Med.* 113, 543–548. [https://doi.org/10.1016/S0002-9343\(02\)01270-6](https://doi.org/10.1016/S0002-9343(02)01270-6)
- Grasset, L., Brayne, C., Joly, P., Jacqmin-Gadda, H., Peres, K., Foubert-Samier, A., Dartigues, J.F., Helmer, C., 2016. Trends in dementia incidence: Evolution over a 10-year period in France. *Alzheimer's Dement.* 12, 272–280. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2015.11.001>
- Grayson, B., Leger, M., Piercy, C., Adamson, L., Harte, M., Neill, J.C., 2015. Assessment of disease-related cognitive impairments using the novel object recognition (NOR) task in rodents. *Behav. Brain Res.* 285, 176–193. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2014.10.025>
- Greenberg, S.M., Vernooij, M.W., Cordonnier, C., Viswanathan, A., Al-Shahi Salman, R., Warach, S., Launer, L.J., Van Buchem, M.A., Breteler, M.M., 2009. Cerebral microbleeds: a guide to detection and interpretation.

- Lancet Neurol. 8, 165–174. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(09\)70013-4](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(09)70013-4)
- Gregg, N.M., Kim, A.E., Gurol, M.E., Lopez, O.L., Aizenstein, H.J., Price, J.C., Mathis, C.A., James, J.A., Snitz, B.E., Cohen, A.D., Kamboh, M.I., Minhas, D., Weissfeld, L.A., Tamburo, E.L., Klunk, W.E., 2015. Incidental cerebral microbleeds and cerebral blood flow in elderly individuals. *JAMA Neurol.* 72, 1021–1028. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2015.1359>
- Grip, O., Janciauskiene, S., Lindgren, S., 2002. Atorvastatin activates PPAR- γ and attenuates the inflammatory response in human monocytes. *Inflamm. Res.* 51, 58–62. <https://doi.org/11926313>
- Guerre-Millo, M., 2012. Modèle animal d'obésité. *Obésité* 7, 18–25. <https://doi.org/10.1007/s11690-012-0316-y>
- Gustafson, D.R., Bäckman, K., Joas, E., Waern, M., Östling, S., Guo, X., Skoog, I., 2012. 37 years of body mass index and dementia: observations from the prospective population study of women in Gothenburg, Sweden. *J. Alzheimer's Dis.* 28, 163–171.
- Haag, M.D.M., Hofman, A., Koudstaal, P.J., Stricker, B.H.C., Breteler, M.M.B., 2009. Statins are associated with a reduced risk of Alzheimer disease regardless of lipophilicity. The Rotterdam Study. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 80, 13–17. <https://doi.org/10.1136/jnnp.2008.150433>
- Hajjar, I., Schumpert, J., Hirth, V., Wieland, D., Eleazer, G.P., 2002. The impact of the use of statins on the prevalence of dementia and the progression of cognitive impairment. *Journals Gerontol. - Ser. A Biol. Sci. Med. Sci.* 57, 414–418. <https://doi.org/10.1093/gerona/57.7.M414>
- Hamilton, D.A., Brigman, J.L., 2015. Behavioral flexibility in rats and mice: contributions of distinct frontocortical regions. *Genes, Brain Behav.* 14, 4–21. <https://doi.org/10.1111/gbb.12191>
- Hammond, R.S., Tull, L.E., Stackman, R.W., 2004. On the delay-dependent involvement of the hippocampus in object recognition memory. *Neurobiol. Learn. Mem.* 82, 26–34. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2004.03.005>
- HÅnell, A., Marklund, N., 2014. Structured evaluation of rodent behavioral tests used in drug discovery research. *Front. Behav. Neurosci.* 8, 1–13. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2014.00252>
- Hanyu, H., Tanaka, Y., Shimizu, S., Takasaki, M., Abe, K., 2003. Cerebral microbleeds in Alzheimer's disease. *J. Neurol.* 250, 1496–7. <https://doi.org/10.1007/s00415-003-0245-7>
- Harding, C.A., Szoek, C., 2017. Impact of Statin Use on Cognitive Decline in Healthy Women From a Long-Term Longitudinal Sample. *Alzheimer's Dement.* 13, P736–P737. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2017.06.964>
- Hardy, J., Selkoe, D.J., 2002. The Amyloid Hypothesis of Alzheimer's Disease: Progress and Problems on the Road to Therapeutics. *Science* (80-.). 297, 353–356. <https://doi.org/10.1126/science.1072994>
- Harris, J.A., Devidze, N., Halabisky, B., Lo, I., Thwin, M.T., Yu, G.-Q., Bredesen, D.E., Masliah, E., Mucke, L., 2010. Many Neuronal and Behavioral Impairments in Transgenic Mouse Models of Alzheimer's Disease Are Independent of Caspase Cleavage of the Amyloid Precursor Protein. *J. Neurosci.* 30, 372–381. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5341-09.2010>
- Harvey, R.J., Skelton-Robinson, M., Rossor, M.N., 2003. The prevalence and causes of dementia in people under the age of 65 years. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 74, 1206–1209. <https://doi.org/10.1136/jnnp.74.9.1206>
- HAS, haute autorité de santé, 2018. Arrêt de prise en charge par l'Assurance maladie des médicaments dans la maladie d'Alzheimer [WWW Document]. URL <https://solidarites-sante.gouv.fr/soins-et-maladies/medicaments/article/arret-de-prise-en-charge-par-l-assurance-maladie-des-medicaments-dans-la>
- HAS, haute autorité de santé, 2011. Maladie d'Alzheimer et maladies apparentées: diagnostic et prise en charge.
- Hayden, K.M., Zandi, P.P., Lyketsos, C.G., Khachaturian, A.S., Bastian, L.A., Charoonruk, G., Tschanz, J.T., Norton, M.C., Pieper, C.F., Munger, R.G., Breitner, J.C.S., Welsh-Bohmer, K.A., 2006. Vascular risk factors for incident Alzheimer disease and vascular dementia: The Cache County Study. *Alzheimer Dis. Assoc. Disord.* 20, 93–100. <https://doi.org/10.1097/01.wad.0000213814.43047.86>
- Hays, S.A., Khodaparast, N., Hulsey, D.R., Ruiz, A., Sloan, A.M., Rennaker, R.L., Kilgard, M.P., 2014. Vagus nerve stimulation during rehabilitative training improves functional recovery after intracerebral hemorrhage. *Stroke* 45, 3097–3100. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.114.006654>
- He, X.F., Lan, Y., Zhang, Q., Liu, D.X., Wang, Q., Liang, F.Y., Zeng, J.S., Xu, G.Q., Pei, Z., 2016. Deferoxamine inhibits microglial activation, attenuates blood-brain barrier disruption, rescues dendritic damage, and improves spatial memory in a mouse model of microhemorrhages. *J. Neurochem.* 436–447. <https://doi.org/10.1111/jnc.13657>
- Hebert, L.E., Weuve, J., Scherr, P.A., Evans, D.A., 2013. Alzheimer disease in the United States (2010-2050) estimated using the 2010 census. *Neurology* 80, 1778–1783. <https://doi.org/10.1212/WNL.0b013e31828726f5>
- Henderson, V.W., 2014. Alzheimer's disease: Review of hormone therapy trials and implications for treatment and prevention after menopause. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 142, 99–106. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2013.05.010>
- Henderson, V.W., Benke, K.S., Green, R.C., Cupples, L.A., Farrer, L.A., 2005. Postmenopausal hormone therapy and Alzheimer's disease risk: Interaction with age. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 76, 103–105. <https://doi.org/10.1136/jnnp.2003.024927>
- Henderson, V.W., Sherwin, B.B., 2007. Surgical versus natural menopause: Cognitive issues. *Menopause* 14, 572–579. <https://doi.org/10.1097/gme.0b013e31803df49c>
- Heringa, S.M., Reijmer, Y.D., Leemans, A., Koek, H.L., Kappelle, L.J., Biessels, G.J., 2014. Multiple microbleeds

- are related to cerebral network disruptions in patients with early Alzheimer's disease. *J. Alzheimer's Dis.* 38, 211–221. <https://doi.org/10.3233/JAD-130542>
- Hilal, S., Sikking, E., Shaik, M.A., Chan, Q.L., van Veluw, S.J., Vrooman, H., Cheng, C.-Y., Sabanayagam, C., Cheung, C.Y., Wong, T.Y., Venketasubramanian, N., Biessels, G.J., Chen, C., Ikram, M.K., 2016. Cortical cerebral microinfarcts on 3T MRI. *Neurology* 87, 1583–1590. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000003110>
- Hirata-Fukae, C., Li, H.F., Hoe, H.S., Gray, A.J., Minami, S.S., Hamada, K., Niikura, T., Hua, F., Tsukagoshi-Nagai, H., Horikoshi-Sakuraba, Y., Mughal, M., Rebeck, G.W., LaFerla, F.M., Mattson, M.P., Iwata, N., Saido, T.C., Klein, W.L., Duff, K.E., Aisen, P.S., Matsuoka, Y., 2008. Females exhibit more extensive amyloid, but not tau, pathology in an Alzheimer transgenic model. *Brain Res.* 1216, 92–103. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2008.03.079>
- Hogervorst, E., Yaffe, K., Richards, M., Huppert, F.A.H., 2009. Hormone replacement therapy to maintain cognitive function in women with dementia. *Cochrane Database Syst. Rev.* <https://doi.org/10.1002/14651858.CD003799.pub2>
- Höglund, K., Syversen, S., Lewczuk, P., Wallin, A., Wiltfang, J., Blennow, K., 2005. Statin treatment and a disease-specific pattern of β -amyloid peptides in Alzheimer's disease. *Exp. Brain Res.* 164, 205–214. <https://doi.org/10.1007/s00221-005-2243-8>
- Holcomb, L.A., Gordon, M.N., Jantzen, P., Hsiao, K., Duff, K., Morgan, D., 1999. Behavioral changes in transgenic mice expressing both amyloid precursor protein and presenilin-1 mutations: lack of association with amyloid deposits. *Behav. Genet.* 29, 177–85.
- Holtzer, R., Scarmeas, N., Wegesin, D.J., Albert, M., Brandt, J., Dubois, B., Hadjigeorgiou, G.M., Stern, Y., 2005. Depressive symptoms in Alzheimer's disease: Natural course and temporal relation to function and cognitive status. *J. Am. Geriatr. Soc.* <https://doi.org/10.1111/j.1532-5415.2005.00535.x>
- Horner, A.E., Heath, C.J., Hvoslef-Eide, M., Kent, B.A., Kim, C.H., Nilsson, S.R.O., Alsö, J., Oomen, C.A., Holmes, A., Saksida, L.M., Bussey, T.J., 2013. The touchscreen operant platform for testing learning and memory in rats and mice. *Nat. Protoc.* 8, 1961–1984. <https://doi.org/10.1038/nprot.2013.122>
- Horsburgh, K., Macrae, I.M., Carswell, H., 2002. Estrogen is neuroprotective via an apolipoprotein E-dependent mechanism in a mouse model of global ischemia. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 22, 1189–1195. <https://doi.org/10.1097/01.wcb.0000037991.07114.4e>
- Hua, X., Hibar, D.P., Lee, S., Toga, A.W., Jack, C.R., Weiner, M.W., Thompson, P.M., 2010. Sex and age differences in atrophic rates: An ADNI study with n=1368 MRI scans. *Neurobiol. Aging* 31, 1463–1480. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2010.04.033>
- Imtiaz, B., Tuppurainen, M., Rikkonen, T., Kivipelto, M., Soininen, H., Kröger, H., Tolppanen, A.M., 2017. Postmenopausal hormone therapy and Alzheimer disease: A prospective cohort study. *Neurology* 88, 1062–1068. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000003696>
- Inoue, I., Itoh, F., Aoyagi, S., Tazawa, S., Kusama, H., Akahane, M., Mastunaga, T., Hayashi, K., Awata, T., Komoda, T., Katayama, S., 2002. Fibrate and Statin Synergistically Increase the Transcriptional Activities of PPAR α /RXR α and Decrease the Transactivation of NF κ B. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 290, 131–139. <https://doi.org/10.1006/bbrc.2001.6141>
- Irvine, K., Laws, K.R., Gale, T.M., Kondel, T.K., 2012. Greater cognitive deterioration in women than men with Alzheimer's disease: A meta analysis. *J. Clin. Exp. Neuropsychol.* 34, 989–998. <https://doi.org/10.1080/13803395.2012.712676>
- Jack, C.R., Bennett, D.A., Blennow, K., Carrillo, M.C., Dunn, B., Haeberlein, S.B., Holtzman, D.M., Jagust, W., Jessen, F., Karlawish, J., Liu, E., Molinuevo, J.L., Montine, T., Phelps, C., Rankin, K.P., Rowe, C.C., Scheltens, P., Siemers, E., Snyder, H.M., Sperling, R., Elliott, C., Masliah, E., Ryan, L., Silverberg, N., 2018. NIA-AA Research Framework: Toward a biological definition of Alzheimer's disease. *Alzheimer's Dement.* 14. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2018.02.018>
- Jack, C.R., Hampel, H.J., Universities, S., Cu, M., Petersen, R.C., 2016. A new classification system for AD , independent of cognition A / T / N : An unbiased descriptive classification scheme for Alzheimer disease biomarkers. *Neurology* 87, 539–547. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000002923>
- Jack, C.R., Holtzman, D.M., 2013. Biomarker Modeling of Alzheimer's Disease. *Neuron* 80, 1347–1358. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2013.12.003>
- Jack, C.R., Wiste, H.J., Weigand, S.D., Therneau, T.M., Knopman, D.S., Lowe, V., Vemuri, P., Mielke, M.M., Roberts, R.O., Machulda, M.M., Senjem, M.L., Gunter, J.L., Rocca, W.A., Petersen, R.C., 2017. Age-specific and sex-specific prevalence of cerebral β -amyloidosis, tauopathy, and neurodegeneration in cognitively unimpaired individuals aged 50–95 years: a cross-sectional study. *Lancet Neurol.* 16, 435–444. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(17\)30077-7](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(17)30077-7)
- Jacome, L.F., Gautreaux, C., Inagaki, T., Mohan, G., Alves, S., Lubbers, L.S., Luine, V., 2010. Estradiol and ER β agonists enhance recognition memory, and DPN, an ER β agonist, alters brain monoamines. *Neurobiol. Learn. Mem.* 94, 488–498. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2010.08.016>
- James, M.L., Warner, D.S., Laskowitz, D.T., 2008. Preclinical Models of Intracerebral Hemorrhage: A Translational

