



UNIVERSITÉ DE LILLE NORD DE FRANCE

FACULTÉ DE MÉDECINE

Ecole Gradué Biologie-Santé de Lille (EG-446)

THÈSE DE DOCTORAT

Pour l'obtention du titre de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE LILLE

Spécialité PHYSIOLOGIE

**Découplage fonctionnel neurovasculaire lors d'un déclin cognitif induit par
des troubles du métabolisme : exploration électrophysiologique et vasculaire
dans un modèle murin.**

Présentée et soutenue publiquement par

Manon HAAS

Le 4 juillet 2025

Composition du Jury

Pr. Marie-Hélène CANU (Lille)

Présidente du Jury & Examineur

Pr. Muriel DARNAUDERY (Bordeaux)

Rapporteur

Dr. Julien CHUQUET (Rouen)

Rapporteur

Dr. Bruno CAULI (Paris)

Examineur

Dr. Michèle BASTIDE (Lille)

Directrice de thèse

Dr. Olivier PETRAULT (Lens)

Co-encadrant de thèse

REMERCIEMENTS

Je souhaite tout d'abord remercier le Professeur Muriel Darneudéry, le Docteur Julien Chuquet, le Professeur Marie-Hélène Canu et le Docteur Bruno Cauli, qui ont accepté de lire ce manuscrit et d'évaluer mes travaux. C'est un réel plaisir et honneur pour moi que vous fassiez partie de mon jury de thèse. Un grand merci à Marie-Hélène Canu et à Bruno Cauli pour avoir participé au suivi de ma thèse pendant ces dernières années et permis son évolution.

Je remercie le Professeur David Devos, directeur de l'équipe TREAT, anciennement DVCD, dans laquelle j'ai pu évoluer ces dernières années. Merci de m'avoir accueillie tout au long de mon master de recherche puis pour ma thèse. Ton intérêt pour mon travail et tes conseils avisés m'ont beaucoup appris. Tu as toujours su insuffler une bonne ambiance dans l'équipe, ce qui m'a permis d'évoluer en toute confiance avec vous.

J'aimerais ensuite remercier Michèle Bastide, ma directrice de thèse, qui a supervisé et dirigé mon travail depuis mon stage de M1, en janvier 2020. Michèle, grâce à toi je me suis sentie bien entourée et encadrée dès mon premier jour au laboratoire. A tes côtés, j'ai énormément appris, tant scientifiquement, qu'humainement. Merci d'avoir été mon mentor pendant ces dernières années, pour ton implication, ton écoute et tes conseils avisés.

Dans le même temps, je souhaite remercier mon co-encadrant de thèse, Olivier Pétrault. Olivier, tu m'as permis d'évoluer tant sur le plan théorique que pratique. Tu t'es rendu disponible pour m'accompagner dans la mise en place et la réalisation de ce projet. Je me souviendrai de nos longues conversations, scientifiques, philosophiques, et j'en passe.

Grâce à vous, j'ai appris des techniques passionnantes, qui m'ont permis de m'émerveiller tous les jours de la beauté et de la complexité du cerveau (quand il n'y avait pas de fuites). Merci pour toutes les opportunités que vous m'avez données.

Je voudrais aussi remercier les autres membres de la Vessel Team. Maud, tu m'as appris tout ce que j'avais besoin de savoir, tu as pris le temps de me former pour me rendre la plus autonome possible et tu t'es rendue disponible pour m'aider quand c'était nécessaire. Merci pour ta patience et pour ta bienveillance. Patrick, tu es vite devenu un atout incontournable

dans cette équipe. Tu es à l'écoute des autres, tout en étant une source d'informations scientifiques, techniques et réglementaires indispensables. Merci pour toutes tes contributions à mon travail, mais aussi pour ton humour, qui n'a jamais manqué de me faire rire. Maud et Patrick, je ne vous remercierai pas pour toutes les chansons que vous vous appliquiez à mettre dans la tête de tous ceux présents au bureau, mais surtout, n'arrêtez pas de le faire. Thavarak, malgré ta discrétion, tu as toujours su trouver les bons mots et m'apporter de bons conseils. Merci pour le temps que tu as passé à me former à l'artériographe, même si je me suis arraché les cheveux ! Vincent, merci pour ton accueil dans l'équipe, pour tous tes conseils tout au long de ma thèse, ainsi que lors de la rédaction de l'article, qui se sont montrés si précieux. Merci aussi de m'avoir conviée aux Bloody Fridays, qui m'ont permis d'avoir une vision plus large de notre recherche. Michèle, Olivier, Maud, Patrick, Thavarack et Vincent, c'est grâce à vous si j'ai pu mener à bien ce travail de thèse, merci pour tout. A nos nouvelles recrues, Eunice et Claire, bon courage et bonne chance pour la suite !

Je remercie tous les autres membres de l'équipe, qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail, ou à me soutenir dans les mauvais jours. Cédric, merci pour ton soutien et tes conseils quand je me suis retrouvée dans l'impasse. C'était très agréable de pouvoir travailler et d'apprendre avec toi. Kelly, merci d'avoir été une oreille attentive quand c'était nécessaire, et de m'avoir fait autant rigoler. Charlotte et Julie, merci pour vos conseils pour le comportement, vous avez toujours su répondre à mes questions.

Florent, Nicolas, Clémence et Antonino merci pour toute l'aide que vous m'avez apportée sur les projets d'imagerie et d'immunohistochimie.

Merci à mes co-doctorantes de talent. A Chirine et Marie-Amandine, pour m'avoir écoutée et conseillée, mais aussi pour m'avoir montré l'exemple d'une thèse réussie, malgré les épreuves. Au jeune Dr Theerens, Emma, nous nous suivons depuis le M2, alors c'est forcément avec émotion que j'envisage de devenir Dr juste après toi. Aurélie, tu as un courage incroyable d'avoir commencé une thèse tout en continuant à travailler. Et aux plus récentes : Inès et Camille N., je vous souhaite bonne continuation pour la suite de vos aventures.

Je tiens à remercier Céline, notre secrétaire générale de choc. Tu auras été un soutien indéfectible tout au long de mon passage au Centre. Des petites questions triviales aux

problématiques plus complexes, tu sais écouter et tu es pleine de ressources pour chercher des solutions. Merci pour tout, je te dois beaucoup.

A mes colocataires du 5^{ème}, merci pour l'accueil que vous m'avez réservé à mon arrivée. Vous avez été ma bulle d'oxygène ces dernières années et on aura bien ventilé, dans le bureau ! Florine, bravo pour tout ce que tu as accompli, tu es si proche de la fin, tiens bon ! Agnès, tu es certes bien encadrée, mais tu es aussi une scientifique de grand talent et ton travail parle de lui-même. Bon courage pour la fin de ta thèse. Camille D., félicitations pour ce nouveau départ. Tu es passionnée et investie, tu mérites d'être dans un environnement qui te permette d'exploiter au maximum tes capacités. J'espère que tu trouveras tout ce que tu attendais d'un doctorat dans ton nouveau projet. Emilie, tu as été un vrai rayon de soleil. Toujours le mot pour me faire rire, pour dédramatiser les situations compliquées, mais aussi toujours un conseil qui aide à prendre du recul. Promis, tu auras droit à ton massage un jour. Nathalie, tu te qualifies comme une maman de labo, mais je t'ai très vite considérée comme une amie de labo. On a pu discuter de tout : du bon et du mauvais de la vie perso, du travail, mais aussi, de notre passion pour la Science. Ça a été tellement enrichissant de te côtoyer tous les jours, et je suis heureuse de pouvoir continuer à le faire même après notre départ. Lisa, tu es vite devenue une amie très chère à mon cœur, et je ne pourrais jamais assez te remercier pour tout ce que tu as fait pour moi. Merci pour tes petits mots, pour les pauses café, pour tes attentions et pour ton soutien, dans les bons comme dans les mauvais moments. Merci aussi pour la confiance incroyable que tu as placée en moi quand tu as toi aussi eu besoin de soutien. Je suis tellement reconnaissante de t'avoir rencontrée.

Je remercie aussi mes amis en dehors du travail. Mes amis de la fac, Marie, Camille et Aïmane, vous avez été présents dans les années les plus formatrices de ma vie. Vous m'avez soutenue dans le pire et dans le meilleur, et je vous souhaite de continuer à vivre une vie aussi épanouie que celle que vous avez, avec tous vos projets et vos voyages, mais en revenant toujours à notre source. Je remercie les Chocapics : Mélissa, Mathis, Débora, Pierre, Livia, Julien, Pauline et Edouard. Vous m'avez donné une excuse pour décompresser (presque) tous les jeudis soir. Je croise les doigts pour que tous vos projets personnels se réalisent.

Un merci tout particulier à celles qui me suivent depuis le lycée, Salomé et Dalila. Vous m'avez été et m'êtes toujours indispensables. Salomé, parce que tu me comprends et que tu me fais

rire comme au premier jour. Dalila, parce qu'on peut tout se confier sans tabou et pour toutes les épreuves qu'on a traversé ensemble. Je me sens chanceuse de passer avec vous les différentes étapes de nos vies, malgré la distance, et je souhaite que ça dure encore longtemps.

Je remercie les membres de la famille Lecerf : Françoise, Jean-Luc, Charlotte et Sylvie (sans oublier Tina). Vous avez su m'accueillir comme si j'avais toujours été des vôtres dès notre première rencontre. Vous m'avez accompagnée tout au long de ce parcours, mais aussi pour la vie en dehors. Je suis heureuse de vous avoir comme belle-famille.

Enfin, je souhaite remercier ma famille. Ma mamie Soleil, ma mamie Marlyse, Nicolas, Julien, Gaëtan, Muriel et Kévin, c'est grâce à vous que j'en suis arrivée là où j'en suis. Je suis tout autant fière de vous que vous l'êtes de moi, et je vous aime. Erwann, mon petit frère, je pourrais t'écouter parler des heures de tes passions pour les sciences, pour Harry Potter, pour les livres. Tu es l'une de mes personnes préférées au monde et je suis émerveillée de te voir grandir. Florent, mon grand frère, tu as toujours été mon protecteur, mon confident et mon premier meilleur ami. Tu peux être fier de tout le chemin que tu as parcouru et je te remercie de m'avoir donné une sœur, Sarah et mon neveu d'amour, Isaac. Papa, merci de m'avoir soutenue pendant mes études. Savoir qu'avec mes frères, nous sommes la prunelle de tes yeux est tellement important pour notre épanouissement. Maman, tu es mon ancrage. Merci pour tout ce que tu as fait pour moi, tout le temps, et sans réfléchir, pour que je puisse réussir mes études et cette thèse. Je n'aurai jamais pu faire ce doctorat sans toi et tout ce que je fais, je le fais pour te rendre fière. Enfin, Clément, mon amour, tu as été là avant même le début de cette thèse. Tu m'as soutenue, conseillée et apporté le cadre de vie (et la Bernie) dont j'avais besoin pour aller au bout de cette aventure. Et quelle aventure ! Tu as tout traversé avec moi, et pour ça, je t'en suis infiniment reconnaissante.

RESUME

Plusieurs études montrent que la présence de troubles du métabolisme en milieu de vie pourrait induire un déclin cognitif, sans que les causes de ce lien ne soient clairement établies. Une étude longitudinale sur des souris males C57Bl6/J nourries avec un régime enrichi en graisses animales (HFD) a permis de mettre en évidence un déclin cognitif au bout de 6 mois de régime, qui apparaissait de façon concomitante avec le développement de troubles du métabolisme et d'une dysfonction de la vasodilatation cérébrale. Ce phénotype pourrait être causé par une altération du couplage neurogliovasculaire (NGVC). Le but de ce travail était d'identifier les marqueurs cérébraux prédictifs, en amont de l'apparition d'un déclin cognitif induit par les troubles du métabolisme. Pour ce faire, j'ai suivi l'intégrité du NGVC dans ce modèle. L'utilisation d'un modèle de vasomotricité sur tranches de cerveau frais a permis de montrer que la vasodilatation induite par le glutamate est altérée après 12 mois de HFD et du fait de la prise de poids. L'inhibition spécifique des enzymes impliquées dans les voies de vasodilatation glutamatergiques a montré que le HFD et l'obésité sont responsables d'un déséquilibre de l'activité de ces voies et plus particulièrement des enzymes nNOS et COX II de la voie neuronale. Cette étude donne des indices mécanistiques du découplage neurogliovasculaire causé par les troubles du métabolisme induits par un régime gras. De plus, grâce à l'artériographe d'Halpern, une diminution significative du tonus myogénique de l'artère basilaire a pu être mise en évidence chez les souris HFD, liée à l'obésité. Ces altérations neurovasculaires pourraient être à l'origine du déclin cognitif observé en milieu de vie.

De plus, sachant que l'expression de COX II peut varier dans un contexte de neuroinflammation, une étude immunohistochimique a permis de montrer que l'expression de COX II et de GFAP semble augmenter avec le HFD et l'obésité, suggérant un terrain inflammatoire dans le cortex préfrontal. Enfin, dans la mesure où la voie de vasodilatation glutamatergique neuronale est altérée dans notre modèle, d'autres analyses ont été réalisées de façon à mettre en évidence si les neurones pyramidaux du cortex préfrontal voient eux aussi leur activité être modifiée par nos conditions de régime ou par l'obésité. Ainsi, ma thèse a permis de mettre en place un système d'électrophysiologie sur tranches de cerveau frais et à mettre au point un protocole permettant d'étudier la potentialisation à long-terme des circuits neuronaux du cortex préfrontal.

Mots-clés

Vaisseaux cérébraux ; Glutamate ; HFD ; Couplage neurogliovasculaire ; Obésité

ABSTRACT

Middle age cognitive decline has been suspected to be induced by metabolic disorders. A longitudinal study of male C57Bl6/J mice fed with high fat diet (HFD) demonstrated a cognitive decline after 6 months concomitant with the onset of metabolic disorders and a dysfunction in cerebrovascular dilation. This could be caused by a neuroglial vascular coupling (NGVC) dysfunction. The aim of this PhD work was to identify predictive cerebral markers of cognitive decline induced by metabolic disorders. During this work, I studied the integrity of NGVC in this model. Using an ex-vivo brain-slice model, I show that glutamate-induced vasodilation was impaired after 12 months of HFD and by obesity. Specific inhibitions of the enzymes involved in the glutamatergic vasodilation pathways highlighted that HFD and obesity are responsible for an imbalance in these pathways, even more so for the neuronal pathway enzymes: nNOS and COX II. This study gave mechanistic insights of the neuroglial vascular uncoupling induced by diet-induced metabolic disorders. Using Halpern's arteriography, a significantly decreased myogenic tone of the basilar artery was observed in the HFD, linked to obesity. These neurovascular impairments could be involved in cognitive decline at midlife.

Moreover, knowing that COX II expression could vary with neuroinflammation, an immunohistochemistry assay has permitted to show that COX II and GFAP expression increased with HFD and obesity, suggesting neuroinflammation in the prefrontal cortex. Finally, as the neuronal vasodilatory pathway was altered in our model, we questioned the functioning of the prefrontal cortex pyramidal neurons electric activity under HFD and obesity. Therefore, my PhD enabled to set up an ex-vivo brain slice electrophysiology system that can now be used to study long-term potentiation.