- Perspective. *Neurocrit. Care* 9, 139–152. <https://doi.org/10.1007/s12028-007-9030-2>
- Jasińska, M., Owczarek, J., Orszulak-Michalak, D., 2007. Statins: A new insight into their mechanisms of action and consequent pleiotropic effects. *Pharmacol. Reports* 59, 483–499.
- JAX, M., n.d. J20 [WWW Document]. URL <https://www.jax.org/strain/006293>
- Jeerakathil, T., Wolf, P.A., Beiser, A., Hald, J.K., Au, R., Kase, C.S., Massaro, J.M., DeCarli, C., 2004. Cerebral microbleeds: Prevalence and associations with cardiovascular risk factors in the Framingham Study. *Stroke* 35, 1831–1835. <https://doi.org/10.1161/01.STR.0000131809.35202.1b>
- Jellinger, K.A., Attems, J., 2007. Neuropathological evaluation of mixed dementia. *J. Neurol. Sci.* 257, 80–7. <https://doi.org/10.1016/j.jns.2007.01.045>
- Ji, T., Zhao, Y., Wang, J., Cui, Y., Duan, D., Chai, Q., Zhang, H., Liu, Z., 2018. Effect of Low-Dose Statins and Apolipoprotein E Genotype on Cerebral Small Vessel Disease in Older Hypertensive Patients: A Subgroup Analysis of a Randomized Clinical Trial. *J. Am. Med. Dir. Assoc.* <https://doi.org/10.1016/j.jamda.2018.05.025>
- Jia, Z., Mohammed, W., Qiu, Y., Hong, X., Shi, H., 2014. Hypertension increases the risk of cerebral microbleed in the territory of posterior cerebral artery: A study of the association of microbleeds categorized on a basis of vascular territories and cardiovascular risk factors. *J. Stroke Cerebrovasc. Dis.* 23, e5–e11. <https://doi.org/10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2012.12.016>
- Jiao, S.S., Bu, X. Le, Liu, Y.H., Zhu, C., Wang, Q.H., Shen, L.L., Liu, C.H., Wang, Y.R., Yao, X.Q., Wang, Y.J., 2016. Sex Dimorphism Profile of Alzheimer’s Disease-Type Pathologies in an APP/PS1 Mouse Model. *Neurotox. Res.* 29, 256–266. <https://doi.org/10.1007/s12640-015-9589-x>
- Jick, H., Zornberg, G., Jick, S., Seshadri, S., Drachman, D., 2000. Statins and the risk of dementia. *Lancet* 356, 1627–1631. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(00\)03155-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(00)03155-X)
- Joffe, H., Hall, J.E., Gruber, S., Sarmiento, I.A., Cohen, L.S., Yurgelun-Todd, D., Martin, K.A., 2006. Estrogen therapy selectively enhances prefrontal cognitive processes: A randomized, double-blind, placebo-controlled study with functional magnetic resonance imaging in perimenopausal and recently postmenopausal women. *Menopause* 13, 411–422. <https://doi.org/10.1097/01.gme.0000189618.48774.7b>
- Johansson, S., Wilhelmsen, L., Welin, C., Eriksson, H., Welin, L., Rosengren, A., 2010. Obesity, smoking and secular trends in cardiovascular risk factors in middle-aged women: Data from population studies in Göteborg from 1980 to 2003. *J. Intern. Med.* 268, 594–603. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2796.2010.02278.x>
- Jones, M.W., 2002. A comparative review of rodent prefrontal cortex and working memory. *Curr. Mol. Med.* 2, 639–47.
- Kantarci, K., Gunter, J.L., Tosakulwong, N., Weigand, S.D., Senjem, M.S., Petersen, R.C., Aisen, P.S., Jagust, W.J., Weiner, M.W., Jack, C.R., 2013. Focal hemosiderin deposits and β -amyloid load in the ADNI cohort. *Alzheimer’s Dement.* 9, S116–S123. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2012.10.011>
- Karl, T., Bhatia, S., Cheng, D., Kim, W.S., Garner, B., 2012. Cognitive phenotyping of amyloid precursor protein transgenic J20 mice. *Behav. Brain Res.* 228, 392–397. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2011.12.021>
- Kim, E.J., Cho, S.S., Jeong, Y., Park, K.C., Kang, S.J., Kang, E., Kim, S.E., Lee, K.H., Na, D.L., 2005. Glucose metabolism in early onset versus late onset Alzheimer’s disease: an SPM analysis of 120 patients. *Brain* 128, 1790–1801. <https://doi.org/10.1093/brain/awh539>
- Kim, S., Choi, S.H., Lee, Y.M., Kim, M.J., Kim, Y.D., Kim, J.Y., Park, J.H., Myung, W., Na, H.R., Han, H.J., Shim, Y.S., Kim, J.H., Yoon, S.J., Kim, S.Y., Kim, D.K., 2015. Periventricular white matter hyperintensities and the risk of dementia: a CREDOS study. *Int. Psychogeriatrics* 27, 2069–2077. <https://doi.org/10.1017/S1041610215001076>
- Kisler, K., Nelson, A.R., Montagne, A., Zlokovic, B. V., 2017. Cerebral blood flow regulation and neurovascular dysfunction in Alzheimer disease. *Nat. Rev. Neurosci.* 18, 419–434. <https://doi.org/10.1038/nrn.2017.48>
- Kivipelto, M., Helkala, E.L., Laakso, M.P., Hänninen, T., Hallikainen, M., Alhainen, K., Soininen, H., Tuomilehto, J., Nissinen, A., 2001. Midlife vascular risk factors and Alzheimer’s disease in later life: longitudinal, population based study. *BMJ* 322, 1447–51.
- Knopman, D.S., Mosley, T.H., Catellier, D.J., Coker, L.H., 2009. Fourteen-year longitudinal study of vascular risk factors, APOE genotype, and cognition: The ARIC MRI Study. *Alzheimer’s Dement.* 5, 207–214. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2009.01.027>
- Koedam, E.L.G.E., Lauffer, V., Van Der Vlies, A.E., Van Der Flier, W.M., Scheltens, P., Pijnenburg, Y.A.L., 2010. Early-versus late-onset Alzheimer’s disease: More than age alone. *J. Alzheimer’s Dis.* 19, 1401–1408. <https://doi.org/10.3233/JAD-2010-1337>
- Kok, H.S., van Asselt, K.M., van der Schouw, Y.T., van der Tweel, I., Peeters, P.H.M., Wilson, P.W.F., Pearson, P.L., Grobbee, D.E., 2006. Heart Disease Risk Determines Menopausal Age Rather Than the Reverse. *J. Am. Coll. Cardiol.* 47, 1976–1983. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2005.12.066>
- Koran, M.E.I., Wagener, M., Hohman, T.J., 2017. Sex differences in the association between AD biomarkers and cognitive decline. *Brain Imaging Behav.* 11, 205–213. <https://doi.org/10.1007/s11682-016-9523-8>
- Kretz, O., 2004. Hippocampal Synapses Depend on Hippocampal Estrogen Synthesis. *J. Neurosci.* 24, 5913–5921. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5186-03.2004>
- Krolak-Salmon, P., Dubois, B., Sellal, F., Delabrousse-Mayoux, J.-P., Vandel, P., Amieva, H., Jeandel, C., Andrieu,