Keywords

Cerebral vessels; Glutamate; HFD; Neuroglial vascular coupling; Obesity

TABLE DES MATIERES

Remerciements	3
Résumé.....	7
Abstract	9
Table des figures.....	18
Table des tableaux.....	21
Liste des abréviations.....	22
Introduction.....	28
Préambule	30
I - Déclin cognitif.....	31
1. Définitions et généralités	31
2. Causes du déclin cognitif.....	32
A. Vieillissement cérébral	32
B. Maladies neurodégénératives.....	35
Maladie d'Alzheimer	36
Maladie de Parkinson.....	38
C. Contributions vasculaires	40
AVC	41
Maladies constitutives : CSVD et CAA	42
D. Contributions métaboliques.....	43
Syndrome métabolique.....	44
Obésité	45
Hypertension artérielle	46
Diabète de type 2	47
Les troubles du métabolisme peuvent-ils à eux seuls induire un déclin cognitif ? ..	48

Données cliniques	48
Modèles pré-cliniques	49
Modèles génétiquement modifiés	50
Modèles induits pharmacologiquement	51
Modèles basés sur l'alimentation	51
Choix de notre modèle d'étude	52
II - organisation de l'unité neurogliovasculaire	56
1. Neurones	56
A. Définition	56
B. Neurotransmission	57
Propriétés électriques	57
Neurotransmetteurs	58
C. Vasoréactivité	60
2. Cellules gliales	60
A. Oligodendrocytes	61
B. Ependymocytes	62
C. Microglie	62
D. Astrocytes	62
Rôle dans la neurotransmission	64
Fonction vasomotrice	65
Rôle dans la neuroinflammation	66
3. Vaisseaux cérébraux	67
A. Architecture du réseau de vaisseaux cérébraux	67
Avancées technologiques	67
Cerveau humain	69
Cerveau murin	70

B.	Organisation de l'arbre vasculaire cérébral	71
C.	Structure des vaisseaux cérébraux.....	72
	Cellules endothéliales.....	72
	Cellules musculaires lisses.....	73
	Péricytes	74
	Vasomotricité et loi de Poiseuille.....	74
D.	Troubles de la perfusion cérébrale	75
III -	Couplage neurogliovasculaire : histoire d'un aller et d'un retour	76
1.	Voies de régulation : des neurones aux vaisseaux.....	77
A.	Par le potassium	77
B.	Par l'ATP	79
C.	Par le glutamate	80
	Glutamate.....	80
	Synthèse, recapture et catabolisme du glutamate	80
	Récepteurs glutamatergiques	81
	Types de neurones glutamatergiques.....	83
	Rôles physiologiques du glutamate	83
	Physiopathologie du glutamate	83
	Voies astrocytaires	84
	Voies neuronales.....	86
2.	Autorégulation de la perfusion cérébrale : des vaisseaux aux neurones	86
A.	Régulation du flux sanguin cérébral par l'endothélium.....	86
B.	Tonus myogénique	87
C.	Couplage vasculo-neuronal (VNC).....	88
	Rôle du couplage neurogliovasculaire	89
	dysfonction du couplage neurogliovasculaire	91

A. Lien avec la cognition	91
Présentation de la thèse & Objectifs	94
Matériel et Méthodes	100
Animaux.....	102
Caractérisation des animaux.....	103
Suivi comportemental et cognitif.....	103
Actimétrie.....	104
Labyrinthe en croix surélevée (ou Elevated-Plus Maze)	104
Test de reconnaissance d'un nouvel objet (ou Novel Object Recognition)	105
Labyrinthe en Y.....	106
Labyrinthe de Barnes.....	106
Suivi métabolique.....	108
Suivi du poids.....	108
Tolérance au glucose.....	108
Dosages métaboliques	108
Stéatose hépatique	108
Pression artérielle.....	109
Imagerie <i>in vivo</i>	110
Volumétrie T2 3D	110
Perfusion sanguine (PASL).....	111
Spectroscopie à résonance magnétique (SRM)	111
Etude de la vasomotricité cérébrale	114
Mise à mort des animaux.....	114
Méthodes d'exploration vasculaire <i>ex vivo</i>	114
Vasomotricité de l'artère basilaire.....	114
Mesure du tonus myogénique	115

Vasomotricité sur tranches de cerveau frais	115
Sélection des vaisseaux	116
Modulations pharmacologiques	116
Analyse	117
Electrophysiologie sur tranches de cerveau frais	118
Mise à mort et préparation des tranches de cerveau	118
Déroulé de l'expérience	118
Installation.....	118
Choix des signaux	119
Pulses appariés (PP)	120
Potentialisation à long-terme (LTP)	120
Immunohistochimie (IHC)	121
Analyses statistiques	123
Figures	123
Résultats	126
Caractérisation de la cohorte	129
Profil métabolique.....	129
Des troubles du métabolisme importants apparaissent après 6 mois de régime HFD	129
La prise de poids indépendamment du régime augmente le risque de développer des troubles du métabolisme	131
Le HFD et la prise de poids n'induisent pas de changement dans la composition lipidique du CPF et de l'hippocampe.....	135
Profil comportemental	136
Le HFD ne modifie pas les capacités motrices ni le caractère anxieux des animaux, contrairement à l'obésité	136
Profil cognitif	139

Le HFD ne modifie pas la mémoire spatiale.....	139
Différences de profil cognitif entre les animaux de ma cohorte et la caractérisation initiale.....	141
Flexibilité de la mémoire	141
Mémoire de reconnaissance visuelle	142
Volumes du CPF et de l'hippocampe	143
Projet 1 : Alterations cerebrovasculaires induites par le regime et les troubles du métabolisme.....	144
La perfusion cérébrale est inchangée par le HFD et l'obésité	144
Le HFD et l'obésité altèrent le tonus myogénique de l'artère basilaire	145
Le taux de glutamate intra-cérébral est inchangé par le HFD et la prise de poids.....	146
L'effet vasodilatateur du glutamate est altéré après 12 mois de HFD et par l'obésité .	147
L'obésité et le HFD provoquent un déséquilibre dans les voies vasodilatatrices glutamatergiques.	149
La réponse au glutamate ne varie pas en fonction du type de vaisseaux	152
Projet 2 : Expression de COX2 dans le cortex préfrontal	153
Facteurs de neuroinflammation.....	153
Co-marquages	155
Co-marquage COX II – NeuN	155
Co-marquage COX II - GFAP	156
Co-marquage COX II - Iba1	157
Co-marquage COX II - CD31.....	158
Projet 3 : exploration electrophysiologique du modele	159
LTP	159
Pulses appariés	160
Discussion et Perspectives	164

Caractérisation de la cohorte	168
Projet 1 : Exploration cérébrovasculaire du modèle et étude des voies glutamatergiques	172
Projet 2 : Expression de COX2 dans le cortex préfrontal	177
Projet 3 : Exploration électrophysiologique du modèle	180
Bibliographie	184
Annexes	215

TABLE DES FIGURES

FIGURE 1 : POURCENTAGE PREVISIONNEL D'EVOLUTION DU NOMBRE DE CAS SUPPLEMENTAIRES DE DEMENCE ENTRE 2019 ET 2050 PAR PAYS (<i>ISSU DE NICHOLS ET AL., 2022</i>).	32
FIGURE 2 : LES 9 MARQUEURS CELLULAIRES DU VIEILLISSEMENT (<i>ISSU DE HOU ET AL., 2019</i>).	33
FIGURE 3 : LES EFFETS DU VIEILLISSEMENT SUR LE CERVEAU A DIFFERENTES ECHELLES (<i>INSPIRE DE GUO ET AL., 2022</i>).	34
FIGURE 4 : MANIFESTATIONS HISTOLOGIQUES ET CLINIQUES DE LA MALADIE D'ALZHEIMER.	37
FIGURE 5 : MECANISMES D'ACTION DE LA MALADIE DE PARKINSON (<i>ADAPTE D'UNE ILLUSTRATION DE LA BIBLIOTHEQUE « BIORENDER DISEASE MECHANISMS »</i>).	39
FIGURE 6 : LES DIFFERENTS MARQUEURS DES CSVD.	43
FIGURE 7 : FRACTIONS ATTRIBUABLES A LA POPULATION DES FACTEURS DE RISQUE « MODIFIABLES » DE LA DEMENCE (<i>ISSU DE LIVINGSTON ET AL., 2024</i>).	44
FIGURE 8 : ETAPES DE FORMATION DE PLAQUES D'ATHEROME (<i>ISSU DE MOORE & TABAS, 2011</i>).	46
FIGURE 9 : LES EFFETS SUPPOSES DE LA LUTTE CONTRE LES FACTEURS DE RISQUES DE LA DEMENCE (<i>ISSU DE LIVINGSTON ET AL., 2024</i>).	49
FIGURE 10 : ILLUSTRATION DE L'APPARENCE D'UNE SOURIS NORMALE (OB/OB) ET D'UNE SOURIS PORTANT LA MUTATION OB/OB (<i>ISSU DE ERICKSON ET AL., 1996</i>).	50
FIGURE 11 : ALTERATIONS COGNITIVES ET CEREBROVASCULAIRES OBSERVEES DANS NOTRE MODELE (<i>ISSU DE PETRAULT ET AL., 2019</i>).	53
FIGURE 12 : EVOLUTION DES FONCTIONS COGNITIVES AU COURS DU TEMPS	54
FIGURE 13 : L'UNITE NEUROGLIOVASCULAIRE ET SES PRINCIPAUX ACTEURS.	56
FIGURE 14 : LE NEURONE.	57
FIGURE 15 : FONCTIONNEMENT D'UNE SYNAPSE CHIMIQUE.	58
FIGURE 16 : IMAGE EN MICROSCOPIE ELECTRONIQUE DE PIEDS ASTROCYTAIRES (EN ROUGE) ENTOURANT LES VAISSEAUX SANGUINS.	63
FIGURE 17 : LA BARRIERE HEMATO-ENCEPHALIQUE.	64
FIGURE 18 : AVANCEES TECHNOLOGIQUES POUR LA VISUALISATION DES PETITS VAISSEAUX CEREBRAUX.	68
FIGURE 19 : VASCULATURE CEREbraLE ET POLYGONE DE WILLIS.	70
FIGURE 20 : STRUCTURE DES DIFFERENTS TYPES DE VAISSEAUX SANGUINS (<i>ISSU DE IADECOLA & SCHAEFFER, 2021</i>).	71
FIGURE 21 : MECANISMES INTRA-CELLULAIRES PERMETTANT LA CONTRACTION ET LA RELAXATION DES CELLULES MUSCULAIRES LISSES.	73
FIGURE 22 : LE COUPLAGE NEUROGLIOVASCULAIRE.	76
FIGURE 23 : ROLE DU POTASSIUM DANS LE COUPLAGE NEUROGLIOVASCULAIRE.	78
FIGURE 24 : ROLE DE L'ATP DANS LA DILATATION DES MICRO-VAISSEAUX CEREBRAUX.	80
FIGURE 25 : CYCLE DE SYNTHESE-CATABOLISME DU GLUTAMATE.	81

FIGURE 26 : ACTIVATION DES RECEPTEURS NMDA.	82
FIGURE 27 : LES VOIES GLUTAMATERGIQUES DE DILATATION ASTROCYTAIRES (A GAUCHE) ET NEURONALES (A DROITE) DES VAISSEAUX CEREBRAUX (<i>ISSU DE CAULI & HAMEL, 2018</i>).	85
FIGURE 28 : DEVELOPPEMENT DU TONUS MYOGENIQUE.	88
FIGURE 29 : LE COUPLAGE VASCULO-NEURONAL.	89
FIGURE 30 : COMPOSITION NUTRITIVE DES REGIMES ND (A) ET HFD (B).	102
FIGURE 31 : DEROULE DES EXPERIMENTATIONS ET NOMBRES D'INDIVIDUS DANS CHAQUE ETUDE.	103
FIGURE 32 : PRESENTATION DU SUIVI COMPORTEMENTAL ET COGNITIF.	104
FIGURE 33 : PROTOCOLE DE COLORATION A L'HUILE ROUGE.	109
FIGURE 34 : APPAREIL DE MESURE DE LA PRESSION ARTERIELLE.	109
FIGURE 35 : CARTOGRAPHIES IRM.	111
FIGURE 36 : DESCRIPTION DES PICS DE SRM D'INTERET.	113
FIGURE 37 : METHODES D'EXPLORATION VASCULAIRE <i>EX VIVO</i> .	114
FIGURE 38 : REPRESENTATION DE VAISSEAUX SELECTIONNES POUR L'ETUDE DE LA VASOMOTRICITE SUR TRANCHES DE CERVEAU FRAIS.	116
FIGURE 39 : ZONE D'ETUDE LORS DES EXPERIENCES D'ELECTROPHYSIOLOGIE.	119
FIGURE 40 : REPRESENTATION D'UN ENREGISTREMENT DE PULSES APPARIES.	120
FIGURE 41 : ALTERATIONS DE L'HOMEOSTASIE LIPIDIQUE ET GLUCIDIQUE INDUITES PAR LE HFD.	130
FIGURE 42 : POURCENTAGES REPRESENTATIFS DES SOURIS DANS CHAQUE CATEGORIE DE POIDS, AU COURS DU TEMPS.	132
FIGURE 43 : QUANTIFICATION PAR SRM DES LIPIDES AU SEIN DU CORTEX PREFRONTAL.	135
FIGURE 44 : PROFIL MOTEUR ET ANXIEUX DES SOURIS DE LA COHORTE.	137
FIGURE 45 : EVALUATION DE LA MEMOIRE SPATIALE A COURT-TERME.	139
FIGURE 46 : EVALUATION DE LA MEMOIRE SPATIALE A LONG-TERME A M12 AVEC LE LABYRINTHE DE BARNES.	140
FIGURE 47 : EVALUATION DE LA FLEXIBILITE COGNITIVE A M12 AVEC LE LABYRINTHE DE BARNES, A L'ISSUE DE LA SECONDE SEMAINE.	141
FIGURE 48 : EVALUATION DE LA MEMOIRE DE RECONNAISSANCE VISUELLE.	142
FIGURE 49 : VOLUMETRIE DU CORTEX PREFRONTAL ET DE L'HIPPOCAMPE.	143
FIGURE 50 : PERFUSION DU CORTEX PREFRONTAL ET DE L'HIPPOCAMPE.	145
FIGURE 51 : LE TONUS MYOGENIQUE DE L'ARTERE BASILAIRE.	146
FIGURE 52 : QUANTIFICATION DU GLUTAMATE ET DE LA GLUTAMINE DANS LE CORTEX PREFRONTAL.	147
FIGURE 53 : ALTERATION DE L'EFFET VASODILATEUR DU GLUTAMATE PAR LE HFD ET LA PRISE DE POIDS.	148
FIGURE 54 : IMPACT DU REGIME HFD ET DE LA PRISE DE POIDS SUR L'ACTIVITE DES ENZYMES DES VOIES GLUTAMATERGIQUES.	150
FIGURE 55 : IMPACT DU REGIME HFD ET DE LA PRISE DE POIDS SUR LA BALANCE D'ACTIVITE DES ENZYMES DES VOIES GLUTAMATERGIQUES.	151
FIGURE 56 : EFFET DU DIAMETRE INITIAL DU VAISSEAUX NE FAIT PAS VARIER LA REPONSE AU GLUTAMATE.	152

FIGURE 57 : LE HFD EST CORRELE A UNE AUGMENTATION DU NOMBRE DE CELLULES EXPRIMANT DES MARQUEURS DE LA NEUROINFLAMMATION.	154
FIGURE 58 : EXPRESSION DE COX II A PROXIMITE DES CELLULES NEUN-POSITIVES.	156
FIGURE 59 : EXPRESSION DE COX II A PROXIMITE DES CELLULES GFAP-POSITIVES.	156
FIGURE 60 : EXPRESSION DE COX II A PROXIMITE DES CELLULES IBA-1-POSITIVES.	157
FIGURE 61 : EXPRESSION DE COX II A PROXIMITE DES CELLULES CD31-POSITIVES.	158
FIGURE 62 : IL EST POSSIBLE D'INDUIRE UNE POTENTIALISATION A LONG-TERME DANS LE CORTEX PREFRONTAL, MEME CHEZ DES SOURIS ADULTES.	160
FIGURE 63 : EXEMPLES DE PPF DANS NOTRE MODELE.	161
FIGURE 64 : ACCUMULATION DE GOUTTELETTES LIPIDIQUES DANS LES CELLULES MICROGLIALES ASSOCIEE AU HFD.	169
FIGURE 65 : ALTERATIONS NEUROVASCULAIRES CAUSEES PAR LES TROUBLES DU METABOLISME INDUITS PAR LE HFD DANS NOTRE MODELE.	175

TABLE DES TABLEAUX

TABLEAU 1 : CLASSIFICATION DES NEUROTRANSMETTEURS.	59
TABLEAU 2 : RECAPITULATIF DES DIFFERENTES CELLULES GLIALES ET DE LEURS FONCTIONS.....	61
TABLEAU 3 : INHIBITEURS ENZYMATIQUES UTILISES POUR LA MODULATION PHARMACOLOGIQUE DES ETUDES DE VASOMOTRICITE SUR TRANCHES.	117
TABLEAU 4 : ANTICORPS PRIMAIRES.....	122
TABLEAU 5 : ANTICORPS SECONDAIRES.....	122
TABLEAU 6 : NOMBRE D'INDIVIDUS DE CHAQUE CATEGORIE DE POIDS ET DE REGIME A CHAQUE TEMPS INCLUS DANS L'ETUDE IMMUNOHISTOCHIMIQUE.	122
TABLEAU 7 : CARACTERISATION METABOLIQUE EN FONCTION DU REGIME A M6 ET A M12.	131
TABLEAU 8 : CARACTERISATION METABOLIQUE EN FONCTION DE LA CATEGORIE DE POIDS, TOUS TEMPS CONFONDUS.	134

LISTE DES ABREVIATIONS

% aug	Pourcentage d'augmentation du diamètre
% dim	Pourcentage de diminution du diamètre
ΔP	Différence de pression
η	Viscosité
20-HETE	Acide 20-hydroxyeicosatetraenoïque

A

A1R	Récepteur adrénergique de type 1
AA	Acide Arachidonique
aCSF	artificial CerebroSpinal Fluid / Liquide céphalo-rachidien artificiel
ADN	Acide DésoxyriboNucléique
AGEs	Advanced Glycation End products / Produits terminaux de glycation
AM	Artériole Moyenne
AMARES	Advanced Method for Accurate, Robust, and Efficient Spectral fitting
AMPA	Acide α-amino-3-hydroxy-5-méthyl-4-isoxazolepropionique
AMPA	Récepteurs à l'AMPA
AMPC	Adénosine MonoPhosphate cyclique
ANTS	<i>Advanced Normalization Tools package</i>
APOE	ApoLipoProtéine E
ATP	Adénosine TriPhosphate

AUC	<i>Area under the Curve</i> / Aire sous la courbe
AVC	Accident Vasculaire Cérébral

B

BHE	Barrière Hémato-Encéphalique
BK	Canaux Big Potassium
BO	Bras Ouvert
BOLD	<i>Blood-oxygenation-level-dependent imaging</i> / Imagerie dépendante du niveau d'oxygène sanguin

C

CAA	angiopathie cérébrale amyloïde
Ca²⁺	ion calcium
CaCl₂	Chlorure de calcium
CARS	<i>Coherent Anti-stokes Raman Scattering</i>
CB1	Récepteurs aux cannabinoïdes 1
COX	CycloOxygénase
CSVD	<i>Cerebral Small Vessel Disease</i>
CO₂	Dioxyde de carbone

D

DAPI	4',6-diamidino-2-phénylindole
-------------	-------------------------------

DIC-IR	<i>Differential interference contrast-Infrared microscopy</i> / Microscopie à contraste interférentiel en Infra-rouge
DSM-5	Manuel diagnostique et statistique des troubles mentaux, et des troubles psychiatriques de l'Association américaine de psychiatrie
DT2	Diabète de Type 2
DVCD	<i>Degenerative and Vascular Cognitive Disorders</i> / Troubles cognitifs dégénératifs et vasculaires

E-F

EAAT	Transporteurs des Acides Aminés Excitateurs
EETs	Acides époxyeicosatriénoïques
eNOS	NO synthase endothéliale
EP	Récepteurs aux prostaglandines
EPM	<i>Elevated-Plus Maze</i> / Labyrinthe en Croix Surélevé
fEPSP	potentiels d'excitation post-synaptiques

G

GA	Grosse Artériole
GABA	Acide γ-aminobutyrique
GFAP	<i>Glial Fibrillary Acidic Protein</i> / protéine acide fibrillaire gliale
Glu	Glutamate
Gln	Glutamine
Glx	Glutamate + Glutamine

H

H2O	Oxyde de dihydrogène
HAS	Haute Autorité de Santé
HDL	<i>High Density Lipoprotein</i> / Lipoprotéine de haute densité
HEPES	Acide 4-(2-hydroxyéthyl)-1-pipérazine éthane sulfonique
HFD	High Fat Diet
HFS	Stimulation à haute fréquence
HIC	Hémorragie intra-cérébrale
HTA	Hypertension Artérielle

I

Iba-1	Ionized calcium-binding adapter molecule 1
IgG	Immunoglobuline G
IHC	Immunohistochimie
IL-1	Interleukine 1
IL-6	Interleukine 6
IMC	Indice de Masse Corporelle
INSERM	Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale
IP	Intra-péritonéal
IP3	Inositol trisphosphate
IRM	Imagerie en résonance magnétique
IRMf	Imagerie en résonance magnétique fonctionnelle
ISI	Intervalle inter-pulse

K	
K+	Ion potassium
KCl	Chlorure de potassium
Kir	<i>Inward-rectifier potassium channel</i> / Canal potassique correcteur entrant
KH₂PO₄	Phosphate de monopotassium

L	
L	Longueur
L-DOPA	Forme Lévygyre de la 3,4-dihydroxyphénylalanine
LiiFe	<i>Lille In vivo Imaging and Functional Exploration</i> / Plateforme d'Imagerie du vivant & d'exploration fonctionnelle
LH	Hormone lutéale
L-NNA	Nitroarginine
LTP	Potentialisation à Long-Terme

M	
Mg²⁺	Ion magnésium
mGluR	Récepteurs métabotropiques au glutamate
MgSO₄	Sulfate de magnésium
MLCK	Myosin light-chain kinase
MOM	Mouse on Mouse
mRNAseq	Séquençage haut-débit des ARN messagers

N	
N₂	Diazote
NAA	Acide N-acétylaspartique
NaCl	Chlorure de sodium
NaH₂PO₄	Phosphate monosodique

NaHCO₃	Bicarbonate de sodium
ND	Normal Diet
NeuN	<i>Neuronal Nuclear Antigen</i>
NGVC	<i>Neurogliovascular Coupling</i> / Couplage neurogliovasculaire
NIH	<i>National Institute of Health</i>
NLRP3	NOD-like receptor family, pyrin domain containing 3
NMDA	N-méthyl-D-aspartate
NMDAR	Récepteurs au NMDA
NMDG	N-Méthyle-D-glucamine
nNOS	NO synthase neuronale
NO	Monoxide d'azote
NOR	<i>Novel Object Recognition Test</i> / Test de reconnaissance de l'objet nouveau
NPY	Neuropeptide Y

O	
O₂	Dioxygène
Ob	Souris obèses
OCT	<i>Optimal Cutting Temperature</i> / Milieu d'enrobage cryogénique
OGTT	Test de Tolérance au Glucose
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
Ov	Souris en surpoids

P	
P1	Premier potentiel évoqué
P2	Second potentiel évoqué
PA	Petite Artériole
PAM	Pression Artérielle Moyenne

PAF	<i>Population Attributable Fraction / Fraction attribuable à la population</i>
PASL	<i>Perfusion arterial spin-labelling</i>
PFA	Paraformaldéhyde
PGE2	Prostaglandine E2
PGI2	Prostacycline I2
pH	Potentiel d'Hydrogène
PLA2	Phospholipase A ₂
PP	<i>Paired-Pulses / Pulses appariés</i>
PPF	<i>Paired-Pulses Facilitation / Facilitation pré-synaptique</i>
PSCI	<i>Post-Stroke Cognitive Impairment / Déclin cognitif post-AVC</i>
PVC	Polychlorure de vinyle

Q-R-S

Q	Débit
R	Rayon du vaisseau
ROS	Espèces réactives de l'oxygène
SEM	Ecart-type rapporté à la moyenne
SLA	Sclérose Latérale Amyotrophique
SNC	Système Nerveux Central
SNP	Système Nerveux Périphérique
SNR	Single Noise Ratio
SOM	Somatostatine
SRM	Spectroscopie à Résonance Magnétique
SRS	<i>Stimulated Raman Scattering</i>
STEAM	<i>Unsuppressed and suppressed STimulated Echo Acquisition Mode</i>

Sw	Souris de poids standard
-----------	--------------------------

T

TAV/VAT	<i>Tissu adipeux viscéral / Visceral Adipose Tissue</i>
TE	Temps d'écho
TEP	Tomographie par Emission de Positrons
TI	Temps d'Inversion
TNF-α	Facteur de Nécrose Tumorale alpha
TOF-MRA	<i>Time-Of-Flight Magnetic Resonance Angiography</i>
TR	Temps de répétition
TREAT	Equipe « Modulation pharmacologique translationnelle pour les maladies neurodégénératives et neurovasculaires »
TRPV4	<i>Transient Receptor Potential Vanilloide 4</i>

V-W-Z

VAPOR	<i>Variable Pulse power and Optimized Relaxation delays</i>
VCI	<i>Vascular Cognitive Impairment / Démence vasculaire</i>
VGLUT	Transporteurs Vésiculaires du Glutamate
VIP	Peptide Vasoactif Intestinal
VNC	Couplage Vasculo-Neuronal
WMH	<i>White Matter Hyperintensities / Lacunes</i>
ZDF	Zucker Diabetic Fatty
ZF	Zucker Fatty



INTRODUCTION

PREAMBULE

Dans un contexte où la population mondiale est vieillissante, le déclin cognitif est au cœur des préoccupations. L'augmentation de l'espérance de vie prolonge la course de ce déclin, jusqu'à atteindre un seuil pathologique chez certaines personnes : la démence. Etant reconnue comme la première cause d'invalidité et de dépendance chez le sujet âgé ("La démence," n.d.), la démence a un impact économique et sociétal non négligeable. En effet, le coût économique mondial de la démence a été évalué à 1,3 milliards de dollars en 2019 par l'OMS. La moitié de cette somme est imputable à la prise en charge des soins par les proches, qui se retrouvent bien souvent à prendre à leur charge personnelle les malades.

Dans la mesure où le nombre de personnes atteintes de démence devrait tripler d'ici à 2050, la maîtrise de l'évolution du déclin cognitif est donc primordiale. La préservation de la santé cérébrale (« *brain/cognitive health* », selon le NIH), est aujourd'hui un enjeu majeur de santé publique, les principaux conseils donnés étant la préservation de la santé physique. Pour ce faire, de nombreuses recommandations existent, comme le contrôle de sa pression artérielle, le suivi d'une alimentation saine et équilibrée, la pratique d'une activité physique régulière et adaptée et d'activités cognitives stimulantes et le maintien d'une vie sociale active. Malgré ces recommandations, l'hypertension artérielle reste la maladie chronique la plus fréquente en France avec un adulte sur trois touché ("Hypertension artérielle (HTA) · Inserm, La science pour la santé," n.d.), l'incidence du diabète a quadruplé ces 30 dernières années ("Diabète," n.d.) et une personne sur huit dans le monde était obèse en 2022 ("Obésité et surpoids," n.d.). Il est donc nécessaire de trouver des solutions thérapeutiques pour soutenir ces approches comportementales afin de limiter les risques associés à ces pathologies. Mieux comprendre les causes moléculaires du déclin cognitif, ainsi que la physiopathologie de ses facteurs de risque, pourrait permettre, en plus de ces mesures hygiéno-diététiques, de lutter plus efficacement contre sa progression.

I - DECLIN COGNITIF

1. DEFINITIONS ET GENERALITES

Les fonctions cognitives sont les capacités de notre cerveau qui nous permettent de communiquer, de percevoir notre environnement, de nous concentrer, de nous souvenir d'un événement ou encore d'accumuler des connaissances. Elles sont au centre de notre vie quotidienne, puisqu'elles comprennent entre autres les facultés d'attention, d'exécution, de traitement de l'information, le langage, les fonctions intellectuelles et la mémoire.

Le déclin cognitif est défini dans le DSM-5 (HAS) comme une détérioration acquise, significative et évolutive des capacités dans un ou plusieurs domaines cognitifs, souvent associée à une perte d'autonomie dans la réalisation de certaines tâches de la vie quotidienne. Il est persistant, non expliqué par une dépression ou des troubles psychotiques, souvent associé à un changement de comportement ou de personnalité. Le déclin cognitif peut être physiologique et est étroitement lié à l'âge.

L'aggravation de ces symptômes conduit à la démence, un syndrome qui se définit comme une altération globale, durable et organique des facultés mentales d'un individu entravant son autonomie dans la vie quotidienne en dehors de toute altération de la vigilance. Elle s'installe généralement après 65 ans et se caractérise par une diminution des performances dans la plupart des fonctions cognitives. La démence constitue la première cause de dépendance et de handicap chez les personnes âgées. Elle touche aujourd'hui plus de 55 millions de personnes dans le monde, avec près de 10 millions de nouveaux cas par an (Principaux repères sur la démence, OMS, 2023). Sa prévalence en constante augmentation devrait tripler d'ici à 2050 dans le monde (Nichols and Vos, 2021). Il est important de noter que les pays où cette augmentation sera la plus importante sont des pays à revenus faibles ou intermédiaires (**Figure 1**). Il n'existe pas de traitement contre la démence à ce jour, cependant, des mesures peuvent être mises en place pour améliorer la qualité de vie des patients, notamment en essayant d'inverser la course des facteurs de risques et avec des traitements symptomatiques (inhibiteurs de l'acétylcholine estérase, le plus connu étant le « Donépézil » et antagonistes de récepteurs NMDA).

Le déclin cognitif, lorsqu'il est précoce, est associé à de plus graves conséquences à long terme et augmente le risque de développer une démence (Kivipelto *et al.*, 2006). Il est donc essentiel de mieux comprendre les mécanismes qui peuvent conduire au déclin cognitif, afin de pouvoir le prévenir, ou au moins le retarder.

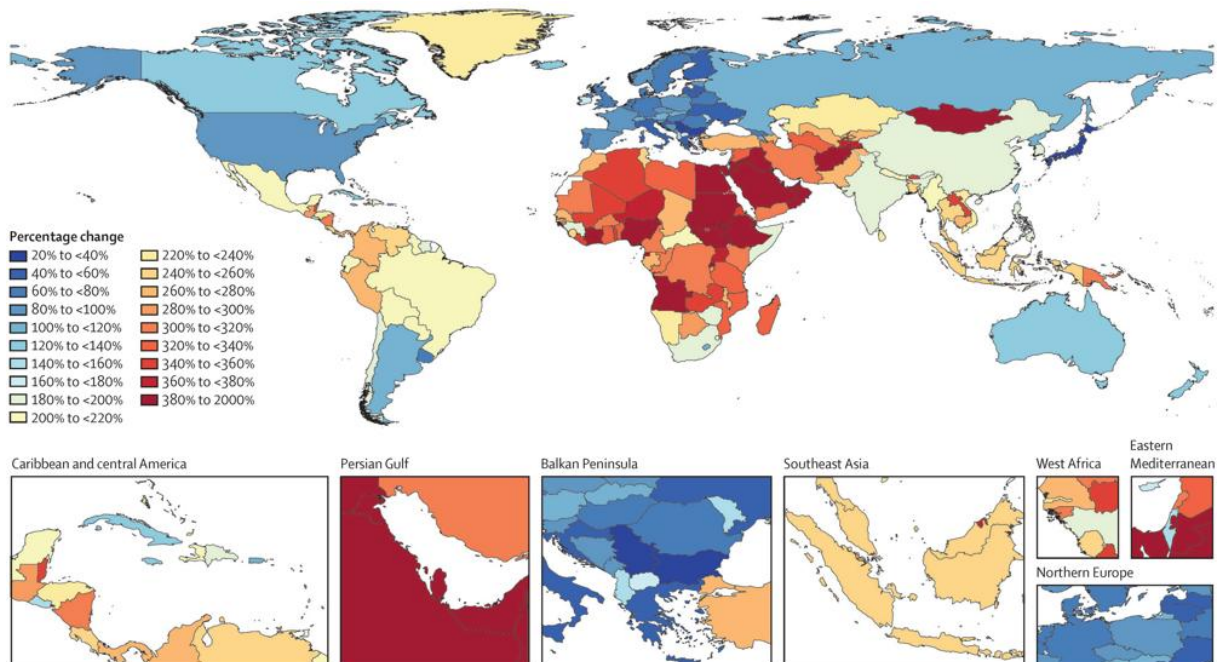


Figure 1 : Pourcentage prévisionnel d'évolution du nombre de cas supplémentaires de démence entre 2019 et 2050 par pays (issu de Nichols *et al.*, 2022).