- S., Perret-Liaudet, A., 2018. France Will No More Reimburse Available Symptomatic Drugs Against Alzheimer's Disease. *J. Alzheimer's Dis.* 1–3. <https://doi.org/10.3233/JAD-180843>
- Kumar-Singh, S., 2009. Hereditary and Sporadic Forms of A β -Cerebrovascular Amyloidosis and Relevant Transgenic Mouse Models. *Int. J. Mol. Sci.* 10, 1872–1895. <https://doi.org/10.3390/ijms10041872>
- Kurata, T., Miyazaki, K., Kozuki, M., Panin, V.L., Morimoto, N., Ohta, Y., Nagai, M., Ikeda, Y., Matsuura, T., Abe, K., 2011. Atorvastatin and pitavastatin improve cognitive function and reduce senile plaque and phosphorylated tau in aged APP mice. *Brain Res.* 1371, 161–170. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2010.11.067>
- Kurata, T., Miyazaki, K., Morimoto, N., Kawai, H., Ohta, Y., Ikeda, Y., Abe, K., 2013. Atorvastatin and pitavastatin reduce oxidative stress and improve IR/LDL-R signals in Alzheimer's disease. *Neurol. Res.* 35, 193–205. <https://doi.org/10.1179/1743132812Y.0000000127>
- Kurinami, H., Sato, N., Shinohara, M., Takeuchi, D., Takeda, S., Shimamura, M., Ogihara, T., Morishita, R., 2008. Prevention of amyloid β -induced memory impairment by fluvastatin, associated with the decrease in amyloid β accumulation and oxidative stress in amyloid β injection mouse model. *Int. J. Mol. Med.* 21, 531–537.
- Langa, K.M., 2015. Is the risk of Alzheimer's disease and dementia declining? *Alzheimer's Res. Ther.* 7, 2013–2016. <https://doi.org/10.1186/s13195-015-0118-1>
- Larsson, S.C., Markus, H.S., 2018. Does Treating Vascular Risk Factors Prevent Dementia and Alzheimer's Disease? A Systematic Review and Meta-Analysis. *J. Alzheimer's Dis.* 64, 657–668. <https://doi.org/10.3233/JAD-180288>
- Lawlor, B., Segurado, R., Kennelly, S., Olde Rikkert, M.G.M., Howard, R., Pasquier, F., Börjesson-Hanson, A., Tsolaki, M., Lucca, U., Molloy, D.W., Coen, R., Riepe, M.W., Kálmán, J., Kenny, R.A., Cregg, F., O'Dwyer, S., Walsh, C., Adams, J., Banzi, R., Breuilh, L., Daly, L., Hendrix, S., Aisen, P., Gaynor, S., Sheikhi, A., Taekema, D.G., Verhey, F.R., Nemni, R., Nobili, F., Franceschi, M., Frisoni, G., Zanetti, O., Konsta, A., Anastasios, O., Nenopoulou, S., Tsolaki-Tagaraki, F., Pakaski, M., Dereeper, O., de la Sayette, V., Sénéchal, O., Lavenu, I., Devendeville, A., Calais, G., Crawford, F., Mullan, M., Group, for the N.S., 2018. Nilvadipine in mild to moderate Alzheimer disease: A randomised controlled trial. *PLOS Med.* 15, e1002660. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1002660>
- LeBlanc, E.S., Janowsky, J., Chan, B.K.S., Nelson, H.D., 2001. Hormone Replacement Therapy and Cognition. *JAMA* 285, 1489. <https://doi.org/10.1001/jama.285.11.1489>
- Lebrun, C.E.I., Van Der Schouw, Y.T., De Jong, F.H., Pols, H.A.P., Grobbee, D.E., Lamberts, S.W.J., 2005. Endogenous oestrogens are related to cognition in healthy elderly women. *Clin. Endocrinol. (Oxf.)* 63, 50–55. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2265.2005.02297.x>
- Lee, J.S., Im, D.S., An, Y.-S., Hong, J.M., Gwag, B.J., Joo, I.S., 2011. Chronic cerebral hypoperfusion in a mouse model of Alzheimer's disease: An additional contributing factor of cognitive impairment. *Neurosci. Lett.* 489, 84–88. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2010.11.071>
- Leening, M.J.G., Ferket, B.S., Steyerberg, E.W., Kavousi, M., Deckers, J.W., Nieboer, D., Heeringa, J., Portegies, M.L.P., Hofman, A., Ikram, M.A., Hunink, M.G.M., Franco, O.H., Stricker, B.H., Witteman, J.C.M., Roos-Hesselink, J.W., 2014. Sex differences in lifetime risk and first manifestation of cardiovascular disease: Prospective population based cohort study. *BMJ* 349, g5992–g5992. <https://doi.org/10.1136/bmj.g5992>
- Leeuwis, A.E., Prins, N.D., Hooghiemstra, A.M., Benedictus, M.R., Scheltens, P., Barkhof, F., van der Flier, W.M., 2018. Microbleeds are associated with depressive symptoms in Alzheimer's disease. *Alzheimer's Dement. Diagnosis, Assess. Dis. Monit.* 10, 112–120. <https://doi.org/10.1016/j.dadm.2017.11.006>
- Leger, M., Quiedeville, A., Bouet, V., Haelewyn, B., Boulouard, M., Schumann-Bard, P., Freret, T., 2013. Object recognition test in mice. *Nat. Protoc.* 8, 2531–2537. <https://doi.org/10.1038/nprot.2013.155>
- Lesourd, M., Le Gall, D., Baumard, J., Croisile, B., Jarry, C., Osiurak, F., 2013. Apraxia and alzheimer's disease: Review and perspectives. *Neuropsychol. Rev.* 23, 234–256. <https://doi.org/10.1007/s11065-013-9235-4>
- Letenneur, L., Gilleron, V., Commenges, D., Helmer, C., Orgogozo, J.M., Dartigues, J.F., 1999. Are sex and educational level independent predictors of dementia and Alzheimer's disease? Incidence data from the PAQUID project. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 66, 177–183.
- Levin-Allerhand, J.A., Lominska, C.E., Wang, J., Smith, J.D., 2002. 17 α -estradiol and 17 β -estradiol treatments are effective in lowering cerebral amyloid- β levels in A β PPSWE transgenic mice. *J. Alzheimer's Dis.* 4, 449–457. <https://doi.org/10.3233/JAD-2002-4601>
- Leys, D., Hénon, H., Mackowiak-Cordoliani, M.-A., Pasquier, F., 2005. Poststroke dementia. *Lancet. Neurol.* 4, 752–9. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(05\)70221-0](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(05)70221-0)
- Li, G., Larson, E.B., Sonnen, J.A., Shofer, J.B., Petrie, E.C., Schantz, A., Peskind, E.R., Raskind, M.A., Breitner, J.C.S., Montine, T.J., 2007. Statin therapy is associated with reduced neuropathologic changes of Alzheimer disease. *Neurology* 69, 878–885. <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000277657.95487.1c>
- Li, G., Mayer, C.L., Morelli, D., Millard, S.P., Raskind, W.H., Petrie, E.C., Cherrier, M., Fagan, A.M., Raskind, M.A., Peskind, E.R., 2017. Effect of simvastatin on CSF Alzheimer disease biomarkers in cognitively normal adults. *Neurology* 89, 1251–1255. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000004392>
- Li, J., Wang, Y.J., Zhang, M., Xu, Z.Q., Gao, C.Y., Fang, C.Q., Yan, J.C., Zhou, H.D., 2011. Vascular risk factors

- promote conversion from mild cognitive impairment to Alzheimer disease. *Neurology* 76, 1485–1491. <https://doi.org/10.1212/WNL.0b013e318217e7a4>
- Li, L., Cao, D., Kim, H., Lester, R., Fukuchi, K.I., 2006. Simvastatin enhances learning and memory independent of amyloid load in mice. *Ann. Neurol.* 60, 729–739. <https://doi.org/10.1002/ana.21053>
- Li, X., Leng, S., Song, D., 2015. Link between type 2 diabetes and Alzheimer's disease: from epidemiology to mechanism and treatment. *Clin. Interv. Aging* 549. <https://doi.org/10.2147/CIA.S74042>
- Li, X., Yuan, J., Yang, L., Qin, W., Yang, S., Li, Y., Fan, H., Hu, W., 2017. The significant effects of cerebral microbleeds on cognitive dysfunction: An updated meta-analysis. *PLoS One* 12, 1–13. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0185145>
- Lin, F.C., Chuang, Y.S., Hsieh, H.M., Lee, T.C., Chiu, K.F., Liu, C.K., Wu, M.T., 2015. Early statin use and the progression of Alzheimer disease: A total population-based case-control study. *Med. (United States)* 94, e2143. <https://doi.org/10.1097/MD.0000000000002143>
- Lin, X., Tang, Y., Sun, B., Hou, Z., Meng, H., Li, Z., Liu, Q., Liu, S., 2010. Cerebral glucose metabolism: Influence on perihematomal edema formation after intracerebral hemorrhage in cat models. *Acta radiol.* 51, 549–554. <https://doi.org/10.3109/02841851003660065>
- Liu, F., Day, M., Muñiz, L.C., Bitran, D., Arias, R., Revilla-Sanchez, R., Grauer, S., Zhang, G., Kelley, C., Pulito, V., Sung, A., Mervis, R.F., Navarra, R., Hirst, W.D., Reinhart, P.H., Marquis, K.L., Moss, S.J., Pangalos, M.N., Brandon, N.J., 2008. Activation of estrogen receptor- β regulates hippocampal synaptic plasticity and improves memory. *Nat. Neurosci.* 11, 334–343. <https://doi.org/10.1038/nn2057>
- Liu, H., Yang, L., Zhao, Yi., Zeng, G., Wu, Y., Chen, Y., Zhang, J., Zang, Qi., 2014. Estrogen is a novel regulator of *Tnfrsf1* in mouse hippocampus. *Int. J. Mol. Med.* 34, 219–227. <https://doi.org/10.3892/ijmm.2014.1742>
- Liu, M.Y., Yin, C.Y., Zhu, L.J., Zhu, X.H., Xu, C., Luo, C.X., Chen, H., Zhu, D.Y., Zhou, Q.G., 2018. Sucrose preference test for measurement of stress-induced anhedonia in mice. *Nat. Protoc.* 13, 1686–1698. <https://doi.org/10.1038/s41596-018-0011-z>
- Liu, S., Grigoryan, M.M., Vasilevko, V., Sumbria, R.K., Paganini-Hill, A., Cribbs, D.H., Fisher, M.J., 2014. Comparative Analysis of H&E and Prussian Blue Staining in a Mouse Model of Cerebral Microbleeds. *J. Histochem. Cytochem.* 62, 767–773. <https://doi.org/10.1369/0022155414546692>
- Liu, Y., Braidy, N., Poljak, A., Chan, D.K.Y., Sachdev, P., 2018. Cerebral small vessel disease and the risk of Alzheimer's disease: A systematic review. *Ageing Res. Rev.* 47, 41–48. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2018.06.002>
- Lobo, A., Launer, L.J., Fratiglioni, L., Andersen, K., Di Carlo, A., Breteler, M.M., Copeland, J.R., Dartigues, J.F., Jagger, C., Martinez-Lage, J., Soininen, H., Hofman, A., 2000. Prevalence of dementia and major subtypes in Europe: A collaborative study of population-based cohorts. *Neurology* 54, 4–9. <https://doi.org/10.1212/WNL.54.11.21A>
- Ma, D., Cardoso, M.J., Modat, M., Powell, N., Wells, J., Holmes, H., Wiseman, F., Tybulewicz, V., Fisher, E., Lythgoe, M.F., Ourselin, S., 2014. Automatic structural parcellation of mouse brain MRI using multi-atlas label fusion. *PLoS One* 9. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0086576>
- MacLellan, C.L., Langdon, K.D., Churchill, K.P., Granter-Button, S., Corbett, D., 2009. Assessing cognitive function after intracerebral hemorrhage in rats. *Behav. Brain Res.* 198, 321–328. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2008.11.004>
- Maki, P.M., 2006. Hormone therapy and cognitive function: Is there a critical period for benefit? *Neuroscience* 138, 1027–1030. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2006.01.001>
- Manjón, J. V., Coupé, P., 2016. volBrain: An Online MRI Brain Volumetry System. *Front. Neuroinform.* 10. <https://doi.org/10.3389/fninf.2016.00030>
- Marfany, A., Sierra, C., Camafort, M., Doménech, M., Coca, A., 2018. High blood pressure, Alzheimer disease and antihypertensive treatment. *Panminerva Med.* 60, 8–16. <https://doi.org/10.23736/S0031-0808.18.03360-8>
- Masse, I., Bordet, R., Deplanque, D., Al Khedr, A., Richard, F., Libersa, C., Pasquier, F., 2005. Lipid lowering agents are associated with a slower cognitive decline in Alzheimer's disease. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 76, 1624–1629. <https://doi.org/10.1136/jnnp.2005.063388>
- Masuda, T., Maki, M., Hara, K., Yasuhara, T., Matsukawa, N., Yu, S., Bae, E.C., Tajiri, N., Chheda, S.H., Solomita, M.A., Weinbren, N., Kaneko, Y., Kirov, S.A., Hess, D.C., Hida, H., Borlongan, C. V., 2010. Peri-hemorrhagic degeneration accompanies stereotaxic collagenase-mediated cortical hemorrhage in mouse. *Brain Res.* 1355, 228–239. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2010.07.101>
- McAuley, G., Schrag, M., Barnes, S., Obenaus, A., Dickson, A., Kirsch, W., 2012. In vivo iron quantification in collagenase-induced microbleeds in rat brain. *Magn. Reson. Med.* 67, 711–717. <https://doi.org/10.1002/mrm.23045>
- McGuinness, B., Craig, D., Bullock, R., Passmore, P., 2016. Statins for the prevention of dementia. *Cochrane Database Syst. Rev.* <https://doi.org/10.1002/14651858.CD003160.pub3>
- McGuinness, B., Todd, S., Passmore, P., Bullock, R., 2009. Blood pressure lowering in patients without prior cerebrovascular disease for prevention of cognitive impairment and dementia. *Cochrane Database Syst. Rev.* <https://doi.org/10.1002/14651858.CD004034.pub3>