2. CAUSES DU DECLIN COGNITIF

Le déclin cognitif peut être la résultante de processus physiologiques intervenant pendant le vieillissement, la conséquence de pathologies neurodégénératives ou encore d'accidents vasculaires cérébraux. Il intervient à la suite de changements anatomiques, biologiques et cliniques, pouvant être provoqués par plusieurs facteurs de risques, à la fois génétiques et environnementaux, mais aussi métaboliques.

A. VIEILLISSEMENT CEREBRAL

Au cours du vieillissement d'un individu, de nombreux changements anatomiques et fonctionnels s'opèrent à différentes échelles.

Tout d'abord, à l'échelle cellulaire, 9 marqueurs du vieillissement ont été identifiés (Hou *et al.*, 2019). Ces marqueurs (**Figure 2**) comprennent notamment l'instabilité génétique (López-

Otín *et al.*, 2013), le raccourcissement télomérique (Bekaert *et al.*, 2005), des altérations épigénétiques (Yang *et al.*, 2023), la dysfonction mitochondriale (Tidwell *et al.*, 2017) et la sénescence. Ces marqueurs sont liés entre eux : l'instabilité génétique peut être causée par le raccourcissement des télomères et inversement. Cependant, d'autres causes peuvent aussi être considérées, comme une sensibilité accrue aux espèces réactives de l'oxygène avec l'âge, conduisant à un stress oxydant plus important (Salim, 2017). Tous ces facteurs entraîneront des conséquences délétères, comme l'induction de dommages de l'ADN (Yousefzadeh *et al.*, 2021), ainsi que de la neuroinflammation (Rodier and Campisi, 2011), qui sont associés au déclin cognitif (Huang *et al.*, 2023; Lawrence *et al.*, 2023).

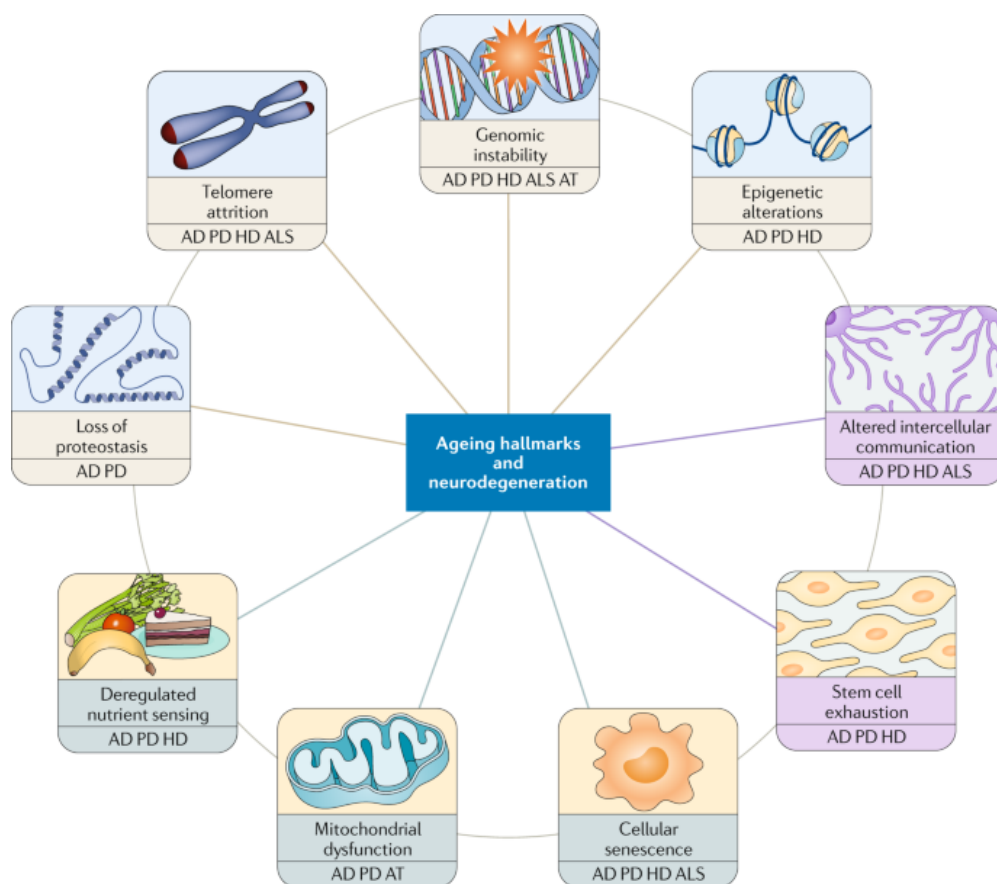


Figure 2 : Les 9 marqueurs cellulaires du vieillissement (issu de Hou *et al.*, 2019).

Localement, à l'échelle du tissu, d'autres modifications peuvent apparaître avec l'âge (**Figure 3**). La communication inter-cellulaire peut se retrouver altérée par un déséquilibre des neurotransmetteurs, en particulier par une dérégulation du glutamate et du GABA (Hermans *et al.*, 2018). Cela entraîne des conséquences sur l'excitabilité neuronale (Debanne *et al.*, 2019; Ishii *et al.*, 2018). On retrouve ainsi, dans le cerveau vieillissant, une

hyperactivation neuronale locale (Radulescu *et al.*, 2023; Zacharopoulos *et al.*, 2021), ainsi que des altérations de la plasticité synaptique (Navakkode and Kennedy, 2024).

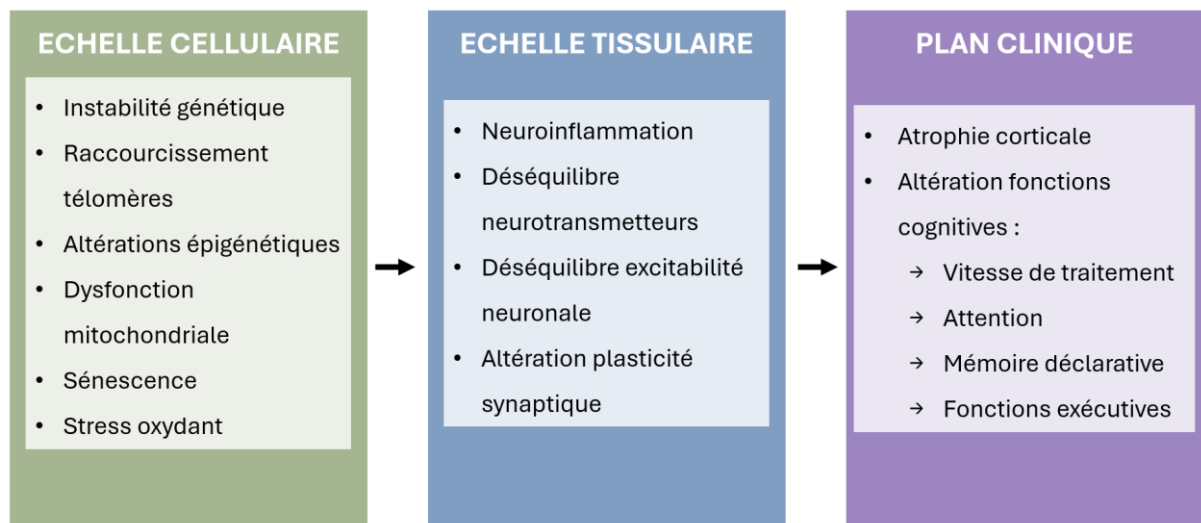


Figure 3 : Les effets du vieillissement sur le cerveau à différentes échelles (*inspiré de Guo et al., 2022*).

Sur le plan anatomique, une diminution du volume et de l'épaisseur du cortex cérébral a été observée avec l'âge (Bethlehem *et al.*, 2022). Avec le temps, ce phénomène peut entraîner une atrophie corticale pouvant être directement corrélée au déclin cognitif (Lövdén *et al.*, 2013).

D'une façon générale, sur le plan clinique, le vieillissement entraîne une diminution de plusieurs fonctions cognitives (Salthouse, 2010), notamment :

- La vitesse de traitement de l'information : il s'agit de la capacité à effectuer des opérations mentales rapidement et efficacement. Cette diminution serait liée à une diminution de l'intégrité de la substance blanche avec l'âge (Guttmann *et al.*, 1998) et peut entraîner des conséquences délétères, notamment lors de tests neuropsychologiques pour l'évaluation d'autres fonctions cognitives. Elle est donc associée à une diminution de la performance dans plusieurs tâches cognitives (Harada *et al.*, 2013).
- L'attention : plusieurs études répertorient une diminution de l'attention sélective, à savoir la capacité à se concentrer sur une tâche importante dans un environnement complexe ; et de l'attention divisée (la capacité à se concentrer sur

plusieurs tâches simultanément), avec l'âge (Carlson *et al.*, 1995; Salthouse *et al.*, 1995).

- La mémoire déclarative (Isingrini and Taconnat, 2008) : elle se compose de la mémoire sémantique, qui concerne les usages du langage et de ses connaissances pratiques ; et de la mémoire épisodique, qui est la mémoire des expériences de vie des individus, de leurs lieux et de leurs dates. Alors que cette dernière diminue tout au long de la vie, une perte significative de la mémoire sémantique est observée entre 55 et 60 ans (Rönnlund *et al.*, 2005). D'une façon générale, on observe avec l'âge une diminution du taux d'acquisition, ainsi qu'une diminution de la capacité à accéder à des informations apprises récemment (Harada *et al.*, 2013).
- Les fonctions exécutives : ce sont l'ensemble des processus mentaux que met en œuvre une personne pour gérer ses comportements, ses pensées et ses émotions lors d'une situation nouvelle qui nécessite de résoudre un problème pour lequel nos stratégies habituelles et connues ne suffisent pas. Elles comprennent plusieurs fonctions cognitives indépendantes, mais reliées, telles que la mémoire de travail, le contrôle de l'inhibition, la flexibilité cognitive et la planification. On observe une perte globale des fonctions exécutives après 70 ans (Lezak, 2004), et plus particulièrement de la mémoire de travail, qui est une forme de mémoire à court-terme, permettant de retenir momentanément des informations tout en les manipulant simultanément (Park *et al.*, 2002; Salthouse *et al.*, 1989).

B. MALADIES NEURODEGENERATIVES

En plus de ces changements physiologiques, certains facteurs environnementaux et génétiques peuvent être à l'origine de dysfonctionnements moléculaires supplémentaires au sein du cerveau, menant au développement d'une pathologie neurodégénérative. Les maladies neurodégénératives sont des maladies chroniques et progressives qui touchent le système nerveux central. Ces affections entraînent une dégénérescence et/ou une mort neuronale, ce qui sur le long terme entraîne des conséquences sur les fonctions cognitives et motrices. L'incidence de ces maladies augmente avec l'âge, ainsi, en raison du vieillissement progressif de la population et de l'absence de traitements curatifs, elles touchent de plus en plus de personnes, ce qui en font un enjeu de santé publique mondiale (Rapport de Santé Publique France sur les maladies neurodégénératives, 2023).

En plus de la dysfonction et de la mort neuronale, on retrouve généralement dans les processus pathologiques des maladies neurodégénératives des anomalies du protéosome et du système lysosomal, du stress oxydant, et de la neuroinflammation (Guo *et al.*, 2022; Wyss-Coray, 2016). Pour la plupart, ces atteintes sont causées par un défaut de conformation de protéines indispensables au bon fonctionnement cérébral, ce qui entraîne leur agrégation et leur accumulation (Sonawane *et al.*, 2019). La protéine concernée ainsi que la zone du cerveau d'où démarre la dégénérescence vont définir le phénotype pathologique. Les protéines tau, β -amyloïde et α -synucléine sont à l'origine des protéinopathies les plus courantes, à savoir la maladie d'Alzheimer et la maladie de Parkinson (Dugger and Dickson, 2017).

Maladie d'Alzheimer

Décrite en 1907 par Alois Alzheimer, la maladie d'Alzheimer est aujourd'hui la première cause de démence au monde, puisqu'elle représente entre 60 et 70 % des cas (Principaux repères sur la démence, OMS, 2023). En 2018, il a été estimé que près de 50 millions de personnes étaient atteintes de la maladie d'Alzheimer dans le monde, avec une plus forte incidence chez les femmes, notamment après 80 ans.

La maladie d'Alzheimer est une maladie neurologique évolutive causée par une double protéinopathie. A l'échelle cellulaire, on observe en effet deux types de lésions : des dépôts amyloïdes, causés par une accumulation extra-cellulaire de plaques β -amyloïdes et une neurodégénérescence neurofibrillaire, associée à une hyperphosphorylation de la protéine Tau intra-cellulaire, provoquant son agrégation (Long and Holtzman, 2019). La localisation de ces lésions a aussi un effet pathologique intrinsèque, les dépôts amyloïdes notamment pouvant être retrouvés autour des vaisseaux sanguins intraparenchymateux, perturbant le flux sanguin cérébral et induisant un hypométabolisme cérébral (Rather *et al.*, 2024). De plus, l'accumulation des dépôts amyloïdes entraîne une activation microgliale et donc de la neuroinflammation (Cuicui Wang *et al.*, 2023). Celle-ci joue un rôle important dans la progression de la maladie, puisque l'évolution de la propagation des lésions est sous le contrôle de l'inflammation : plus elle est présente, plus la pathologie progresse rapidement (Töpperwien *et al.*, 2020).

L'apparition de cette maladie est grandement dépendante de facteurs génétiques, avec plus de 40 *loci* de risque génétique identifiés. Le facteur de risque génétique le plus courant est

APOE ε4, qui augmente de 3 à 4 fois le risque de développer la maladie (Jansen *et al.*, 2019; van der Lee *et al.*, 2018). Il a été montré que la présence de cet allèle induisait une altération du métabolisme cérébral, provoquant une hypercholestérolémie à la membrane des neurones impliquée à la fois dans les processus amyloïdes et dans la pathologie tau (Leoni *et al.*, 2010). De plus, il existe une relation synergique bien décrite entre *APOE ε4* et les troubles du métabolisme, dans le développement des troubles cognitifs associés à la maladie d'Alzheimer (Jones and Rebeck, 2018). D'abord, parce que la présence d'*APOE ε4* augmente le risque de développer des troubles du métabolisme (El-Lebedy *et al.*, 2016; Torres-Perez *et al.*, 2016), mais aussi parce que chez les patients obèses porteurs de l'allèle, des troubles cognitifs plus importants sont observés, notamment concernant la mémoire et les fonctions exécutives (Zade *et al.*, 2013). Des observations similaires sont faites dans des modèles animaux (Johnson *et al.*, 2017) quand *APOE ε4* est exprimé chez des souris avec des troubles du métabolisme glucidique.

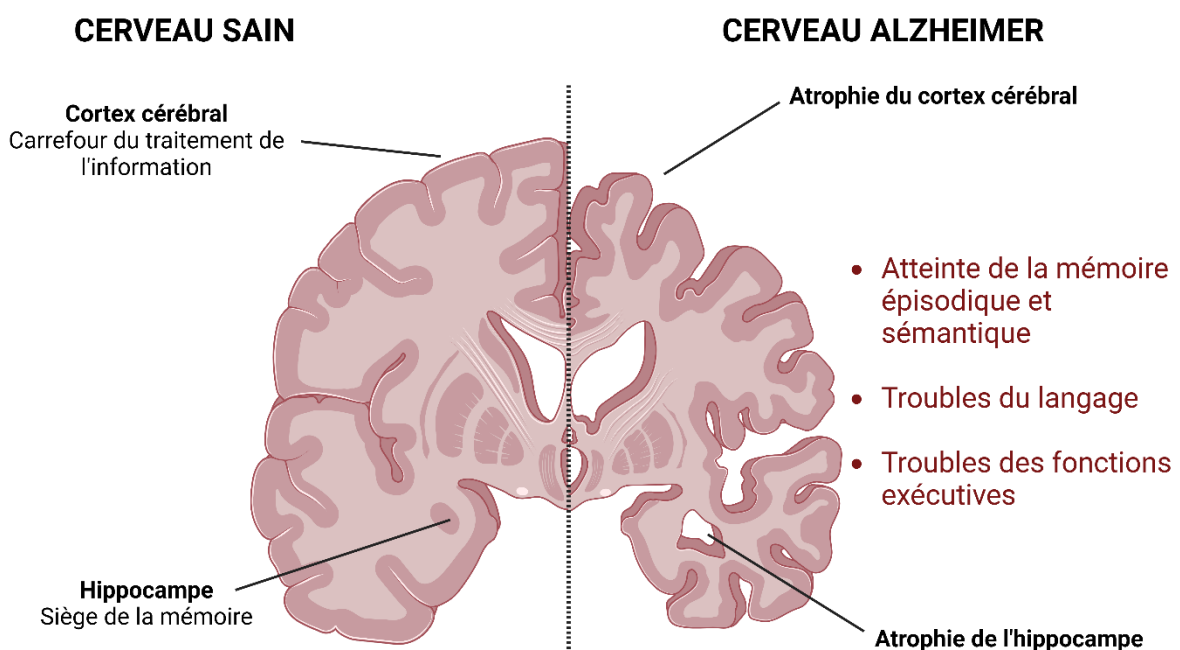


Figure 4 : Manifestations histologiques et cliniques de la maladie d'Alzheimer.

D'un point de vue histologique, on retrouve chez les cerveaux des patients atteints de la maladie d'Alzheimer une neurodégénérescence, causant une atrophie de l'hippocampe et du cortex, avec notamment un rétrécissement des circonvolutions et un élargissement des sillons corticaux (**Figure 4**). Cette neurodégénérescence va évoluer vers les aires associatives du cerveau (Braak and Braak, 1998).

La maladie d'Alzheimer se caractérise par une atteinte de la mémoire, principalement la mémoire épisodique et sémantique, mais elle affecte aussi d'autres fonctions cognitives. On retrouve chez les patients atteints de la maladie d'Alzheimer des troubles du langage et des fonctions exécutives (Bertoux *et al.*, 2020). Enfin, avec la progression de la maladie, les patients présentent une perte significative de la réalisation de leurs tâches quotidiennes en autonomie, avec une perturbation voire une suppression de la capacité à effectuer des activités complexes et plus tard des tâches plus simples (Risacher and Saykin, 2013).

Il n'existe pas à ce jour de traitement curatif de la maladie d'Alzheimer, cependant des médicaments « *disease-modifying* » ont été développés afin de ralentir la progression de la maladie, tels que le Donépézil, la Rivastigmine, la Galantamine et la Mémantine (Dossier de l'Institut Pasteur sur la Maladie d'Alzheimer, 2023).

Maladie de Parkinson

La maladie de Parkinson est une maladie neurodégénérative progressive courante, touchant près de 10 millions de personnes dans le monde. L'âge moyen du diagnostic est de 75 ans, avec une incidence 1,5 fois plus importante pour les hommes. La prévalence de la maladie a doublé au cours des 25 dernières années, et devrait continuer à augmenter du fait du vieillissement de la population, jusqu'à toucher 1 personne de plus de 45 ans sur 120 en 2030. Il existe des formes familiales de la maladie de Parkinson, liées à des *loci* de risque génétique identifiés, mais elles ne représentent que 10 à 15% des cas. Dans 85 à 90% des cas, on parle de forme sporadique de la maladie (Santé Publique France, 2018). Dans cette situation, son apparition est d'origine inconnue, même si de nombreux facteurs de risques environnementaux ont été mis en évidence, notamment l'exposition à certains produits chimiques, en particulier les pesticides, mais aussi la prise de drogues et de certains antipsychotiques, ainsi qu'un historique de traumatismes crâniens. Tous ces facteurs de risques dits « environnementaux » se combinent à des susceptibilités individuelles, comme les troubles du métabolisme, qui vont agir en synergie et aboutir à une maladie de Parkinson (Santé Publique France, France Parkinson).

Sur le plan cellulaire, le développement de la maladie de Parkinson est associé à une dysfonction mitochondriale et/ou lysosomale, au stress oxydant, à la neuroinflammation et à la résistance à l'insuline. Ce dernier processus est intéressant à considérer dans le cadre des

troubles du métabolisme, surtout dans la mesure où il y a une augmentation du risque de développer la maladie de Parkinson pour les patients atteints de diabète de type 2 (Cullinane *et al.*, 2023). L'incidence de la maladie augmente aussi lorsque plusieurs troubles du métabolisme sont présents de façon concomitante (Souza *et al.*, 2021). De plus, chez les personnes atteintes de la maladie présentant des troubles du métabolisme multiples, la progression de la maladie est plus rapide et l'âge de la mortalité diminue (Suh *et al.*, 2025).

Sur le plan histologique, la maladie de Parkinson se caractérise par une dégénérescence des neurones dopaminergiques de la *pars compacta* de la substance noire et du *locus coeruleus*, et par une accumulation de fer. La mort des neurones dopaminergiques peut se faire par apoptose, nécrose, mais aussi par ferroptose (Mahoney-Sanchez *et al.*, 2022). Un autre marqueur de la maladie de Parkinson est la présence intracellulaire de corps de Lewy, qui représentent une agrégation d' α -synucléine (**Figure 5**). La neurodégénérescence touche en premier lieu la voie nigro-striée, dans la plupart des cas, mais avec la progression de la maladie, d'autres circuits neuronaux seront impactés, notamment la voie mésocorticale, la voie mésolimbique et la voie tubéro-infundibulaire.

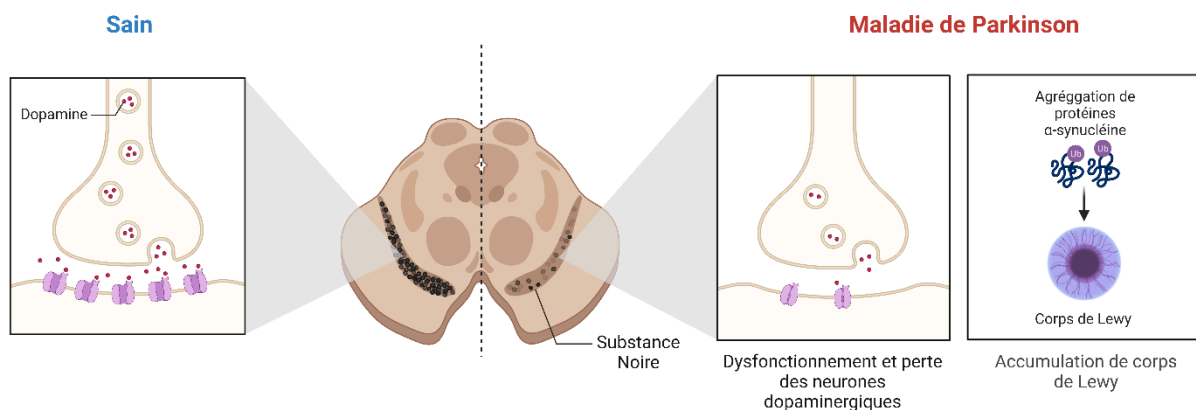


Figure 5 : Mécanismes d'action de la maladie de Parkinson
(adapté d'une illustration de la bibliothèque « Biorender Disease Mechanisms »).

Sur le plan clinique, cette maladie se caractérise par des symptômes moteurs, associés à des symptômes non moteurs, tels que la constipation, l'anxiété, la dépression, l'anosmie, la douleur, l'insomnie ainsi que la psychose et un déclin cognitif pouvant évoluer en démence (Fearnley and Lees, 1991). Les altérations cognitives induites par la maladie de Parkinson sont généralement des déficits des fonctions exécutives et visuospatiales, ainsi qu'une diminution

de l'attention (Sezgin *et al.*, 2019). Toutes les personnes atteintes de la maladie de Parkinson ne présentent pas tous ces symptômes dans la même temporalité ni la même intensité.

Une prise en charge rapide des symptômes parkinsoniens est nécessaire à la suite du diagnostic, étant donné qu'on évalue à 60 % la perte des neurones dopaminergiques au moment du diagnostic. Malgré l'absence de traitement curatif, la Lévodopa (ou L-DOPA), précurseur de la dopamine, est devenu un traitement symptomatique standard pour la maladie de Parkinson. Il existe d'autres formes de prise en charge thérapeutiques, comme la stimulation cérébrale profonde, qui sont cependant plus invasives et conseillées à une certaine typologie de patients (Ascherio and Schwarzschild, 2016; Hayes, 2019; Kalia and Lang, 2015). D'autres thérapies sont en cours de développement. Du fait de l'importance de la résistance à l'insuline dans les processus pathologiques induisant la maladie de Parkinson, le repositionnement de médicaments anti-diabétiques pour cette dernière fait actuellement le sujet de plusieurs essais cliniques. Des résultats favorables sur la prévention ou tout du moins le ralentissement du déclin cognitif chez les patients ont été observés (Nowell *et al.*, 2023).

C. CONTRIBUTIONS VASCULAIRES

L'appellation *Vascular Cognitive Impairment* (ou VCI) rassemble toutes les atteintes cognitives, du déclin cognitif à la démence, associées à des dysfonctionnements de la vascularisation cérébrale. Parmi ces derniers, on peut compter des événements « brutaux », tels que les accidents vasculaires cérébraux (AVC) et les micro-infarctus, mais aussi des pathologies cérébrales constitutives (Dichgans and Leys, 2017). Le terme VCI découle de celui, plus restreint, de démence vasculaire (*Vascular Dementia*, VaD). Le VCI est principalement associé à l'âge, et repose sur le fait qu'en vieillissant, l'unité neurogliovasculaire (UNGV), concept anatomique qui réunit les neurones, les cellules gliales et les vaisseaux, est plus sensible aux changements fonctionnels développés précédemment dans ce manuscrit, en particulier les dérégulations du fonctionnement neuronal, la neuroinflammation et le stress oxydant, qui entraînent une dérégulation du flux sanguin cérébral (Rundek *et al.*, 2022). La présence de maladies cardio-vasculaires et de troubles métaboliques sont des facteurs de risque importants pour le développement du VCI, en particulier l'hypertension (Fitzpatrick *et al.*, 2004). La maladie d'Alzheimer est elle aussi reconnue comme un facteur de risque du VCI

(Loeffler, 2021; Zhang *et al.*, 2019), puisqu'elle est associée à un risque plus élevé d'AVC et est responsable de 30% des cas de démence post-AVC (Jellinger and Attems, 2007).

AVC

L'AVC résulte de l'obstruction ou de la rupture d'un vaisseau sanguin cérébral. Dans le premier cas, on parle d'AVC ischémique, qui représente 80% des AVC, et dans le second, d'AVC hémorragique. Dans les deux cas, il peut provoquer des dommages irréversibles dans le cerveau et nécessite une prise en charge hospitalière urgente.

Avec un AVC toutes les 4 minutes en France, l'AVC représente la 1^{ère} cause de handicap acquis chez l'adulte et la 2^{ème} cause de mortalité (la 1^{ère} chez la femme), même si la mortalité tend à diminuer avec les nouvelles avancées en termes de prise en charge. Chez les survivants, 40% souffrent de séquelles graves : motrices, psychologiques ou cognitives (dossier de Puy & Cordonnier pour l'INSERM, 2019).

L'accélération du déclin cognitif est une conséquence bien connue de l'AVC, le risque de démence étant multiplié par 5 après un épisode, principalement chez les patients âgés. La causalité entre l'AVC et la survenue de la démence est bien décrite : un patient sur dix développe une démence après le premier épisode d'AVC et un sur trois après un second événement ou plus (Brainin *et al.*, 2015). Il est à noter que dans un cas sur dix, les patients étaient préalablement atteints d'une démence (diagnostiquée ou non). Les paramètres à prendre en compte dans le développement d'une démence post-AVC sont l'âge du patient, la localisation et le volume de la lésion, le degré de mort tissulaire associée et la présence de toute autre pathologie cérébrale pré-existante ou découlant de l'épisode.

Les troubles du métabolisme sont des facteurs de risque de survenue de l'AVC, notamment lorsque plusieurs troubles sont présents en même temps (Moghadam-Ahmadi *et al.*, 2023). Ils sont de plus des facteurs prédictifs de la récurrence des AVC, et de leur mortalité (Li *et al.*, 2017). Les troubles cognitifs post-AVC (ou *post-stroke cognitive impairment*, PSCI) ont une incidence plus élevée chez les patients présentant des altérations du métabolisme glucidique (Lee *et al.*, 2023) et une dyslipidémie (Li *et al.*, 2025).

Maladies constitutives : CSVD et CAA

Il existe plusieurs maladies cérébrovasculaires associées au VCI : on parle de maladies des petits vaisseaux (ou *cerebral small vessel disease*, CSVD). Les CSVD sont un ensemble de pathologies résultant de la détérioration de petits vaisseaux cérébraux, de leur rétrécissement ou de leur obstruction. Ces altérations peuvent être la conséquence de la neuroinflammation, ou encore de l'agrégation de lipides dans la paroi vasculaire, appelées plaques d'athérome. Elles ont pour conséquence de créer des ischémies localisées, ou micro-infarctus. Ces derniers se manifestent par des petites lésions de la matière blanche (généralement inférieures à 1mm) et sont diagnostiqués par l'observation de « lacunes », aussi appelées « *White Matter Hyperintensities* » (WMH), caractérisées par la présence de petites cavités à l'IRM (séquence T2), au niveau cortical et sous-cortical (**Figure 6**). Il est admis que la présence d'un ou deux micro-infarctus révèle en réalité la présence d'une centaine de lésions dans tout le cerveau (Deramecourt, 2013). La présence de lacunes est cependant courante et augmente avec le temps : ainsi leur prévalence passerait de 50% à 45 ans, à 95% à 80 ans (de Leeuw *et al.*, 2001; Wen *et al.*, 2009).

Le nombre de WMH est corrélé positivement à une aggravation du déclin cognitif (Au *et al.*, 2006; De Reuck *et al.*, 2014; Viswanathan *et al.*, 2007; Wright *et al.*, 2008). Chez les patients CSVD présentant des troubles du métabolisme multiples, le déclin cognitif est plus prononcé que chez les patients ne présentant pas de troubles du métabolisme (Gosalia *et al.*, 2024; Matic *et al.*, 2019).

Parmi les CSVD, il existe une artériopathie spécifique, parfois associée à la maladie d'Alzheimer, appelée angiopathie cérébrale amyloïde (ou CAA). Elle est caractérisée par des dépôts de protéines β -amyloïde dans les vaisseaux leptoméningés (Sharma, 2021), comme présenté en **Figure 6E-F**. La CAA survient principalement sous forme sporadique chez les personnes âgées, alors que des formes familiales rares surviennent chez des patients plus jeunes et conduisent généralement à des manifestations cliniques plus sévères. Cette maladie est maintenant reconnue comme étant une cause importante d'hémorragie intracérébrale (HIC) chez les personnes âgées, représentant jusqu'à 1/5^{ème} des HIC spontanées dans ce groupe démographique. L'hypothèse la plus répandue pour expliquer les dépôts de l'amyloïde- β à l'intérieur des vaisseaux repose sur un défaut d'élimination de ces protéines le long du

drainage vasculaire, associé à un défaut de clairance du système nerveux central au niveau du liquide interstitiel et à une production d'amyloïde- β par les neurones (Carare *et al.*, 2013). La CAA présente diverses manifestations cliniques, en fonction du type de lésions cérébrales présentes (micro-infarctus, microhémorragies, lésions de la substance blanche, *etc.*). La CAA est ainsi associée à une atrophie cérébrale et à un déclin cognitif, et ce en l'absence d'AVC symptomatique (Case *et al.*, 2016).