- McKhann, G., Drachman, D., Folstein, M., Katzman, R., Price, D., Stadlan, E.M., 1984. Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: Report of the NINCDS-ADRDA Work Group* under the auspices of Department of Health and Human Services Task Force on Alzheimer's Disease. *Neurology* 34, 939–939. <https://doi.org/10.1212/WNL.34.7.939>
- McKhann, G., Knopman, D.S., Chertkow, H., Hyman, B.T., Jack, C.R., Kawas, C.H., Klunk, W.E., Koroshetz, W.J., Manly, J.J., Mayeux, R., Mohs, R.C., Morris, J.C., Rossor, M.N., Scheltens, P., Carrillo, M.C., Thies, B., Weintraub, S., Phelps, C.H., 2011. The diagnosis of dementia due to Alzheimer's disease: Recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimer's Dement.* 7, 263–269. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2011.03.005>
- Meng, X.-F., Yu, J.-T., Wang, H.-F., Tan, M.-S., Wang, C., Tan, C.-C., Tan, L., 2014. Midlife Vascular Risk Factors and the Risk of Alzheimer's Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J. Alzheimer's Dis.* 42, 1295–1310. <https://doi.org/10.3233/JAD-140954>
- Mercy, L., Hodges, J.R., Dawson, K., Barker, R.A., Brayne, C., 2008. Incidence of early-onset dementias in Cambridgeshire, United Kingdom. *Neurology* 71, 1496–1499. <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000334277.16896.fa>
- Meyer, P.M., Powell, L.H., Wilson, R.S., Everson-Rose, S.A., Kravitz, H.M., Luborsky, J.L., Madden, T., Pandey, D., Evans, D.A., 2003. A population-based longitudinal study of cognitive functioning in the menopausal transition. *Neurology* 61, 801–806. <https://doi.org/10.1212/01.WNL.0000079051.91602.E2>
- Meziane, H., Ouagazzal, A.M., Aubert, L., Wietrych, M., Krezel, W., 2007. Estrous cycle effects on behavior of C57BL/6J and BALB/cByJ female mice: Implications for phenotyping strategies. *Genes, Brain Behav.* 6, 192–200. <https://doi.org/10.1111/j.1601-183X.2006.00249.x>
- Mielke, M.M., Vemuri, P., Rocca, W.A., 2014. Clinical epidemiology of Alzheimer's disease: Assessing sex and gender differences. *Clin. Epidemiol.* 6, 37–48. <https://doi.org/10.2147/CLEP.S37929>
- Mishra, M.R., Nayak, P.K., Sarangi, R., 2017. Statins: Are they also memory enhancers? A study in relation to their hypocholesterolemic and antioxidant effects in Swiss albino mice. *Natl. J. Physiol. Pharm. Pharmacol.* 7, 1293–1299. <https://doi.org/10.5455/njppp.2017.7.0516929062017>
- Mizuno, M., Yamada, K., Maekawa, N., Saito, K., Seishima, M., Nabeshima, T., 2002. CREB phosphorylation as a molecular marker of memory processing in the hippocampus for spatial learning. *Behav. Brain Res.* 133, 135–141. [https://doi.org/10.1016/S0166-4328\(01\)00470-3](https://doi.org/10.1016/S0166-4328(01)00470-3)
- MRC/BHF Heart Protection Study of cholesterol lowering with simvastatin in 20 536 high-risk individuals: a randomised placebocontrolled trial, 2002. *Lancet* 360, 7–22. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(02\)09327-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(02)09327-3)
- 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.* 20, 4050–8. <https://doi.org/10.1002/ana.410370303>
- Mukai, H., Tsurugizawa, T., Murakami, G., Kominami, S., Ishii, H., Ogiue-Ikeda, M., Takata, N., Tanabe, N., Furukawa, A., Hojo, Y., Ooishi, Y., Morrison, J.H., Janssen, W.G.M., Rose, J.A., Chambon, P., Kato, S., Izumi, S., Yamazaki, T., Kimoto, T., Kawato, S., 2007. Rapid modulation of long-term depression and spinogenesis via synaptic estrogen receptors in hippocampal principal neurons. *J. Neurochem.* 100, 950–967. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2006.04264.x>
- Muller, M., Schupf, N., Manly, J.J., Mayeux, R., Luchsinger, J.A., 2010. Sex hormone binding globulin and incident Alzheimer's disease in elderly men and women. *Neurobiol. Aging* 31, 1758–1765. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2008.10.001>
- Murphy, M.P., Morales, J., Beckett, T.L., Astarita, G., Piomelli, D., Weidner, A., Studzinski, C.M., Dowling, A.L.S., Wang, X., Levine, H., Kryscio, R.J., Lin, Y., Barrett, E., Head, E., 2010. Changes in cognition and amyloid- β processing with long term cholesterol reduction using atorvastatin in aged dogs. *J. Alzheimer's Dis.* 22, 135–150. <https://doi.org/10.3233/JAD-2010-100639>
- Nakamura, T., Xi, G., Hua, Y., Schallert, T., Hoff, J.T., Keep, R.F., 2004. Intracerebral Hemorrhage in Mice: Model Characterization and Application for Genetically Modified Mice. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 24, 487–494. <https://doi.org/10.1097/00004647-200405000-00002>
- Nakata-Kudo, Y., Mizuno, T., Yamada, K., Shiga, K., Yoshikawa, K., Mori, S., Nishimura, T., Nakajima, K., Nakagawa, M., 2006. Microbleeds in Alzheimer disease are more related to cerebral amyloid angiopathy than cerebrovascular disease. *Dement. Geriatr. Cogn. Disord.* 22, 8–14. <https://doi.org/10.1159/000092958>
- Nathan, B.P., Barsukova, A.G., Shen, F., McAsey, M., Struble, R.G., 2004. Estrogen facilitates neurite extension via apolipoprotein E in cultured adult mouse cortical neurons. *Endocrinology* 145, 3065–3073. <https://doi.org/10.1210/en.2003-1707>
- Nebel, R.A., Aggarwal, N.T., Barnes, L.L., Gallagher, A., Goldstein, J.M., Kantarci, K., Mallampalli, M.P., Mormino, E.C., Scott, L., Yu, W.H., Maki, P.M., Mielke, M.M., 2018. Understanding the impact of sex and gender in Alzheimer's disease: A call to action. *Alzheimer's Dement.* 14, 1171–1183. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2018.04.008>
- Nelson, J.F., Felicio, L.S., Osterburg, H.H., Finch, C.E., 1992. Differential contributions of ovarian and extraovarian

- factors to age-related reductions in plasma estradiol and progesterone during the estrous cycle of C57BL/6J mice. *Endocrinology* 130, 805–810. <https://doi.org/10.1210/endo.130.2.1733727>
- Neu, S.C., Pa, J., Kukull, W., Beekly, D., Kuzma, A., Gangadharan, P., Wang, L.S., Romero, K., Arneric, S.P., Redolfi, A., Orlandi, D., Frisoni, G.B., Au, R., Devine, S., Auerbach, S., Espinosa, A., Boada, M., Ruiz, A., Johnson, S.C., Kosciak, R., Wang, J.J., Hsu, W.C., Chen, Y.L., Toga, A.W., 2017. Apolipoprotein E genotype and sex risk factors for Alzheimer disease: A meta-analysis. *JAMA Neurol.* 74, 1178–1189. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2017.2188>
- Norbury, R., Travis, M.J., Erlandsson, K., Waddington, W., Ell, P.J., Murphy, D.G.M., 2007. Estrogen Therapy and brain muscarinic receptor density in healthy females: A SPET study. *Horm. Behav.* 51, 249–257. <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2006.10.007>
- Nordström, P., Nordström, A., Eriksson, M., Wahlund, L.O., Gustafson, Y., 2013. Risk factors in late adolescence for young-onset dementia in men: A nationwide cohort study. *JAMA Intern. Med.* 173, 1612–1618. <https://doi.org/10.1001/jamainternmed.2013.9079>
- Norton, S., Matthews, F.E., Barnes, D.E., Yaffe, K., Brayne, C., 2014. Potential for primary prevention of Alzheimer's disease: An analysis of population-based data. *Lancet Neurol.* 13, 788–794. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(14\)70136-X](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(14)70136-X)
- Notkola, I.L., Sulkava, R., Pekkanen, J., Erkinjuntti, T., Ehnholm, C., Kivinen, P., Tuomilehto, J., Nissinen, A., 1998. Serum total cholesterol, apolipoprotein E ε4 allele, and Alzheimer's disease. *Neuroepidemiology* 17, 14–20. <https://doi.org/10.1159/000026149>
- Nyberg, J., Aberg, M.A.I., Schiöler, L., Nilsson, M., Wallin, A., Torén, K., Kuhn, H.G., 2014. Cardiovascular and cognitive fitness at age 18 and risk of early-onset dementia. *Brain* 137, 1514–1523. <https://doi.org/10.1093/brain/awu041>
- O'Brien, J.T., Markus, H.S., 2014. Vascular risk factors and Alzheimer's disease. *BMC Med.* 12, 218. <https://doi.org/10.1186/s12916-014-0218-y>
- Ouk, T., Amr, G., Azzaoui, R., Delassus, L., Fossaert, E., Tailleux, A., Bordet, R., Modine, T., 2016. Lipid-lowering drugs prevent neurovascular and cognitive consequences of cardiopulmonary bypass. *Vascul. Pharmacol.* 80, 59–66. <https://doi.org/10.1016/j.vph.2015.12.005>
- Ouk, T., Potey, C., Laprais, M., Gautier, S., Hanf, R., Dartel, R., Staels, B., Duriez, P., Bordet, R., 2014. PPARα is involved in the multitargeted effects of a pretreatment with atorvastatin in experimental stroke. *Fundam. Clin. Pharmacol.* 28, 294–302. <https://doi.org/10.1111/fcp.12035>
- Padala, K.P., Padala, P.R., McNeilly, D.P., Geske, J.A., Sullivan, D.H., Potter, J.F., 2012. The effect of HMG-CoA reductase inhibitors on cognition in patients with Alzheimer's dementia: A prospective withdrawal and rechallenge pilot study. *Am. J. Geriatr. Pharmacother.* 10, 296–302. <https://doi.org/10.1016/j.amjopharm.2012.08.002>
- Panegyres, P.K., Chen, H.Y., 2014. Early-onset Alzheimer's disease: A global cross-sectional analysis. *Eur. J. Neurol.* 21. <https://doi.org/10.1111/ene.12453>
- Pantoni, L., 2010. Cerebral small vessel disease: from pathogenesis and clinical characteristics to therapeutic challenges. *Lancet Neurol.* 9, 689–701. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(10\)70104-6](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(10)70104-6)
- Paradise, M., Seruga, A., Crawford, J.D., Chaganti, J., Thalamuthu, A., Kochan, N.A., Brodaty, H., Wen, W., Sachdev, P.S., 2018. The relationship of cerebral microbleeds to cognition and incident dementia in non-demented older individuals. *Brain Imaging Behav.* 1–12. <https://doi.org/10.1007/s11682-018-9883-3>
- Park, I.H., Hwang, E.M., Hong, H.S., Boo, J.H., Oh, S.S., Lee, J., Jung, M.W., Bang, O.Y., Kim, S.U., Mook-Jung, I., 2003. Lovastatin enhances Aβ production and senile plaque deposition in female Tg2576 mice. *Neurobiol. Aging* 24, 637–643. [https://doi.org/10.1016/S0197-4580\(02\)00155-0](https://doi.org/10.1016/S0197-4580(02)00155-0)
- Parsons, R.B., Price, G.C., Farrant, J.K., Subramaniam, D., Adeagbo-Sheikh, J., Austen, B.M., 2006. Statins inhibit the dimerization of β-secretase via both isoprenoid- and cholesterol-mediated mechanisms. *Biochem. J.* 399, 205–214. <https://doi.org/10.1042/BJ20060655>
- Pasquier, F., Rollin-Sillaire, A., Lebouvier, T., Lebert, F., 2015. Maladie d'Alzheimer du sujet jeune., in: DOIN (Ed.), *Démences*. pp. 259–72.
- Paumelle, R., Staels, B., 2008. Cross-talk Between Statins and PPARα in Cardiovascular Diseases: Clinical Evidence and Basic Mechanisms. *Trends Cardiovasc. Med.* 18, 73–78. <https://doi.org/10.1016/j.tcm.2008.01.001>
- Perneczky, R., Drzezga, A., Diehl-Schmid, J., Li, Y., Kurz, A., 2007. Gender differences in brain reserve: An18F-FDG PET study in Alzheimer's disease. *J. Neurol.* 254, 1395–1400. <https://doi.org/10.1007/s00415-007-0558-z>
- Pettersen, J.A., Sathiyamoorthy, G., Gao, F.Q., Szilagyi, G., Nadkarni, N.K., St. George-Hyslop, P., Rogaeva, E., Black, S.E., 2008. Microbleed topography, leukoaraiosis, and cognition in probable Alzheimer disease from the sunnybrook dementia study. *Arch. Neurol.* 65, 790–795. <https://doi.org/10.1001/archneur.65.6.790>
- Pike, C.J., 2017. Sex and the development of Alzheimer's disease. *J. Neurosci. Res.* 95, 671–680. <https://doi.org/10.1002/jnr.23827>
- Power, M.C., Weuve, J., Gagne, J.J., McQueen, M.B., Viswanathan, A., Blacker, D., 2011. The association between

- blood pressure and incident Alzheimer disease: a systematic review and meta-analysis. *Epidemiology* 22, 646–659. <https://doi.org/10.1097/EDE.0b013e31822708b5>
- Power, M.C., Weuve, J., Sharrett, A.R., Blacker, D., Gottesman, R.F., 2015. Statins, cognition, and dementia—systematic review and methodological commentary. *Nat. Rev. Neurol.* 11, 220–229. <https://doi.org/10.1038/nrneurol.2015.35>
- Prendergast, B.J., Onishi, K.G., Zucker, I., 2014. Female mice liberated for inclusion in neuroscience and biomedical research. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 40, 1–5. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2014.01.001>
- Prince, M., Wimo, A., Guerchet, M., Ali, G.-C., Wu, Y.-T., Prina, M., 2015. World Alzheimer Report 2015 - The Global Impact of Dementia: An analysis of prevalence, incidence, cost and trends.
- Proust-Lima, C., Amieva, H., Letenneur, L., Orgogozo, J.-M., Jacqmin-Gadda, H., Dartigues, J.-F., 2008. Gender and education impact on brain aging: A general cognitive factor approach. *Psychol. Aging* 23, 608–620. <https://doi.org/10.1037/a0012838>
- Purnell, C., Gao, S., Callahan, C.M., Hendrie, H.C., 2009. Cardiovascular Risk Factors and Incident Alzheimer Disease. *Alzheimer Dis. Assoc. Disord.* 23, 1–10. <https://doi.org/10.1097/WAD.0b013e318187541c>
- Puszwald, G., Lehrner, J., Hagmann, M., Dal-Bianco, P., Benke, T., Loitfelder, M., Marksteiner, J., Mosbacher, J., Ransmayr, G., Sanin, G., Schmidt, R., 2015. Gender-Specific differences in cognitive profiles of patients with alzheimer’s disease: Results of the prospective dementia registry austria (PRODEM-Austria). *Handb. Depress. Alzheimer’s Dis.* 135–142. <https://doi.org/10.3233/978-1-61499-542-5-135>
- Qiu, C., Cotch, M.F., Sigurdsson, S., Jonsson, P. V., Jonsdottir, M.K., Sveinbjrnsdottir, S., Eiriksdottir, G., Klein, R., Harris, T.B., van Buchem, M.A., Gudnason, V., Launer, L.J., 2010. Cerebral microbleeds, retinopathy, and dementia: The AGES-Reykjavik Study. *Neurology* 75, 2221–2228. <https://doi.org/10.1212/WNL.0b013e3182020349>
- Qiu, C., Von Strauss, E., Winblad, B., Fratiglioni, L., 2004. Decline in blood pressure over time and risk of dementia: A longitudinal study from the Kungsholmen project. *Stroke.* <https://doi.org/10.1161/01.STR.0000133128.42462.ef>
- Ramanan, V.K., Przybelski, S.A., Graff-Radford, J., Castillo, A.M., Lowe, V.J., Mielke, M.M., Roberts, R.O., Reid, R.I., Knopman, D.S., Jack, C.R., Petersen, R.C., Vemuri, P., 2018. Statins and Brain Health: Alzheimer’s Disease and Cerebrovascular Disease Biomarkers in Older Adults. *J. Alzheimer’s Dis.* 65, 1345–1352. <https://doi.org/10.3233/JAD-180446>
- Rasmussen, K.L., Tybjarg-Hansen, A., Nordestgaard, B.G., Frikke-Schmidt, R., 2018. Absolute 10-year risk of dementia by age, sex and APOE genotype: A population-based cohort study. *Cmaj* 190, E1033–E1041. <https://doi.org/10.1503/cmaj.180066>
- Rea, T.D., Breitner, J.C., Psaty, B.M., Fitzpatrick, A.L., Lopez, O.L., Newman, A.B., Hazzard, W.R., Zandi, P.P., Burke, G.L., Lyketsos, C.G., Bernick, C., Kuller, L.H., 2005. Statin Use and the Risk of Incident Dementia. *Arch. Neurol.* 62, 1047. <https://doi.org/10.1001/archneur.62.7.1047>
- Reuter, B., Venus, A., Grudzenski, S., Heiler, P., Schad, L., Staufenbiel, M., Hennerici, M.G., Fatar, M., 2016. Statin therapy and the development of cerebral amyloid angiopathy—A rodent in vivo approach. *Int. J. Mol. Sci.* 17. <https://doi.org/10.3390/ijms17010126>
- Riekse, R.G., Li, G., Petrie, E.C., Leverenz, J.B., Vavrek, D., Vuletic, S., Albers, J.J., Montine, T.J., Lee, V.M.-Y., Lee, M., Seubert, P., Galasko, D., Schellenberg, G.D., Hazzard, W.R., Peskind, E.R., 2006. Effect of statins on Alzheimer’s disease biomarkers in cerebrospinal fluid. *J. Alzheimer’s Dis.* 10, 399–406. <https://doi.org/10.3233/JAD-2006-10408>
- Robert, P.H., Darcourt, G., Benoit, M., Clairet, S., Koulibaly, P.M., 2004. [Apathy in Alzheimer’s disease: results from three French studies]. *Psychol.Neuropsychiatr. Vieil.*
- Roberts, R.O., Geda, Y.E., Knopman, D.S., Cha, R.H., Pankratz, V.S., Boeve, B.F., Tangalos, E.G., Ivnik, R.J., Rocca, W.A., Petersen, R.C., 2012. The incidence of MCI differs by subtype and is higher in men: The Mayo Clinic Study of Aging. *Neurology* 78, 342–351. <https://doi.org/10.1212/WNL.0b013e3182452862>
- Roberts, R.O., Knopman, D.S., Geda, Y.E., Cha, R.H., Pankratz, V.S., Baertlein, L., Boeve, B.F., Tangalos, E.G., Ivnik, R.J., Mielke, M.M., Petersen, R.C., 2014. Association of diabetes with amnesic and nonamnesic mild cognitive impairment. *Alzheimer’s Dement.* 10, 18–26. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2013.01.001>
- Rocca, W.A., 2017. Time, Sex, Gender, History, and Dementia. *Alzheimer Dis. Assoc. Disord.* 31, 76–79. <https://doi.org/10.1097/WAD.0000000000000187>
- Rockwood, K., Kirkland, S., Hogan, D.B., MacKnight, C., Merry, H., Verreault, R., Wolfson, C., McDowell, I., 2002. Use of lipid-lowering agents, indication bias, and the risk of dementia in community-dwelling elderly people. *Arch. Neurol.* 59, 223–227. <https://doi.org/10.1001/archneur.59.2.223>
- Romero, J.R., Beiser, A., Himali, J.J., Shoamanesh, A., DeCarli, C., Seshadri, S., 2017a. Cerebral microbleeds and risk of incident dementia: the Framingham Heart Study. *Neurobiol. Aging* 54, 94–99. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2017.02.018>
- Romero, J.R., Preis, S.R., Beiser, A., Himali, J.J., Shoamanesh, A., Wolf, P.A., Kase, C.S., Vasan, R.S., DeCarli, C., Seshadri, S., 2017b. Cerebral Microbleeds as Predictors of Mortality. *Stroke* 48, 781–783. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.116.015354>

- Rönnemaa, E., Zethelius, B., Lannfelt, L., Kilander, L., 2011. Vascular risk factors and dementia: 40-year follow-up of a population-based cohort. *Dement. Geriatr. Cogn. Disord.* 31, 460–466. <https://doi.org/10.1159/000330020>
- Rosand, J., Muzikansky, A., Kumar, A., Wisco, J.J., Smith, E.E., Betensky, R.A., Greenberg, S.M., 2005. Spatial clustering of hemorrhages in probable cerebral amyloid angiopathy. *Ann. Neurol.* 58, 459–462. <https://doi.org/10.1002/ana.20596>
- Rosenberg, G.A., Kornfeld, M., Estrada, E., Kelley, R.O., Liotta, L.A., Stetler-Stevenson, W.G., 1992. TIMP-2 reduces proteolytic opening of blood-brain barrier by type IV collagenase. *Brain Res.* 576, 203–7.
- Rosenson, R.S., Tangney, C.C., Casey, L.C., 1999. Inhibition of proinflammatory cytokine production by pravastatin. *Lancet* 353, 983–984. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(98\)05917-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(98)05917-0)
- Rosidi, N.L., Zhou, J., Pattanaik, S., Wang, P., Jin, W., Brophy, M., Olbricht, W.L., Nishimura, N., Schaffer, C.B., 2011. Cortical microhemorrhages cause local inflammation but do not trigger widespread dendrite degeneration. *PLoS One* 6. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0026612>
- Roy, S., Weinstock, J.L., Ishino, A.S., Benites, J.F., Pop, S.R., Perez, C.D., Gumbs, E.A., Rosenbaum, J.A., Roccatto, M.K., Shah, H., Contino, G., Hunter, K., 2017. Association of Cognitive Impairment in Patients on 3-Hydroxy-3-Methyl-Glutaryl-CoA Reductase Inhibitors. *J. Clin. Med. Res.* 9, 638–649. <https://doi.org/10.14740/jocmr3066w>
- Sahebkar, A., Kotani, K., Serban, C., Ursoniu, S., Mikhailidis, D.P., Jones, S.R., Ray, K.K., Blaha, M.J., Rysz, J., Toth, P.P., Muntner, P., Lip, G.Y.H., Banach, M., 2015. Statin therapy reduces plasma endothelin-1 concentrations: A meta-analysis of 15 randomized controlled trials. *Atherosclerosis* 241, 433–442. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2015.05.022>
- Samaras, K., Brodaty, H., Sachdev, P.S., 2016. Does statin use cause memory decline in the elderly? *Trends Cardiovasc. Med.* 26, 550–565. <https://doi.org/10.1016/j.tcm.2016.03.009>
- Sanna, P.P., Cammalleri, M., Berton, F., Simpson, C., Lutjens, R., Bloom, F.E., Francesconi, W., 2002. Phosphatidylinositol 3-kinase is required for the expression but not for the induction or the maintenance of long-term potentiation in the hippocampal CA1 region. *J. Neurosci.* 22, 3359–65. <https://doi.org/20026298>
- Sano, M., Bell, K.L., Galasko, D., Galvin, J.E., Thomas, R.G., Van Dyck, C.H., Aisen, P.S., 2011. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial of simvastatin to treat Alzheimer disease. *Neurology* 77, 556–563. <https://doi.org/10.1212/WNL.0b013e318228bf11>
- Satizabal, C.L., Beiser, A.S., Chouraki, V., Chêne, G., Dufouil, C., Seshadri, S., 2016. Incidence of Dementia over Three Decades in the Framingham Heart Study. *N. Engl. J. Med.* 374, 523–532. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1504327>
- Scheltens, P., Blennowe, K., Breteler, M.M.B., De Strooper, B., Frisoni, G.B., Salloway, S., Van Der Flier, W.M., 2016. Alzheimer's disease. *Lancet* 388, 505–17. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(15\)01124-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(15)01124-1)
- Schilling, J.M., Cui, W., Godoy, J.C., Risbrough, V.B., Niesman, I.R., Roth, D.M., Patel, P.M., Drummond, J.C., Patel, H.H., Zemljic-Harper, A.E., Head, B.P., 2014. Long-term atorvastatin treatment leads to alterations in behavior, cognition, and hippocampal biochemistry. *Behav. Brain Res.* 267, 6–11. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2014.03.014>
- Schmidt, R., Schmidt, H., Haybaeck, J., Loitfelder, M., Weis, S., Cavalieri, M., Seiler, S., Enzinger, C., Ropele, S., Erkinjuntti, T., Pantoni, L., Scheltens, P., Fazekas, F., Jellinger, K., 2011. Heterogeneity in age-related white matter changes. *Acta Neuropathol.* 122, 171–185. <https://doi.org/10.1007/s00401-011-0851-x>
- Schneider, J.A., Arvanitakis, Z., Leurgans, S.E., Bennett, D.A., 2009. The neuropathology of probable Alzheimer disease and mild cognitive impairment. *Ann. Neurol.* 66, 200–208. <https://doi.org/10.1002/ana.21706>
- Schneider, J.A., Wilson, R.S., Bienias, J.L., Evans, D.A., Bennett, D.A., 2004. Cerebral infarctions and the likelihood of dementia from Alzheimer disease pathology. *Neurology* 62, 1148–1155. <https://doi.org/10.1212/01.WNL.0000118211.78503.F5>
- Schonewille, M., Freark de Boer, J., Mele, L., Wolters, H., Bloks, V.W., Wolters, J.C., Kuivenhoven, J.A., Tietge, U.J.F., Brufau, G., Groen, A.K., 2016. Statins increase hepatic cholesterol synthesis and stimulate fecal cholesterol elimination in mice. *J. Lipid Res.* 57, 1455–1464. <https://doi.org/10.1194/jlr.M067488>
- Schrag, M., McAuley, G., Pomakian, J., Jiffry, A., Tung, S., Mueller, C., Vinters, H. V., Haacke, E.M., Holshouser, B., Kido, D., Kirsch, W.M., 2010. Correlation of hypointensities in susceptibility-weighted images to tissue histology in dementia patients with cerebral amyloid angiopathy: a postmortem MRI study. *Acta Neuropathol.* 119, 291–302. <https://doi.org/10.1007/s00401-009-0615-z>
- Schultz, B.G., Patten, D.K., Berlau, D.J., 2018. The role of statins in both cognitive impairment and protection against dementia: a tale of two mechanisms. *Transl. Neurodegener.* 7, 5. <https://doi.org/10.1186/s40035-018-0110-3>
- Sepehry, A.A., Lang, D., Hsiung, G.-Y., Rauscher, A., 2016a. Prevalence of Brain Microbleeds in Alzheimer Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis on the Influence of Neuroimaging Techniques. *Am. J. Neuroradiol.* 37, 215–222. <https://doi.org/10.3174/ajnr.A4525>
- Sepehry, A.A., Rauscher, A., Hsiung, G.-Y., Lang, D.J., 2016b. Microbleeds in Alzheimer's Disease: A Neuropsychological Overview and Meta-Analysis. *Can. J. Neurol. Sci. / J. Can. des Sci. Neurol.* 43, 753–759. <https://doi.org/10.1017/cjn.2016.296>