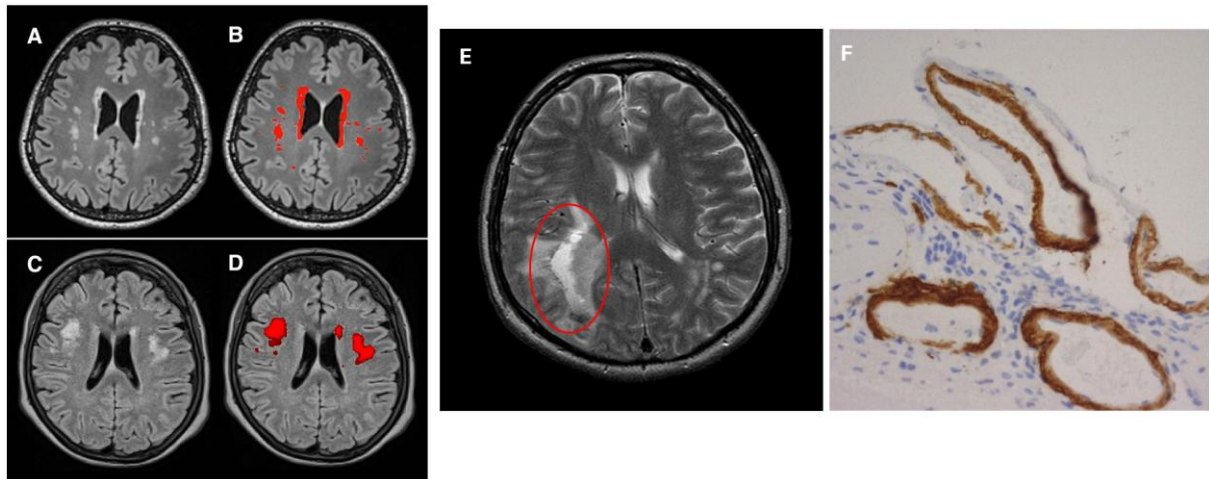


Figure 6 : Les différents marqueurs des CSVD. Exemples de WMH en vue axiale (IRM T2) après segmentation manuelle (A, B) ou automatisée (C, D). Hémorragie lobaire secondaire à une CAA en vue axiale (IRM T2, E). Infiltration de plaques amyloïdes au sein de la paroi des artères dans un cas de CAA, après marquage immunohistochimique (F). (Grosu *et al.*, 2021) et de <https://radiopaedia.org/articles/cerebral-amyloid-angiopathy-1>.

D. CONTRIBUTIONS METABOLIQUES

Dans la dernière édition du rapport de la commission du Lancet sur la démence (Livingston *et al.*, 2024), une étude de la fraction attribuable à la population (*population attributable fraction*, PAF) sur les facteurs de risque « modifiables » de la démence a été effectuée. Ce facteur permet de mettre en évidence le pourcentage de réduction du nombre de nouveaux cas de démence sur une période donnée, si un facteur de risque en particulier était complètement éliminé. L'hypercholestérolémie, le diabète de type 2, l'hypertension et l'obésité font partie des facteurs de risques retenus (**Figure 7**). Ces maladies métaboliques, qui sont aussi des facteurs de risque cardio-vasculaire, auraient donc un effet non négligeable sur la trajectoire du déclin cognitif, en particulier en milieu de vie.

Population attributable fraction of potentially modifiable risk factors for dementia

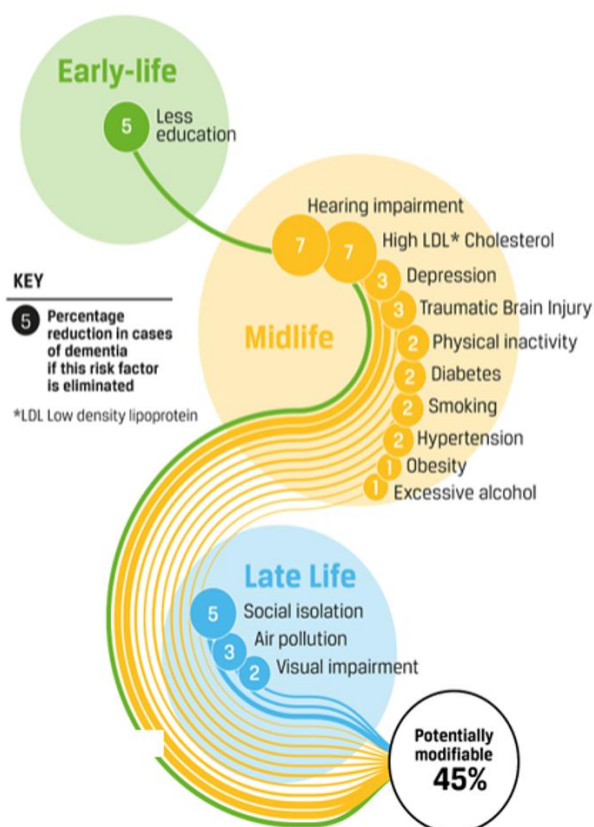


Figure 7 : Fractions attribuables à la population des facteurs de risque « modifiables » de la démence (issu de Livingston et al., 2024).

Syndrome métabolique

Le syndrome métabolique est une accumulation de plusieurs troubles du métabolisme, ce qui entraîne une augmentation du risque des maladies cardio-vasculaires, du diabète et d'AVC. Même si les valeurs de références peuvent varier, il est diagnostiqué quand au moins 3 des 5 facteurs suivants sont présents :

- Obésité viscérale (calculée grâce à la circonférence de la taille : 102 cm pour les hommes et 88 cm pour les femmes)
- Hypertension artérielle (140/90 mmHg ou plus au repos)
- Hyperglycémie (glycémie post-prandiale > 2 g/L ou glycémie à jeun $\geq$ 1,26 g/L)
- Hypertriglycémie ($\geq$ 150 mg/dL)
- Taux de cholestérol HDL trop bas ($\leq$ 40 mg/dL chez les hommes ou $\leq$ 50 mg/dL chez les femmes)

La survenue du syndrome métabolique est multifactorielle, associant l'impact de l'environnement, de l'alimentation et d'un mode de vie sédentaire, mais aussi des prédispositions génétiques. Son incidence est en constante augmentation et toucherait plus de 40 % des plus de 50 ans aux Etats-Unis.

Obésité

D'après l'OMS (2024), le surpoids et l'obésité sont définis comme une accumulation anormale ou excessive de masse grasse, ce qui présente un risque pour la santé (IMC ≥ 25 pour le surpoids, > 30 pour l'obésité). L'obésité concerne 17 % des adultes en France et 13 % dans le monde, avec une incidence plus élevée chez la femme. Le nombre de cas d'obésité a presque triplé depuis 1975, à tel point qu'on parle aujourd'hui d'épidémie. Cela peut être imputé à des changements dans les modes d'alimentation, notamment la consommation de repas industriels et/ou avec une plus grande densité énergétique. Additionnellement, les sociétés occidentales adoptent de plus en plus des modes de vie sédentaires, avec une réduction de l'activité physique. Ainsi, il y a un déséquilibre entre les dépenses énergétiques, qui sont trop faibles, et les apports, trop importants, résultant en cette accumulation de masses grasses.

En cas d'obésité, les adipocytes subissent un changement phénotypique dysfonctionnel et des cellules immunitaires infiltrant le tissu adipeux blanc (Hotamisligil, 2006). Les adipocytes inflammés sécrètent des cytokines pro-inflammatoires comme le TNF- α , l'IL-1 et l'IL-6, localement, ainsi que vers la circulation (Oliveros *et al.*, 2014). Cette sécrétion continue constitue une inflammation de bas grade. Ce processus est très énergivore pour l'organisme, par son maintien, mais aussi du fait des propriétés *leptin-like* des cytokines, qui promeuvent la dépense énergétique quand elles atteignent l'hypophyse (Wallenius *et al.*, 2002). L'inflammation de bas grade est encore plus présente dans le tissu adipeux viscéral car ce tissu contient plus de macrophages et ses adipocytes ont une plus grande capacité à l'hypertrophie (Altintas *et al.*, 2011).

A travers l'inflammation de bas grade qu'elle provoque, l'obésité va aussi être responsable de l'infiltration de lipides dans différents organes, à travers le stockage de lipides dans le cytosol de certaines cellules qui ne sont pas des adipocytes, sous la forme de gouttelettes lipidiques (Brok *et al.*, 2018). Quand ces gouttelettes lipidiques s'accumulent de façon anormale dans les macrophages, ces derniers changent de phénotype et deviennent des cellules spumeuses.

Dans les vaisseaux sanguins, les cellules spumeuses vont s'agréger dans la paroi de cellules musculaires lisses et s'organiser autour d'un cœur nécrotique riche en lipides, formant une plaque d'athérome (Moore *et al.*, 2013, **Figure 8**). L'accumulation de lésions d'athérome va induire une athérosclérose, qui est impliquée dans plusieurs maladies cardio-vasculaires, puisqu'elle induit une occlusion partielle de la circulation sanguine.

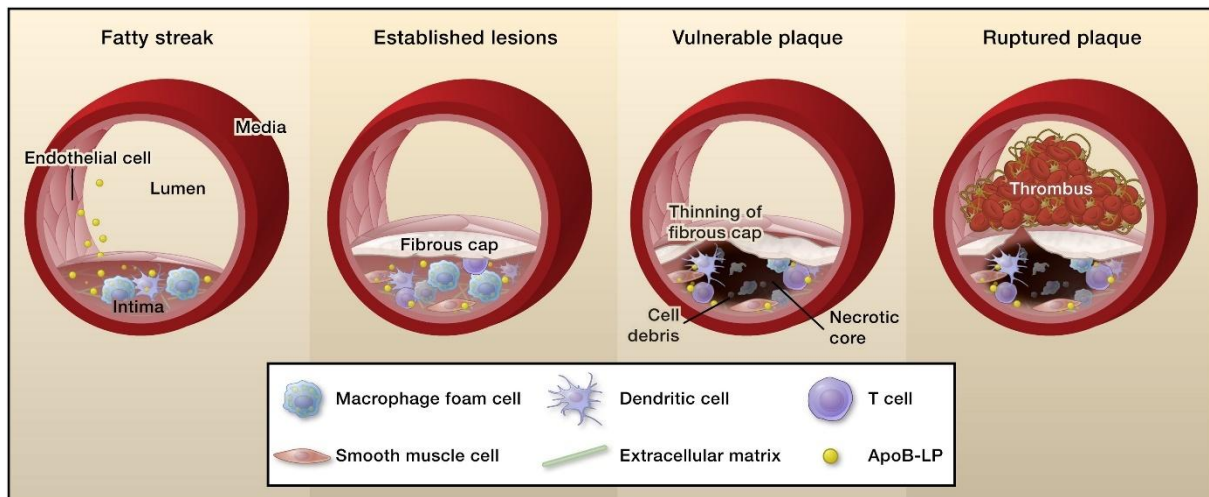


Figure 8 : Etapes de formation de plaques d'athérome (issu de Moore & Tabas, 2011).

De plus, le tissu adipeux a un rôle exocrine très important et contribue à la sécrétion d'hormones stéroïdes et en particulier d'œstrogènes (Li *et al.*, 2014). Ainsi, l'obésité va diminuer l'amplitude du pic de LH (hormone lutéale) ainsi que son taux moyen (Jain *et al.*, 2007). Elle est aussi responsable d'une dérégulation de l'axe hypothalamo-hypophysaire, ce qui peut conduire à une dysfonction ovarienne (Kawai *et al.*, 2021).

L'obésité est surtout néfaste par les complications qu'elle entraîne. En effet, elle est associée à 23% des cas de maladies cardio-vasculaires et à 44 % des cas de diabète de type 2, elle est aussi corrélée à la survenue de plusieurs cancers, en particulier les cancers des ovaires et de l'endomètre.

Hypertension artérielle

L'hypertension artérielle (HTA) correspond à une pression trop élevée dans les vaisseaux sanguins. Il s'agit de la maladie la plus courante en France, avec un adulte concerné sur 3, son incidence augmentant avec l'âge. Cette maladie, dite « silencieuse », car ne présentant pas de symptôme visible, n'est cependant pas anodine, car elle constitue l'une des principales causes

de complications cardiovasculaires, cérébrovasculaires ou neurodégénératives. En effet, l'HTA est responsable d'un épaissement et d'une rigidification progressive de la paroi des artères, ce qui fait de l'HTA le premier facteur de risque pour l'AVC. De plus, une pression sanguine constamment élevée va entraîner un surmenage du cœur, qui doit maintenir un débit sanguin normal, ce qui va conduire à un épaissement de la paroi du ventricule gauche et à une perte de sa contractilité. Ce phénomène, plus communément appelé hypertrophie ventriculaire gauche, conduit très souvent à une insuffisance cardiaque quand elle n'est pas maîtrisée. L'hypertension a d'autres comorbidités, pouvant induire des troubles de la vision, une dysfonction hépatique et une insuffisance rénale (Dossier de l'OMS, 2023).

En plus de l'âge, le surpoids, la sédentarité, une consommation élevée en sel, le tabac et l'alcool sont les facteurs de risque principaux pour l'HTA. Elle peut donc être réversée naturellement en changeant les habitudes de vie des patients. Cependant, il est aussi important de noter qu'elle peut aussi être associée à certaines maladies chroniques. Dans le cas où les mesures hygiéno-diététiques ne seraient pas efficaces, il existe cinq classes de traitements disponibles afin de rééquilibrer la tension artérielle, mais 10 à 30 % des sujets hypertendus n'y sont pas réceptifs. La recherche de traitements pour l'HTA résistante est donc au cœur de la recherche pharmacologique (INSERM, 2017).

Diabète de type 2

Le diabète est un trouble de l'assimilation, de l'utilisation et du stockage des sucres provenant de l'alimentation. Le diabète de type 2 (DT2), plus particulièrement, est associé à une mauvaise assimilation du glucose et une dérégulation de l'action de l'insuline, ce qui conduit à une hyperglycémie. Le DT2 va se manifester en deux temps : on observe d'abord un pré-diabète, au cours duquel l'hyperglycémie est liée à une intolérance au glucose (l'hyperglycémie systémique est constante, les organes n'assimilent pas le glucose en excès), qui pourra être compensée en partie par une surproduction d'insuline par les cellules β des îlots de Langerhans du pancréas. Sur le long terme, cette surproduction va avoir deux effets : l'insulinorésistance (l'insuline est produite en excès et ne permet plus de diminuer la glycémie) et l'insulinopénie (le pancréas ne peut plus produire l'insuline en quantité suffisante). Dans les deux cas, on parle alors de DT2 avéré, puisque l'hyperglycémie n'est plus contrôlée, même à distance des repas. Cette forme de diabète concerne 95 % des patients. Même s'il est

reconnu que la survenue du DT2 peut être associée à des facteurs génétiques, elle est le plus souvent causée par le surpoids et la sédentarité.