- Shams, S., Granberg, T., Martola, J., Li, X., Shams, M., Fereshtehnejad, S.M., Cavallin, L., Aspelin, P., Kristoffersen-Wiberg, M., Wahlund, L.O., 2016. Cerebrospinal fluid profiles with increasing number of cerebral microbleeds in a continuum of cognitive impairment. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 36, 621–628. <https://doi.org/10.1177/0271678X15606141>
- Shams, S., Martola, J., Granberg, T., Li, X., Shams, M., Fereshtehnejad, S.M., Cavallin, L., Aspelin, P., Kristoffersen-Wiberg, M., Wahlund, L.O., 2015. Cerebral microbleeds: Different prevalence, topography, and risk factors depending on dementia diagnosis—the Karolinska imaging dementia study. *Am. J. Neuroradiol.* 36, 661–666. <https://doi.org/10.3174/ajnr.A4176>
- Shepherd, J., Cobbe, S.M., Ford, I., Isles, C.G., Lorimer, A.R., Macfarlane, P.W., McKillop, J.H., Packard, C.J., 1995. Prevention of Coronary Heart Disease with Pravastatin in Men with Hypercholesterolemia. *N. Engl. J. Med.* 333, 1301–1308. <https://doi.org/10.1056/NEJM199511163332001>
- Shibuya, Y., Kawakatsu, S., Hayashi, H., Kobayashi, R., Suzuki, A., Sato, C., Otani, K., 2013. Comparison of entorhinal cortex atrophy between early-onset and late-onset Alzheimer's disease using the VSRAD, a specific and sensitive voxel-based morphometry. *Int. J. Geriatr. Psychiatry* 28, 372–376. <https://doi.org/10.1002/gps.3834>
- Shih, Y.H., Wu, S.Y., Yu, M., Huang, S.H., Lee, C.W., Jiang, M.J., Lin, P.Y., Yang, T.T., Kuo, Y.M., 2018. Hypertension accelerates Alzheimer's disease-related pathologies in pigs and 3xTg mice. *Front. Aging Neurosci.* 10, 1–17. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2018.00073>
- Shinohara, M., Sato, N., Kurinami, H., Takeuchi, D., Takeda, S., Shimamura, M., Yamashita, T., Uchiyama, Y., Rakugi, H., Morishita, R., 2010. Reduction of brain β -amyloid (A β) by fluvastatin, a hydroxymethylglutaryl-CoA reductase inhibitor, through increase in degradation of amyloid precursor protein C-terminal fragments (APP-CTFs) and A β clearance. *J. Biol. Chem.* 285, 22091–22102. <https://doi.org/10.1074/jbc.M110.102277>
- Shitara, Y., Sugiyama, Y., 2006. Pharmacokinetic and pharmacodynamic alterations of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A (HMG-CoA) reductase inhibitors: Drug–drug interactions and interindividual differences in transporter and metabolic enzyme functions. *Pharmacol. Ther.* 112, 71–105. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2006.03.003>
- Silva, T., Teixeira, J., Remião, F., Borges, F., 2013. Alzheimer's disease, cholesterol, and statins: The junctions of important metabolic pathways. *Angew. Chemie - Int. Ed.* 52, 1110–1121. <https://doi.org/10.1002/anie.201204964>
- Sinyavskaya, L., Gauthier, S., Renoux, C., Dell'Aniello, S., Suissa, S., Brassard, P., 2018. Comparative effect of statins on the risk of incident Alzheimer disease. *Neurology* 90, e179–e187. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000004818>
- Skup, M., Zhu, H., Wang, Y., Giovanello, K.S., Lin, J., Shen, D., Shi, F., Gao, W., Lin, W., Fan, Y., Zhang, H., 2011. Sex differences in grey matter atrophy patterns among AD and aMCI patients: Results from ADNI. *Neuroimage* 56, 890–906. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2011.02.060>
- Smith, E.E., Schneider, J.A., Wardlaw, J.M., Greenberg, S.M., 2012. Cerebral microinfarcts: the invisible lesions. *Lancet Neurol.* 11, 272–282. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(11\)70307-6](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(11)70307-6)
- Smith, K.B., Kang, P., Sabbagh, M.N., 2017. The effect of statins on rate of cognitive decline in mild cognitive impairment. *Alzheimer's Dement. Transl. Res. Clin. Interv.* 3, 149–156. <https://doi.org/10.1016/j.trci.2017.01.001>
- Smith, Y.R., Minoshima, S., Kuhl, D.E., Zubietta, J.K., 2001. Effects of long-term hormone therapy on cholinergic synaptic concentrations in healthy postmenopausal women. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 86, 679–684. <https://doi.org/10.1210/jc.86.2.679>
- Smits, L.L., Pijnenburg, Y.A.L., Koedam, E.L.G.E., Van Der Vlies, A.E., Reuling, I.E.W., Koene, T., Teunissen, C.E., Scheltens, P., Van Der Flier, W.M., 2012. Early onset alzheimer's disease is associated with a distinct neuropsychological profile. *J. Alzheimer's Dis.* 30, 101–108. <https://doi.org/10.3233/JAD-2012-111934>
- Snowdon, D.A., Greiner, L., Mortimer, J.A., Al, E., 1997. Brain Infarction and the Clinical Expression of Alzheimer Disease The Nun Study. *JAMA J. Am. Med. Assoc.* 277, 813. <https://doi.org/10.1001/jama.1997.03540340047031>
- Solomon, A., Kivipelto, M., Wolozin, B., Zhou, J., Whitmer, R.A., 2009. Midlife serum cholesterol and increased risk of Alzheimer's and vascular dementia three decades later. *Dement. Geriatr. Cogn. Disord.* 28, 75–80. <https://doi.org/10.1159/000231980>
- Sotiropoulos, I., Silva, J., Kimura, T., Rodrigues, A.J., Costa, P., Almeida, O.F.X., Sousa, N., Takashima, A., 2015. Female hippocampus vulnerability to environmental stress, a precipitating factor in tau aggregation pathology. *J. Alzheimer's Dis.* 43, 763–774. <https://doi.org/10.3233/JAD-140693>
- Sparks, D., Connor, D., 2006. dementia severity influence the benefit of atorvastatin treatment in Alzheimer's disease: results of the Alzheimer's Disease Cholesterol Lowering Treatment (ADCLT). *Acta Neurol.* ... 114, 3–7.
- Sparks, D.L., Kryscio, R.J., Sabbagh, M.N., Connor, D.J., Sparks, L.M., Liebsack, C., 2008. Reduced risk of incident AD with elective statin use in a clinical trial cohort. *Curr. Alzheimer Res.* 5, 416–21.
- Spencer, J.L., Waters, E.M., Romeo, R.D., Wood, G.E., Milner, T.A., McEwen, B.S., 2008. Uncovering the

- mechanisms of estrogen effects on hippocampal function. *Front. Neuroendocrinol.* 29, 219–237. <https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2007.08.006>
- Sperling, R.A., Aisen, P.S., Beckett, L.A., Bennett, D.A., Craft, S., Fagan, A.M., Iwatsubo, T., Jack, C.R., Kaye, J., Montine, T.J., Park, D.C., Reiman, E.M., Rowe, C.C., Siemers, E., Stern, Y., Yaffe, K., Carrillo, M.C., Thies, B., Morrison-Bogorad, M., Wagster, M. V., Phelps, C.H., 2011. Toward defining the preclinical stages of Alzheimer's disease: Recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimer's Dement.* 7, 280–292. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2011.03.003>
- Starkstein, S.E., 2014. Anosognosia in Alzheimer's disease: Diagnosis, frequency, mechanism and clinical correlates. *Cortex* 61, 64–73. <https://doi.org/10.1016/j.cortex.2014.07.019>
- Starkstein, S.E., Jorge, R., Mizrahi, R., Robinson, R.G., 2006. A diagnostic formulation for anosognosia in Alzheimer's disease. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 77, 719–725. <https://doi.org/10.1136/jnnp.2005.085373>
- Stelzmann, R.A., Norman Schnitzlein, H., Reed Murtagh, F., 1995. An english translation of alzheimer's 1907 paper, "Über eine eigenartige erkankung der hirnrinde?" *Clin. Anat.* 8, 429–431. <https://doi.org/10.1002/ca.980080612>
- Straaten, E.C.W., Harvey, D., Scheltens, P., Barkhof, F., Petersen, R.C., Thal, L.J., Jack, C.R., DeCarli, C., 2008. Periventricular white matter hyperintensities increase the likelihood of progression from amnesic mild cognitive impairment to dementia. *J. Neurol.* 255, 1302–1308. <https://doi.org/10.1007/s00415-008-0874-y>
- Strelakova, T., Spanagel, R., Bartsch, D., Henn, F.A., Gass, P., 2004. Stress-Induced Anhedonia in Mice is Associated with Deficits in Forced Swimming and Exploration. *Neuropsychopharmacology* 29, 2007–2017. <https://doi.org/10.1038/sj.npp.1300532>
- Sudduth, T.L., Powell, D.K., Smith, C.D., Greenstein, A., Wilcock, D.M., 2013. Induction of hyperhomocysteinemia models vascular dementia by induction of cerebral microhemorrhages and neuroinflammation. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 33, 708–715. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.2013.1>
- Sudduth, T.L., Weekman, E.M., Price, B.R., Gooch, J.L., Woolums, A., Norris, C.M., Wilcock, D.M., 2017. Time-course of glial changes in the hyperhomocysteinemia model of vascular cognitive impairment and dementia (VCID). *Neuroscience* 341, 42–51. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2016.11.024>
- Sumbria, R.K., Grigoryan, M.M., Vasilevko, V., Krasieva, T.B., Scadeng, M., Dvornikova, A.K., Paganini-Hill, A., Kim, R., Cribbs, D.H., Fisher, M.J., 2016. A murine model of inflammation-induced cerebral microbleeds. *J. Neuroinflammation* 13, 218. <https://doi.org/10.1186/s12974-016-0693-5>
- Sumbria, R.K., Grigoryan, M.M., Vasilevko, V., Paganini-Hill, A., Kilday, K., Kim, R., Cribbs, D.H., Fisher, M.J., 2018. Aging exacerbates development of cerebral microbleeds in a mouse model. *J. Neuroinflammation* 15, 69. <https://doi.org/10.1186/s12974-018-1092-x>
- Sundermann, E.E., Biegon, A., Rubin, L.H., Lipton, R.B., Mowrey, W., Landau, S., Maki, P.M., 2016. Better verbal memory in women than men in MCI despite similar levels of hippocampal atrophy. *Neurology* 86, 1368–1376. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000002570>
- Sundermann, E.E., Tran, M., Maki, P.M., Bondi, M.W., 2018. Sex differences in the association between apolipoprotein E ϵ 4 allele and Alzheimer's disease markers. *Alzheimer's Dement. Diagnosis, Assess. Dis. Monit.* 10, 438–447. <https://doi.org/10.1016/j.dadm.2018.06.004>
- Sweeney, M.D., Sagare, A.P., Zlokovic, B. V., 2018. Blood-brain barrier breakdown in Alzheimer disease and other neurodegenerative disorders. *Nat. Rev. Neurol.* 14, 133–150. <https://doi.org/10.1038/nrneurol.2017.188>
- Takai, Y., Sasaki, T., Matozaki, T., 2001. Small GTP-Binding Proteins. *Physiol. Rev.* 81, 153–209.
- Tang-Wai, D.F., Graff-Radford, N.R., Boeve, B.F., Dickson, D.W., Parisi, J.E., Crook, R., Caselli, R.J., Knopman, D.S., Petersen, R.C., 2004. Clinical, genetic, and neuropathologic characteristics of posterior cortical atrophy. *Neurology* 63, 1168 LP-1174.
- Taylor, B.A., Dager, A.D., Panza, G.A., Zaleski, A.L., Meda, S., Book, G., Stevens, M.C., Tartar, S., White, C.M., Polk, D.M., Pearlson, G.D., Thompson, P.D., 2018. The effect of high-dose atorvastatin on neural activity and cognitive function. *Am. Heart J.* 197, 166–174. <https://doi.org/10.1016/j.ahj.2017.10.027>
- Taylor, F., Huffman, M.D., Macedo, A.F., Moore, T.H.M., Burke, M., Davey Smith, G., Ward, K., Ebrahim, S., 2013. Statins for the primary prevention of cardiovascular disease. *Cochrane Database Syst. Rev.* 5–7. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD004816.pub5>
- Thal, L.J., Thomas, R.G., Mulnard, R., Sano, M., Grundman, M., Schneider, L., 2003. Estrogen levels do not correlate with improvement in cognition. *Arch. Neurol.* 60, 209–212. <https://doi.org/10.1001/archneur.60.2.209>
- The Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S), 1994. Randomised trial of cholesterol lowering in 4444 patients with coronary heart disease. *Lancet* 344, 1383–9. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(94\)90566-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(94)90566-5)
- Thelen, K.M., 2005. Brain Cholesterol Synthesis in Mice Is Affected by High Dose of Simvastatin but Not of Pravastatin. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 316, 1146–1152. <https://doi.org/10.1124/jpet.105.094136>
- Tifratene, K., Robert, P., Metelkina, A., Pradier, C., Dartigues, J.F., 2015. Progression of mild cognitive impairment to dementia due to AD in clinical settings. *Neurology* 85, 331–338. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000001788>

- Toledo, J.B., Arnold, S.E., Raible, K., Brettschneider, J., Xie, S.X., Grossman, M., Monsell, S.E., Kukull, W.A., Trojanowski, J.Q., 2013. Contribution of cerebrovascular disease in autopsy confirmed neurodegenerative disease cases in the National Alzheimer's Coordinating Centre. *Brain* 136, 2697–2706. <https://doi.org/10.1093/brain/awt188>
- Tolppanen, A.M., Solomon, A., Soininen, H., Kivipelto, M., 2012. Midlife vascular risk factors and Alzheimer's disease: Evidence from epidemiological studies. *J. Alzheimer's Dis.* <https://doi.org/10.3233/JAD-2012-120802>
- Tong, X.K., Nicolakakis, N., Fernandes, P., Ongali, B., Brouillette, J., Quirion, R., Hamel, E., 2009. Simvastatin improves cerebrovascular function and counters soluble amyloid-beta, inflammation and oxidative stress in aged APP mice. *Neurobiol. Dis.* 35, 406–414. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2009.06.003>
- Tosto, G., Zimmerman, M.E., Hamilton, J.L., Carmichael, O.T., Brickman, A.M., 2015. The effect of white matter hyperintensities on neurodegeneration in mild cognitive impairment. *Alzheimer's Dement.* 11, 1510–1519. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2015.05.014>
- Trompet, S., Van Vliet, P., De Craen, A.J.M., Jolles, J., Buckley, B.M., Murphy, M.B., Ford, I., MacFarlane, P.W., Sattar, N., Packard, C.J., Stott, D.J., Shepherd, J., Bollen, E.L.E.M., Blauw, G.J., Jukema, J.W., Westendorp, R.G.J., 2010. Pravastatin and cognitive function in the elderly. Results of the PROSPER study. *J. Neurol.* 257, 85–90. <https://doi.org/10.1007/s00415-009-5271-7>
- Trzepacz, P.T., Hochstetler, H., Wang, S., Walker, B., Saykin, A.J., 2015. Relationship between the Montreal Cognitive Assessment and Mini-mental State Examination for assessment of mild cognitive impairment in older adults. *BMC Geriatr.* 15, 1–9. <https://doi.org/10.1186/s12877-015-0103-3>
- Tschanz, J.T., Corcoran, C.D., Schwartz, S., Treiber, K., Green, R.C., Norton, M.C., Mielke, M.M., Piercy, K., Steinberg, M., Rabins, P. V, Leoutsakos, J., Welsh-Bohmer, K.A., Breitner, J.C.S., Lyketsos, C.G., 2011. Progression of Cognitive, Functional, and Neuropsychiatric Symptom Domains in a Population Cohort With Alzheimer Dementia: The Cache County Dementia Progression Study. *Am. J. Geriatr. Psychiatry* 19, 532–542. <https://doi.org/10.1097/JGP.0b013e3181faec23>
- Tustison, N.J., Avants, B.B., Cook, P.A., Yuanjie Zheng, Egan, A., Yushkevich, P.A., Gee, J.C., 2010. N4ITK: Improved N3 Bias Correction. *IEEE Trans. Med. Imaging* 29, 1310–1320. <https://doi.org/10.1109/TMI.2010.2046908>
- Ungvari, Z., Tarantini, S., Kirkpatrick, A.C., Csiszar, A., Prodan, C.I., 2017. Cerebral microhemorrhages: mechanisms, consequences, and prevention. *Am. J. Physiol. - Hear. Circ. Physiol.* 312, H1128–H1143. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00780.2016>
- van Assema, D.M., Goos, J.D., van der Flier, W.M., Lubberink, M., Boellaard, R., Windhorst, A.D., Scheltens, P., Lammertsma, A.A., van Berckel, B.N., 2012. No Evidence for Additional Blood–Brain Barrier P-Glycoprotein Dysfunction in Alzheimer's Disease Patients with Microbleeds. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 32, 1468–1471. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.2012.64>
- Van Der Flier, W.M., Van Straaten, E.C.W., Barkhof, F., Ferro, J.M., Pantoni, L., Basile, A.M., Inzitari, D., Erkinjuntti, T., Wahlund, L.O., Rostrup, E., Schmidt, R., Fazekas, F., Scheltens, P., 2005. Medial temporal lobe atrophy and white matter hyperintensities are associated with mild cognitive deficits in non-disabled elderly people: The LADIS study. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 76, 1497–1500. <https://doi.org/10.1136/jnnp.2005.064998>
- Van Der Vlies, A.E., Goos, J.D.C., Barkhof, F., Scheltens, P., Van Der Flier, W.M., 2012. Microbleeds do not affect rate of cognitive decline in Alzheimer disease. *Neurology* 79, 763–769. <https://doi.org/10.1212/WNL.0b013e3182661f91>
- Van Norden, A.G.W., Van Den Berg, H.A.C., De Laat, K.F., Gons, R.A.R., Van Dijk, E.J., De Leeuw, F.E., 2011. Frontal and temporal microbleeds are related to cognitive function: The Radboud University Nijmegen diffusion tensor and magnetic resonance cohort (RUN DMC) study. *Stroke* 42, 3382–3386. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.111.629634>
- Van Veluw, S.J., Hilal, S., Kuijf, H.J., Ikram, M.K., Xin, X., Yeow, T.B., Venketasubramanian, N., Biessels, G.J., Chen, C., 2015. Cortical microinfarcts on 3T MRI: Clinical correlates in memory-clinic patients. *Alzheimer's Dement.* 11, 1500–1509. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2014.12.010>
- van Vliet, D., de Vugt, M.E., Köhler, S., Aalten, P., Bakker, C., Pijnenburg, Y.A.L., Vernooij-Dassen, M.J.F.J., Koopmans, R.T.C.M., Verhey, F.R.J., 2013. Awareness and Its Association With Affective Symptoms in Young-onset and Late-onset Alzheimer Disease. *Alzheimer Dis. Assoc. Disord.* 27, 265–271. <https://doi.org/10.1097/WAD.0b013e31826cffa5>
- Vaughan, C.J., 2003. Prevention of stroke and dementia with statins: Effects beyond lipid lowering. *Am. J. Cardiol.* 91, 23–29. [https://doi.org/10.1016/S0002-9149\(02\)03270-8](https://doi.org/10.1016/S0002-9149(02)03270-8)
- Vegeto, E., Belcredito, S., Etteri, S., Ghisletti, S., Brusadelli, A., Meda, C., Krust, A., Dupont, S., Ciana, P., Chambon, P., Maggi, A., 2003. Estrogen receptor- mediates the brain antiinflammatory activity of estradiol. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 100, 9614–9619. <https://doi.org/10.1073/pnas.1531957100>
- Vernooij, M.W., van der Lugt, A., Ikram, M.A., Wielopolski, P.A., Niessen, W.J., Hofman, A., Krestin, G.P., Breteler, M.M.B., 2008. Prevalence and risk factors of cerebral microbleeds: The Rotterdam Scan Study. *Neurology* 70, 1208–1214. <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000307750.41970.d9>

- Villa, A., Vegeto, E., Poletti, A., Maggi, A., 2016. Estrogens, Neuroinflammation, and Neurodegeneration. *Endocr. Rev.* 37, 372–402. <https://doi.org/10.1210/er.2016-1007>
- Villemagne, V.L., Doré, V., Burnham, S.C., Masters, C.L., Rowe, C.C., 2018. Imaging tau and amyloid- β proteinopathies in Alzheimer disease and other conditions. *Nat. Rev. Neurol.* 14, 225–236. <https://doi.org/10.1038/nrneurol.2018.9>
- Visser, P.J., Verhey, F., Knol, D.L., Scheltens, P., Wahlund, L.O., Freund-Levi, Y., Tsolaki, M., Minthon, L., Wallin, Å.K., Hampel, H., Bürger, K., Pirttilä, T., Soininen, H., Rikkert, M.O., Verbeek, M.M., Spuru, L., Blennow, K., 2009. Prevalence and prognostic value of CSF markers of Alzheimer's disease pathology in patients with subjective cognitive impairment or mild cognitive impairment in the DESCRIPA study: a prospective cohort study. *Lancet Neurol.* 8, 619–627. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(09\)70139-5](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(09)70139-5)
- Vuorinen, E., Laine, M., Rhine, J., 2000. Common pattern of language impairment in vascular dementia and in Alzheimer disease. *Alzheimer Dis Assoc Disord* 14, 81–6. <https://doi.org/10.10850746>
- Walf, A.A., Frye, C.A., 2007. The use of the elevated plus maze as an assay of anxiety-related behavior in rodents. *Nat. Protoc.* 2, 322–328. <https://doi.org/10.1038/nprot.2007.44>
- Wallon, D., Rousseau, S., Rovelet-Lecrux, A., Quillard-Muraine, M., Guyant-Maréchal, L., Martinaud, O., Pariente, J., Puel, M., Rollin-Sillaire, A., Pasquier, F., Le Ber, I., Sarazin, M., Croisile, B., Boutoleau-Brettonnière, C., Thomas-Antérion, C., Paquet, C., Moreaud, O., Gabelle, A., Sellal, F., Sauvée, M., Laquerrière, A., Duyckaerts, C., Delisle, M.-B., Streichenberger, N., Lannes, B., Frebourg, T., Hannequin, D., Campion, D., 2012. The French Series of Autosomal Dominant Early Onset Alzheimer's Disease Cases: Mutation Spectrum and Cerebrospinal Fluid Biomarkers. *J. Alzheimer's Dis.* 30, 847–856. <https://doi.org/10.3233/JAD-2012-120172>
- Wang, R., Liu, K., Ye, X., Yan, S., 2018. Association Between Cerebral Microbleeds and Depression in the General Elderly Population: A Meta-Analysis. *Front. Psychiatry* 9, 1–6. <https://doi.org/10.3389/fpsy.2018.00094>
- Wassmann, S., Laufs, U., Bäumer, A.T., Müller, K., Ahlbory, K., Linz, W., Itter, G., Rösen, R., Böhm, M., Nickenig, G., 2001. HMG-CoA reductase inhibitors improve endothelial dysfunction in normocholesterolemic hypertension via reduced production of reactive oxygen species. *Hypertension* 37, 1450–1457. <https://doi.org/10.1161/01.HYP.37.6.1450>
- Weber, M.T., Mapstone, M., Staskiewicz, J., Maki, P.M., 2012. Reconciling subjective memory complaints with objective memory performance in the menopausal transition. *Menopause J. North Am. Menopause Soc.* 19, 735–741. <https://doi.org/10.1097/gme.0b013e318241fd22>
- Webster, S.J., Bachstetter, A.D., Nelson, P.T., Schmitt, F.A., Van Eldik, L.J., 2014. Using mice to model Alzheimer's dementia: An overview of the clinical disease and the preclinical behavioral changes in 10 mouse models. *Front. Genet.* 5, 1–23. <https://doi.org/10.3389/fgene.2014.00088>
- Weitz-Schmidt, G., Welzenbach, K., Brinkmann, V., Kamata, T., Kallen, J., Bruns, C., Cottens, S., Takada, Y., Hommel, U., 2001. Statins selectively inhibit leukocyte function antigen-1 by binding to a novel regulatory integrin site. *Nat. Med.* 7, 687–692. <https://doi.org/10.1038/89058>
- Winblad, B., Palmer, K., Kivipelto, M., Jelic, V., Fratiglioni, L., Wahlund, L.-O., Nordberg, a, Bäckman, L., Albert, M., Almkvist, O., Arai, H., Basun, H., Blennow, K., de Leon, M., DeCarli, C., Erkinjuntti, T., Giacobini, E., Graff, C., Hardy, J., Jack, C., Jorm, a, Ritchie, K., van Duijn, C., Visser, P., Petersen, R.C., 2004. Mild cognitive impairment--beyond controversies, towards a consensus: report of the International Working Group on Mild Cognitive Impairment. *J. Intern. Med.* 256, 240–246. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2796.2004.01380.x>
- Wolf, A., Bauer, B., Abner, E.L., Ashkenazy-Frolinger, T., Hartz, A.M.S., 2016. A comprehensive behavioral test battery to assess learning and memory in 129S6/ Tg2576 mice. *PLoS One* 11, 1–23. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0147733>
- Wolozin, B., 2000. Decreased Prevalence of Alzheimer Disease Associated With 3-Hydroxy-3-Methylglutaryl Coenzyme A Reductase Inhibitors. *Arch. Neurol.* 57, 1439. <https://doi.org/10.1001/archneur.57.10.1439>
- Wong, B., Lumma, W.C., Smith, A.M., Sisko, J.T., Wright, S.D., Cai, T.Q., 2001. Statins suppress THP-1 cell migration and secretion of matrix metalloproteinase 9 by inhibiting geranylgeranylation. *J. Leukoc. Biol.* 69, 959–62. <https://doi.org/10.1189/jlb.69.6.959>
- Wright, A.L., Zinn, R., Hohensinn, B., Konen, L.M., Beynon, S.B., Tan, R.P., Clark, I.A., Abdipranoto, A., Vissel, B., 2013. Neuroinflammation and Neuronal Loss Precede A β Plaque Deposition in the hAPP-J20 Mouse Model of Alzheimer's Disease. *PLoS One* 8. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0059586>
- Wu, R., Feng, C., Zhao, Y., Jin, A., Fang, M., Liu, X., 2014. A Meta-Analysis of Association between Cerebral Microbleeds and Cognitive Impairment. *Med. Sci. Monit.* 20, 2189–2198. <https://doi.org/10.12659/MSM.891004>
- Xiong, Y., Wong, A., Cavalieri, M., Schmidt, R., Chu, W.W.C., Liu, X., Wong, K.S., Mok, V., 2014. Prestroke Statins, Progression of White Matter Hyperintensities, and Cognitive Decline in Stroke Patients with Confluent White Matter Hyperintensities. *Neurotherapeutics* 11, 606–611. <https://doi.org/10.1007/s13311-014-0270-5>
- Xu, X., Chan, Q.L., Hilal, S., Goh, W.K., Ikram, M.K., Wong, T.Y., Cheng, C.Y., Chen, C.L.H.,