Les troubles du métabolisme du glucose impactent particulièrement les cellules endothéliales des vaisseaux sanguins qui sont à l'interface entre les organes et le sang circulant. On observe une dysfonction endothéliale associée à l'hyperglycémie, causée par l'accumulation de dérivés réactifs de l'oxygène (ROS) mais aussi aux produits de glycation avancée (Advanced Glycation End products ou AGEs). Les AGEs sont formés par la glycation des groupes amines de protéines endothéliales intracellulaires (Giardino *et al.*, 1994), ce qui va déréguler l'adhésion des cellules avec la membrane extra-cellulaire et peut même modifier les protéines plasmatiques (Figueroa *et al.*, 2014). La dysfonction endothéliale associée à l'hyperglycémie est à l'origine de plusieurs processus pathologiques, notamment une diminution de la vasodilatation dépendante de l'endothélium, liée à une diminution de la disponibilité d'agents vasodilatateurs produits par les cellules endothéliales (Shi and Vanhoutte, 2017; Wang *et al.*, 2012); une dérégulation de l'angiogenèse (Martin *et al.*, 2003) ; ainsi qu'une augmentation de la production de molécules inflammatoires (Clyne, 2021).

Les troubles du métabolisme peuvent-ils à eux seuls induire un déclin cognitif ?

Peu de liens concrets sont suggérés pour expliquer la relation entre le syndrome métabolique et le déclin cognitif : l'inflammation et la dysfonction endothéliale sont parfois mentionnées, mais il est intéressant de noter que ces deux facteurs sont dépendants de la circulation et des vaisseaux sanguins, qui font la continuité entre la périphérie et le système nerveux central.

Données cliniques

Le syndrome métabolique est à l'origine de nombreux travaux épidémiologiques. Le lien entre la présence de multiples troubles du métabolisme et le déclin cognitif est en réalité connu depuis maintenant près de 20 ans (Kivipelto *et al.*, 2006). La présence d'hypertension et d'obésité en milieu de vie semble être associée à une détérioration des performances des fonctions exécutives. De même, le diabète et le tabagisme sont associés à une atrophie cérébrale et hippocampique (Debette, 2013). La présence concomitante de plusieurs facteurs de risque cardio-vasculaires en milieu de vie est aussi associée à une augmentation du risque

de démence plus tard dans la vie (Francis and Stevenson, 2013; Whitmer *et al.*, 2005), avec une aggravation plus précoce et plus rapide du déclin cognitif (Ma *et al.*, 2020), **Figure 9**). Les fonctions cognitives altérées seraient l'attention, la vitesse de traitement de l'information, le langage, les fonctions exécutives, la mémoire de travail et la mémoire épisodique (Dik *et al.*, 2007; Raffaitin *et al.*, 2011; Roriz-Cruz *et al.*, 2007). Plusieurs cohortes ont montré que la prise en charge des troubles du métabolisme était bénéfique pour lutter contre le déclin cognitif, tant que cette prise en charge est réalisée suffisamment précocement (Yaffe *et al.*, 2021).

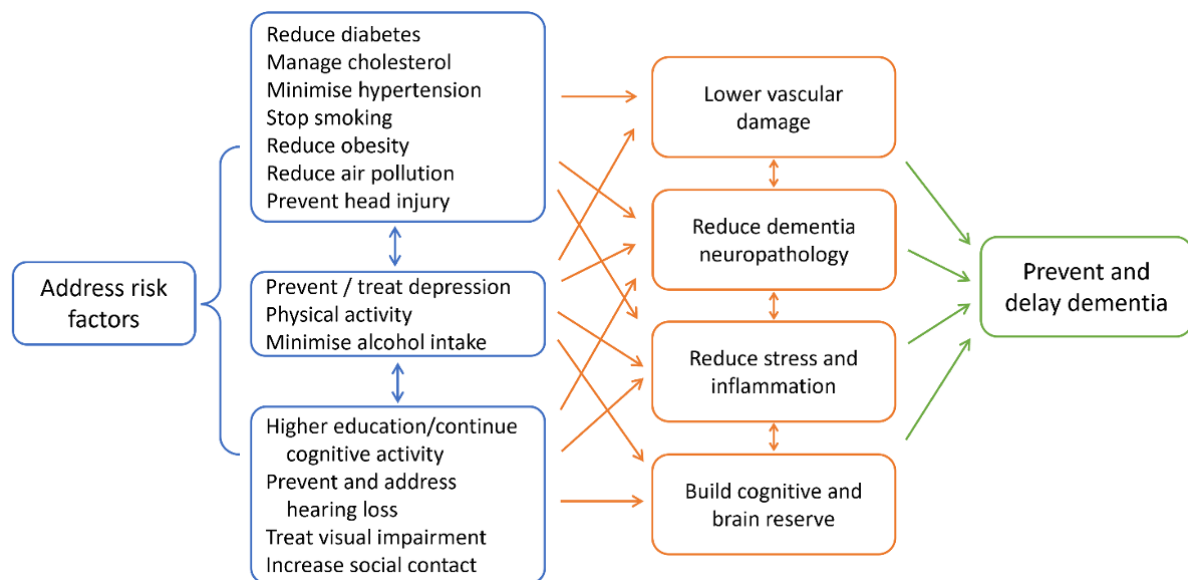


Figure 9 : Les effets supposés de la lutte contre les facteurs de risques de la démence (issu de Livingston *et al.*, 2024).

Modèles pré-cliniques

L'utilisation d'un modèle expérimental afin d'étudier le lien entre les troubles du métabolisme et le déclin cognitif est nécessaire afin de pouvoir utiliser des techniques invasives, incompatibles avec le soin des patients et sans attendre de devoir faire des études *post-mortem*. Dans la mesure où les troubles du métabolisme sont très fortement liés, le choix du modèle expérimental est une question non négligeable. Les modèles murins pré-cliniques sont les plus souvent utilisés, notamment les souris C57Bl6/J et les rats Sprague-Dawley ou Wistar.

MODELES GENETIQUEMENT MODIFIES

La bonne connaissance du génome murin a très vite permis le développement de modèles génétiquement modifiés, notamment pour la reproduction des troubles du métabolisme. Ces modèles sont très souvent utilisés, en particulier car ils permettent la mise en place rapide de ces maladies, et donc de réduire la durée des protocoles expérimentaux. En revanche, même si ces modèles permettent de mettre en évidence des mécanismes moléculaires à l'origine de certaines maladies métaboliques, ces mutations sont très rarement présentes chez l'Homme, ce qui en font des modèles d'étude physiopathologique moins translationnels.

Parmi les modèles génétiquement modifiés les plus utilisés pour de reproduire les troubles du métabolisme, on peut citer les rats *fa/fa* ou ZF (*Zucker Fatty*, Kava, Greenwood, & Johnson, 1990), ZDF (*Zucker Diabetic Fatty*), les souris *db/db* ou *ob/ob* (Shiota and Printz, 2012; Suriano *et al.*, 2021).



Figure 10 : Illustration de l'apparence d'une souris normale (OB/OB) et d'une souris portant la mutation *ob/ob* (issu de Erickson *et al.*, 1996).

L'utilisation de modèles reposant sur la mutation du gène de la leptine (*Ob*) ou de son récepteur (*Db*), a très bien été décrite dans la littérature (Wong *et al.*, 2016). La leptine est une hormone sécrétée par les adipocytes matures du tissu adipeux blanc. Son effet est décrit comme anorexigène, puisqu'elle diminue la prise alimentaire et augmente la dépense énergétique, en agissant au niveau des neurones du noyau arqué de l'hypothalamus (Heng *et al.*, 2022). Ainsi, on retrouve communément une hyperleptinémie, ainsi qu'une résistance à la

leptine chez les personnes en obésité (Lloret *et al.*, 2019). En effet, dans les modèles ob/ob et db/db, les voies intra-cellulaires normalement activées par la leptine ne le sont pas, du fait d'un défaut d'expression de la leptine (ob/ob) ou de son récepteur (db/db), provoquant une hyperphagie et une diminution de la dépense énergétique, et par conséquent leur obésité (**Figure 10**). En quelques semaines, ces animaux vont présenter des troubles cognitifs importants, ce qui a permis de mettre en évidence un lien entre l'hyperleptinémie chronique et la maladie d'Alzheimer (Bonda *et al.*, 2014).

MODELES INDUITS PHARMACOLOGIQUEMENT

L'enrichissement de l'alimentation des animaux avec des médicaments pouvant influencer le développement de perturbations métaboliques est aussi une méthode utilisée dans la littérature. Parmi les 4 classes de médicaments pouvant causer des maladies métaboliques (Scheen and Fève, 2022), les glucocorticoïdes sont particulièrement intéressants car il provoque un gain de poids, de l'intolérance au glucose et l'altération de l'homéostasie calcique, à l'origine de plusieurs troubles du métabolisme. Il existe aussi un modèle d'injection de Streptozotocine, qui va détruire les cellules β des îlots de Langerhans du pancréas, mais dont le phénotype est plus proche du diabète de type 1 (Wu and Yan, 2015).

MODELES BASES SUR L'ALIMENTATION

De façon similaire à l'Homme, la prise d'une alimentation riche en matières grasses et/ou en sucres peut induire le développement de troubles du métabolisme. L'ajout de fructose ou de graisses (animales ou végétales) est ainsi souvent retrouvé dans les modèles expérimentaux, seuls ou combinés (Wong *et al.*, 2016). Ces modèles sont très souvent utilisés car ils permettent une installation plus progressive des troubles du métabolisme que les modèles génétiques ou pharmacologiques.

Le fructose, naturellement retrouvé dans les fruits, est utilisé par l'industrie agro-alimentaire comme exhausteur de goût. Il est aujourd'hui consommé par l'homme de façon excessive par la globalisation des boissons artificielles et d'aliments sucrés transformés. L'utilisation d'un modèle « *High Fructose* » (10 % de fructose dans l'eau de boisson) pendant 8 semaines provoque une prise de poids, une accumulation de triglycérides et de cholestérol, de l'hyperglycémie et de l'hypertension chez des rats Wistar (Mahmoud and Elshazly, 2014). Dans le cas des régimes riches en sucrose - sucre composé d'une molécule de glucose et d'une

molécule de fructose - il a été mis en évidence que les effets obésogènes et hyperglycémiques induits étaient liés au fructose, comme une prise de poids importante, l'hyperglycémie et la résistance à l'insuline, mais aussi le stress oxydant (Wong *et al.*, 2016).

De nombreuses études ont utilisé des régimes où les graisses apportent entre 20 et 60 % de l'énergie totale. La source du composant gras est alors soit d'origine végétale (huile de maïs, de carthame...), soit d'origine animale (suif, saindoux de bœuf, graisse de volaille...). Ces régimes ont largement été utilisés pour induire l'obésité chez les animaux, mais ils favorisent également l'hyperglycémie, la résistance à l'insuline, la dyslipidémie et l'augmentation des acides gras libres dans le sang, soit indépendamment soit simultanément.

Il est intéressant de noter qu'il existe un dysmorphisme sexuel dans le développement des troubles du métabolisme : en effet, dans les modèles de souris, les femelles ont tendance à développer de façon moindre l'obésité, l'hyperglycémie, la dyslipidémie et l'hypertension, alors que ces maladies sont présentes chez leurs congénères mâles (Gallou-Kabani *et al.*, 2007; Halade *et al.*, 2010). La teneur et le type de gras, ainsi que la durée et l'âge de mise en place du régime sont aussi des éléments à prendre en considération avant de mettre en place ce type de modèle.

De nombreuses études ont montré que les régimes enrichis en fructose ou en graisses, en particulier les graisses d'origine animale, avaient des effets néfastes sur la cognition (Beilharz *et al.*, 2015; Farooqui *et al.*, 2012).

Choix de notre modèle d'étude

Afin de mieux comprendre comment sont associés les troubles du métabolisme et le déclin cognitif, notre équipe de recherche a développé un modèle murin basé sur des souris mâles C57Bl6/J, sous un régime enrichi en graisses animales (*High Fat Diet*, HFD), suivi sur une durée de 12 mois (Pétrault *et al.*, 2019). Une régression linéaire entre le poids corporel et le poids des masses adipeuses viscérales a permis de mettre en évidence une stratification des animaux en catégories de poids : les souris de poids normal, les souris en surpoids et les souris obèses. Après 6 mois de régime HFD, le poids corporel des souris est significativement augmenté, de telle sorte qu'un quart de ce groupe est obèse. Ces animaux présentent des troubles du métabolisme lipidique et glucidique, comme une hypercholestérolémie, une

stéatose hépatique, une augmentation significative de leur adiposité viscérale ; ainsi que des troubles du métabolisme lipidique, notamment une hyperglycémie à jeun et une intolérance au glucose. De plus, un déclin cognitif a été mis en évidence, portant sur la mémoire de reconnaissance visuelle à court terme, évaluée à l'aide du test de reconnaissance d'objet nouveau (NOR) et la flexibilité de la mémoire, évaluée lors de la seconde semaine du test du labyrinthe de Barnes (**Figure 11A-B**). Au même temps d'étude, une dysfonction de la dilatation des artéioles intra-parenchymateuses et piales est observée suite à l'application de carbachol chez les souris HFD (**Figure 11C-E**).

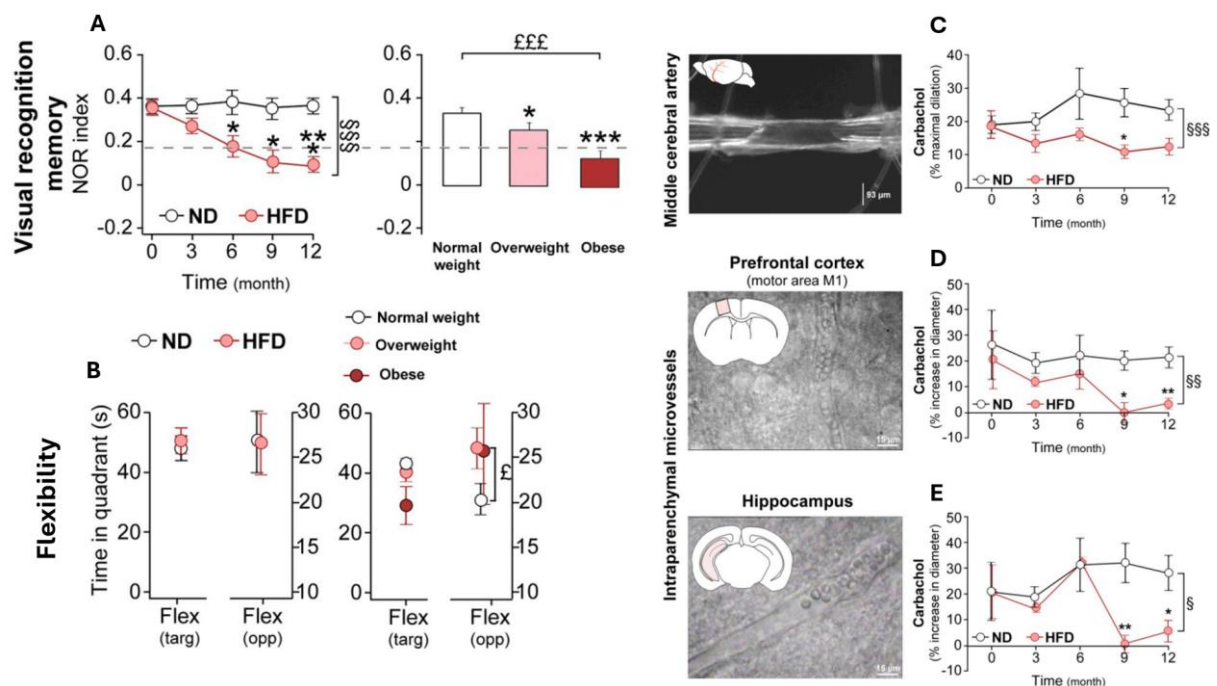


Figure 11 : Altérations cognitives et cérébrovasculaires observées dans notre modèle (issu de Pétrault et al., 2019). A. La mémoire de reconnaissance visuelle a été évaluée à l'aide du NOR. La ligne en pointillés représente une diminution de 50 % de cette fonction cognitive. B. La flexibilité de la mémoire a été évaluée lors de la seconde semaine du Labyrinthe de Barnes. La figure représente le temps passé dans le quadrant cible (targ) et dans le quadrant opposé (opp). Pour A et B, les résultats sont exprimés en fonction du régime (à gauche) et des catégories de poids (à droite). C. La vasoréactivité de l'artère cérébrale moyenne a été évaluée grâce à l'artériographie d'Halpern, suite à l'application de carbachol 0,1 μ M. D et E. La vasoréactivité des artéioles intra-parenchymateuses a été évaluée de façon similaire dans le cortex pré-frontal (D) et l'hippocampe (E). Les données sont exprimées en moyenne $\pm$ S.E.M. L'analyse statistique a été faite avec une ANOVA à deux facteurs : $\$ \$ \$ p < 0,01$, $\$ \$ p < 0,01$, $\$ p < 0,05$ pour l'effet du régime, ainsi qu'avec une ANOVA à un facteur : $\text{fff} p < 0,001$ et $\text{fp} < 0,05$ pour l'effet de la prise de poids. L'analyse *post-hoc* de Tukey a été réalisée : * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ pour la comparaison ND .vs HFD et pour la comparaison avec la catégorie « Poids standard ».