- Venkatasubramanian, N., 2017. Cerebral microbleeds and neuropsychiatric symptoms in an elderly Asian cohort. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 88. <https://doi.org/10.1136/jnnp-2016-313271>
- Yaffe, K., Barnes, D., Lindquist, K., Cauley, J., Simonsick, E.M., Penninx, B., Satterfield, S., Harris, T., Cummings, S.R., 2007. Endogenous sex hormone levels and risk of cognitive decline in an older biracial cohort. *Neurobiol. Aging* 28, 171–178. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2006.10.004>
- Yaffe, K., Lui, L.Y., Grady, D., Cauley, J., Kramer, J., Cummings, S.R., 2000. Cognitive decline in women in relation to non-protein-bound oestradiol concentrations. *Lancet* 356, 708–712. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(00\)02628-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(00)02628-3)
- Yakushiji, Y., Nishiyama, M., Yakushiji, S., Hirotsu, T., Uchino, A., Nakajima, J., Eriguchi, M., Nanri, Y., Hara, M., Horikawa, E., Kuroda, Y., 2008. Brain Microbleeds and Global Cognitive Function in Adults Without Neurological Disorder. *Stroke* 39, 3323–3328. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.108.516112>
- Yakushiji, Y., Yokota, C., Yamada, N., Kuroda, Y., Minematsu, K., 2011. Clinical characteristics by topographical distribution of brain microbleeds, with a particular emphasis on diffuse microbleeds. *J. Stroke Cerebrovasc. Dis.* 20, 214–221. <https://doi.org/10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2009.12.001>
- Yang, L., Wang, F., Yang, L., Yuan, Y., Chen, Y., Zhang, G., Fan, Z., 2018. HMGB1 a-Box Reverses Brain Edema and Deterioration of Neurological Function in a Traumatic Brain Injury Mouse Model. *Cell. Physiol. Biochem.* 46, 2532–2542. <https://doi.org/10.1159/000489659>
- Yang, Q., Yang, Y., Li, C., Li, J., Liu, X., Wang, A., Zhao, J., Wang, M., Zeng, X., Fan, D., 2015. Quantitative assessment and correlation analysis of cerebral microbleed distribution and Leukoaraiosis in stroke outpatients. *Neurol. Res.* 37, 403–409. <https://doi.org/10.1179/1743132815y.0000000027>
- Yang, S., Gu, C., Mandeville, E.T., Dong, Y., Esposito, E., Zhang, Y., Yang, G., Shen, Y., Fu, X., Lo, E.H., Xie, Z., 2017. Anesthesia and Surgery Impair Blood–Brain Barrier and Cognitive Function in Mice. *Front. Immunol.* 8. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00902>
- Yates, P.A., Desmond, P.M., Phal, P.M., Steward, C., Szoek, C., Salvado, O., Ellis, K.A., Martins, R.N., Masters, C.L., Ames, D., Villemagne, V.L., Rowe, C.C., 2014. Incidence of cerebral microbleeds in preclinical Alzheimer disease. *Neurology* 82, 1266–1273. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000000285>
- Yates, P.A., Siririro, R., Villemagne, V.L., Farquharson, S., Masters, C.L., Rowe, C.C., AIBL Research Group, 2011. Cerebral microhemorrhage and brain β -amyloid in aging and Alzheimer disease. *Neurology* 77, 48–54. <https://doi.org/10.1212/WNL.0b013e318221ad36>
- Yoshita, M., Fletcher, E., Harvey, D., Ortega, M., Martinez, O., Mungas, D.M., Reed, B.R., DeCarli, C.S., 2006. Extent and distribution of white matter hyperintensities in normal aging, MCI, and AD. *Neurology* 67, 2192–8. <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000249119.95747.1f>
- Yubi, T., Hata, J., Ohara, T., Mukai, N., Hirakawa, Y., Yoshida, D., Gotoh, S., Hirabayashi, N., Furuta, Y., Ago, T., Kitazono, T., Kiyohara, Y., Ninomiya, T., 2018. Prevalence of and risk factors for cerebral microbleeds in a general Japanese elderly community. *Neurol. Clin. Pract.* 8, 223–231. <https://doi.org/10.1212/CPJ.0000000000000464>
- Yue, X., Lu, M., Lancaster, T., Cao, P., Honda, S.-I., Staufenbiel, M., Harada, N., Zhong, Z., Shen, Y., Li, R., 2005. Brain estrogen deficiency accelerates A plaque formation in an Alzheimer's disease animal model. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 102, 19198–19203. <https://doi.org/10.1073/pnas.0505203102>
- Zandi, P.P., 2005. Do Statins Reduce Risk of Incident Dementia and Alzheimer Disease? The Cache County Study. *Arch. Gen. Psychiatry* 62, 217. <https://doi.org/10.1001/archpsyc.62.2.217>
- Zhang, J., Liu, L., Sun, H., Li, M., Li, Y., Zhao, J., Li, J., Liu, X., Cong, Y., Li, F., Li, Z., 2018. Cerebral microbleeds are associated with mild cognitive impairment in patients with hypertension. *J. Am. Heart Assoc.* 7, 1–10. <https://doi.org/10.1161/JAHA.117.008453>
- Zhang, X., Yeung, P.K.K., McAlonan, G.M., Chung, S.S.M., Chung, S.K., 2013. Transgenic mice over-expressing endothelial endothelin-1 show cognitive deficit with blood-brain barrier breakdown after transient ischemia with long-term reperfusion. *Neurobiol. Learn. Mem.* 101, 46–54. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2013.01.002>
- Zhao, L., O'Neill, K., Diaz Brinton, R., 2005. Selective estrogen receptor modulators (SERMs) for the brain: Current status and remaining challenges for developing NeuroSERMs. *Brain Res. Rev.* 49, 472–493. <https://doi.org/10.1016/j.brainresrev.2005.01.009>
- Zhou, D., Liu, H., Li, C., Wang, F., Shi, Y., Liu, L., Zhao, X., Liu, A., Zhang, J., Wang, C., Chen, Z., 2016. Atorvastatin ameliorates cognitive impairment, A β 1-42 production and Tau hyperphosphorylation in APP/PS1 transgenic mice. *Metab. Brain Dis.* 31, 693–703. <https://doi.org/10.1007/s11011-016-9803-4>
- Zissimopoulos, J.M., Barthold, D., Brinton, R.D., Joyce, G., 2017. Sex and race differences in the association between statin use and the incidence of Alzheimer disease. *JAMA Neurol.* 74, 225–232. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2016.3783>
- Zubenko, G.S., Zubenko, W.N., McPherson, S., Spoor, E., Marin, D.B., Farlow, M.R., Smith, G.E., Geda, Y.E., Cummings, J.L., Petersen, R.C., Sunderland, T., 2003. A collaborative study of the emergence and clinical features of the major depressive syndrome of Alzheimer's disease. *Am. J. Psychiatry.* <https://doi.org/10.1176/appi.ajp.160.5.857>
- Zwain, I.H., Yen, S.S.C., 1999. Dehydroepiandrosterone: Biosynthesis and metabolism in the brain. *Endocrinology*

140, 880–887. <https://doi.org/10.1210/endo.140.2.6528>

RESUME

La maladie d'Alzheimer (MA) est un processus multifactoriel. La dysfonction vasculaire pourrait être impliquée dans sa progression. Les microhémorragies cérébrales (MH) sont fréquentes chez les patients atteints de MA, et pourraient jouer un rôle clé dans le lien qui relie la dysfonction vasculaire à la MA. Le sexe pourrait également impacter sur la sévérité des lésions. Les statines ont été proposées en prévention de maladies neurodégénératives dont la MA. Leur intérêt est encore débattu mais ces molécules ont une action pléiotrope. Ce travail a pour objectif d'étudier l'impact des lésions microhémorragiques sur le déclin cognitif dans la MA, le rôle du sexe et la modulation pharmacologique par Atorvastatine, dans une perspective translationnelle, i.e. en considérant à la fois l'aspect expérimental chez l'animal et l'aspect clinique. Pour la partie expérimentale, nous avons étudié à partir d'un modèle original de MH chez les souris femelles saines et pathologiques. La MHC est créée par injection stéréotaxique de Collagénase (0,8 μ UI/ μ L). L'atorvastatine est administrée dans l'alimentation quotidienne des rongeurs (5mg/Kg/J). Le suivi était multimodal à trois temps différents : six semaines, six mois et douze mois après la chirurgie. Au plan clinique, nous avons étudié une base de données de patients atteints de la MA, suivis de façon standardisée. Notre travail a mis en évidence, dans une approche translationnelle, un impact cognitif et non cognitif des MHs, en présence ou non d'une maladie d'Alzheimer chez le sexe féminin. Nos résultats tendent à confirmer l'intérêt de l'atorvastatine dans la neuroprotection, grâce à ses effets pléiotropes. D'une manière générale, notre travail souligne, une fois de plus, l'intérêt d'une prise en charge personnalisée, et précoce de la MA.

ABSTRACT

The pathophysiology of Alzheimer disease (AD) is complex. Associated factors, in particular at the vascular level with damaged small blood vessels, might be involved. Cerebral microbleeds (CMB) in particular, could be one of the key contributing factor in AD. The cumulative evidence suggested a sex-specific patterns of disease. Furthermore, statins might be interesting by pleiotropic effects. The objectives of this study was to evaluate the interaction between vascular and neurodegenerative lesions in Alzheimer, the influence of sex, and the pharmacological modulation by atorvastatin. This experimental model is designed in a multimodal approach to ensure its scientific relevance and to fit with clinical research. The third objective is indeed to confront the resulting experimental data to the clinical data of cohorts of Alzheimer patients. With an original model of CMB in female mice, we followed-up them from 1.5 months to 12 months post-surgery. For the clinical part, we studied patients with AD from a database of a tertiary memory center, with standardized framework. In a translational way, we observed a cognitive and a non-cognitive impact of CMBs, differently in wild-type mice and in diseased mice. Different outcome was noticed for young female mice. And Atorvastatine offered a mild neuroprotection particularly in presymptomatic stage. Finally, the mechanism implied will be studied, in particular the inflammatory pathway, and will help to propose targeted pharmacological modulation in order to prevent or limit the impact of CMB on AD, by offering a personalized approach.