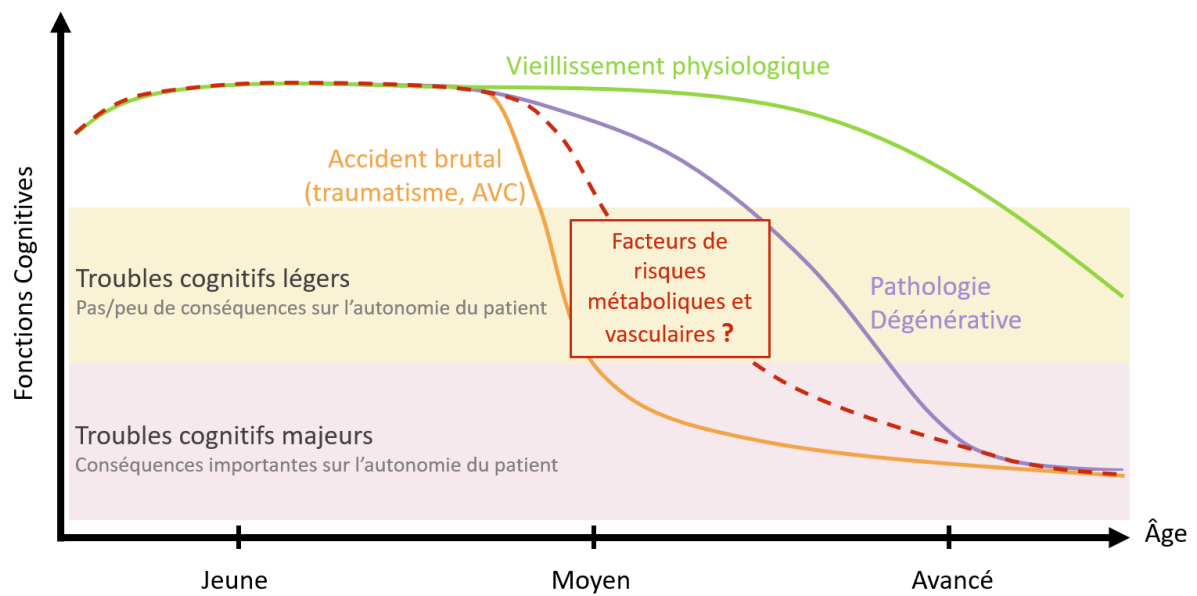


Figure 12 : Evolution des fonctions cognitives au cours du temps, sur la base d'un vieillissement physiologique (en vert), puis à la suite d'un évènement brutal (en orange), pendant une pathologie progressive (en violet) ou en présence de facteurs de risques vasculaires et métaboliques (*adapté de Leys et al., 2017*).

DECLIN COGNITIF

Le déclin cognitif, véritable enjeu de santé publique, s'accroît physiologiquement avec l'âge. En raison du vieillissement, de nombreux changements moléculaires et cellulaires s'opèrent dans le cerveau. Ces derniers peuvent être aggravés par des protéinopathies, dans le cas des maladies neurodégénératives, d'événements « brutaux », comme l'AVC, mais aussi du fait de la présence de facteurs de risques dits « modifiables », sur lesquels on peut intervenir avant que le déclin cognitif ne devienne pathologique. Les troubles du métabolisme constituent une part importante de ces facteurs de risques.

Ces maladies sont considérées comme des facteurs de risques « modifiables » : en effet, elles sont associées à une mauvaise hygiène de vie. Ainsi, la mise en place de mesures hygiéno-diététiques comme la perte de poids, la pratique d'une activité physique régulière adaptée et un régime alimentaire équilibré sont souvent les initiatives thérapeutiques de première intention afin de résoudre ces troubles du métabolisme et prévenir une accélération pathologique du déclin cognitif (**Figure 12**).

Les modèles pré-cliniques modifiant le régime alimentaire pourraient permettre de mieux comprendre en quoi des maladies métaboliques périphériques peuvent altérer le fonctionnement cérébral. Un autre argument est la pertinence de ces modèles pour la mise en place de points de surveillance de la population. Dans notre modèle, nous avons retrouvé à M6 un syndrome métabolique, un déclin cognitif, ainsi qu'une dysfonction de la dilatation des artérioles intra-parenchymateuses et des artères piales. L'absence de signes indiquant une rupture de la barrière hémato-encéphalique (BHE) et d'atrophie cérébrale écarte l'hypothèse d'accidents vasculaires cérébraux et de neurodégénération. L'hypothèse retenue pour expliquer le lien entre toutes ces manifestations cliniques suggère la présence d'un découplage neuroglivascular. L'unité neuroglivascular fait la jonction entre la circulation sanguine périphérique et le système nerveux central. Elle peut donc constituer l'élément central des liens entre les troubles du métabolisme et le déclin cognitif.

II - ORGANISATION DE L'UNITÉ NEUROGLIOVASCULAIRE

L'unité neurogliovasculaire est un concept anatomique qui a pu être défini grâce aux différentes avancées technologiques, de la coloration au nitrate d'argent de Camillo Golgi et de Santiago Ramón y Cajal, aux techniques d'imagerie modernes. On lui reconnaît aujourd'hui une complexité extraordinaire puisqu'il existe une coopération fonctionnelle entre tous ses protagonistes, indispensable au bon fonctionnement du cerveau. L'unité neurogliovasculaire est composée des neurones, de cellules gliales particulières appelées astrocytes, et des vaisseaux sanguins (**Figure 13**).

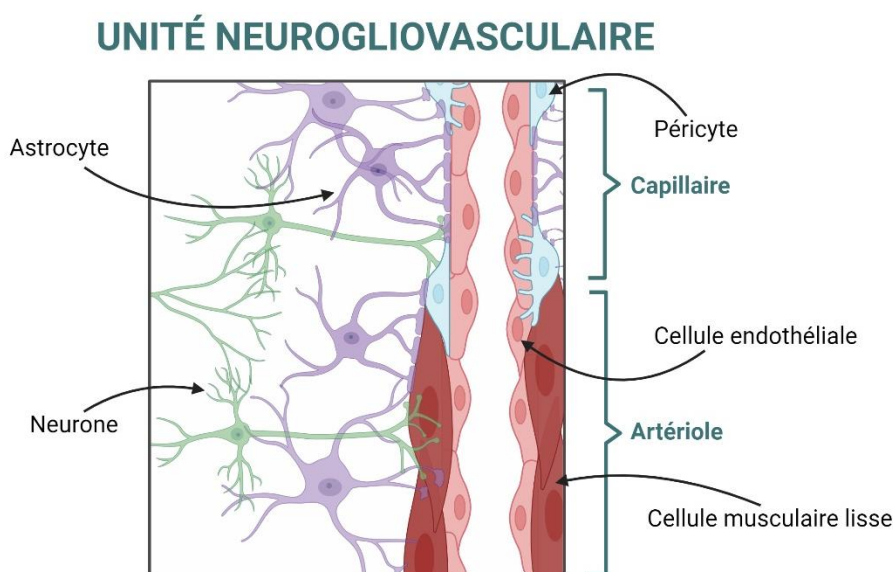


Figure 13 : L'unité neurogliovasculaire et ses principaux acteurs.

1. NEURONES

A. DEFINITION

Les neurones sont les unités fondamentales du système nerveux central (SNC). Les neurones (**Figure 14A-B**) sont des cellules électriquement excitables, spécialisées dans le traitement, la réception et la transmission des informations vers d'autres cellules du système nerveux. On estime que le cerveau humain est composé d'environ cent milliards de neurones. Les neurones sont constitués de trois parties : le corps cellulaire, l'axone et les dendrites (**Figure 14C**).

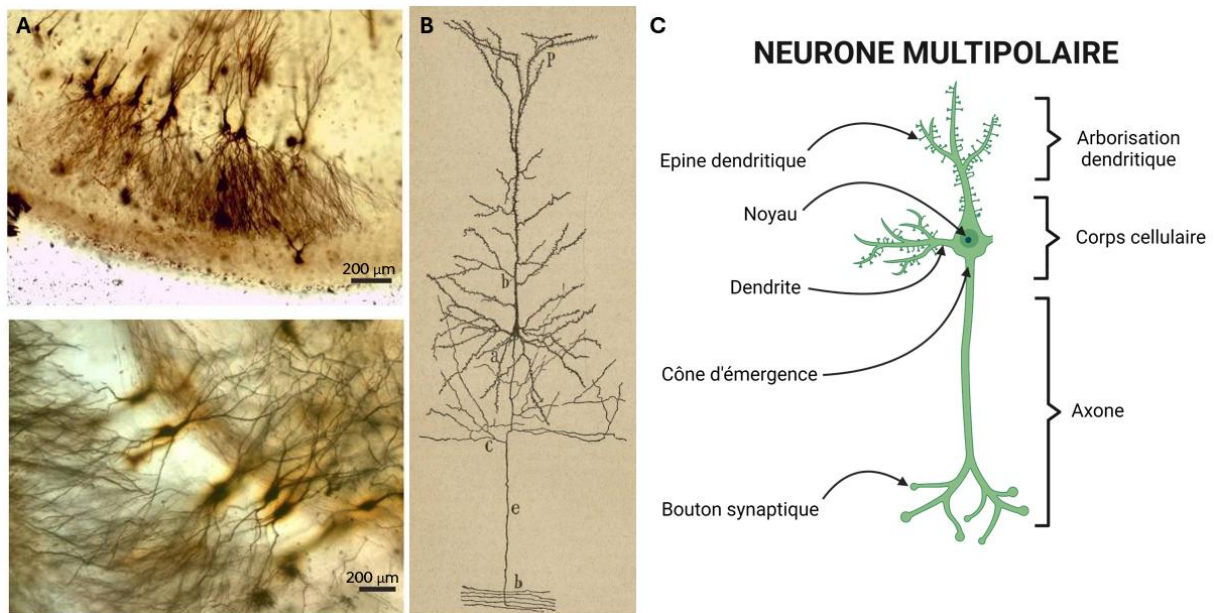


Figure 14 : Le neurone. **A.** Neurone de la corne d'Ammon. Coupes de cerveau de lapin imprégnées de coloration de Golgi, issues de « pes Hippocampi major », adapté de Bentivoglio *et al.*, 2019. **B.** Représentation d'un neurone pyramidal de lapin par Ramón y Cajal, adapté de "Textura del sistema nervioso del hombre y de los vertebrados », 1899, p.48. **C.** Schéma représentant les différentes parties composant un neurone multipolaire.

B. NEUROTRANSMISSION

Propriétés électriques

En 1791, Luigi Galvani a montré que la communication des informations, au sein du système nerveux, reposait sur des impulsions électriques. Plus tard, il a été montré que les neurones sont des cellules capables d'électrogénèse, c'est-à-dire de générer un courant électrique. De plus, ils sont excitables électriquement. Lors de l'excitation neuronale, cette différence de potentiel va diminuer (phénomène appelé dépolarisation), jusqu'à atteindre un seuil qui va déclencher un potentiel d'action. Le potentiel d'action est une variation transitoire (quelques millisecondes) du potentiel de membrane du neurone.

Le potentiel d'action va se propager tout au long de l'axone. Pour les axones myélinisés, l'axone est recouvert d'une gaine de myéline, qui correspond à l'enroulement de cellules gliales spécialisées, les oligodendrocytes (dans le SNC) ou les cellules de Schwann (dans le SNP). Cet enroulement forme une surface membranaire épaisse, appelée manchon. Les manchons sont séparés par un espace dénué d'oligodendrocyte, appelé nœud de Ranvier. Sur les axones myélinisés, le potentiel d'action va donc se propager de nœud de Ranvier en nœud

de Ranvier, on parle de propagation régénérative du potentiel d'action, plus communément appelée propagation saltatoire. La propagation du potentiel d'action se fait différemment pour les axones non myélinisés : de proche en proche, ou propagation électrotonique.

Neurotransmetteurs

La neurotransmission est le phénomène par lequel l'information électrique, conduite par les potentiels d'action d'un premier neurone, dit pré-synaptique, va être transmise à une autre cellule, dite post-synaptique. L'espace de communication entre ces cellules est appelée la synapse. Il existe deux types de synapses, la plus courante étant la synapse chimique, pour laquelle l'intermédiaire est un neurotransmetteur. Ces intermédiaires sont nécessaires, dans la mesure où, il existe, dans les synapses chimiques, un espace de quelques nanomètres entre les expansions neuronales et la cellule post-synaptique, qui ne permet pas une continuité de la conduction électrique. Dans le second type de synapse, dites électriques, les neurones pré- et post-synaptiques sont directement liés par des jonctions GAP, qui permettent au courant électrique de passer directement d'un neurone à l'autre, sans intermédiaire. Chaque neurone peut former jusqu'à 100 000 synapses, soit avec d'autres neurones, soit avec d'autres types cellulaires (astrocytes, cellules glandulaires ou cellules musculaires).

FONCTIONNEMENT DE LA SYNAPSE CHIMIQUE

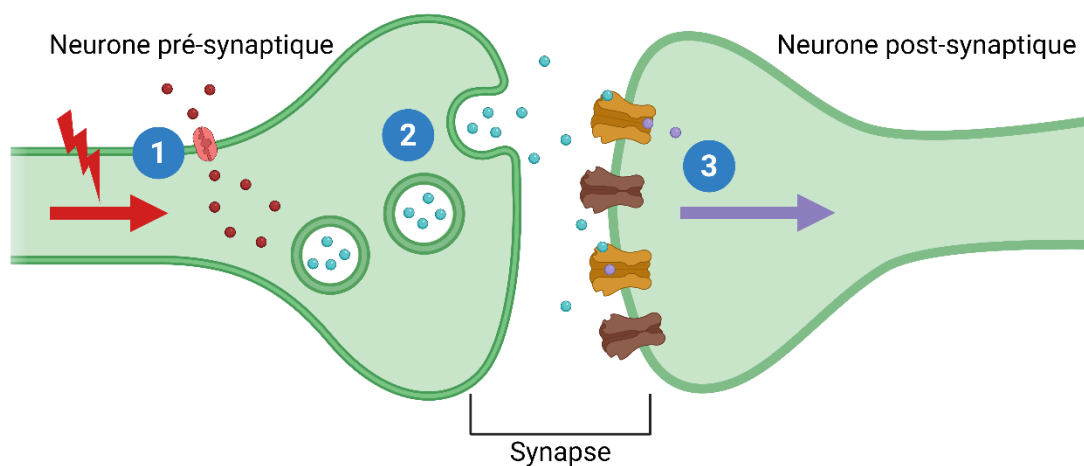


Figure 15 : Fonctionnement d'une synapse chimique. 1. A l'arrivée d'un potentiel d'action, il y a une entrée de calcium dans l'expansion pré-synaptique. 2. Le gradient de calcium déclenche l'exocytose de vésicules, libérant les neurotransmetteurs dans la synapse. 3. Ces

neurotransmetteurs sont captés par des récepteurs spécifiques, à la membrane de l'élément post-synaptique, ce qui déclenche une cascade intra-cellulaire qui sera intégrée par le soma.

Comme montré en **Figure 15**, lors de l'arrivée d'un potentiel d'action, une forte augmentation de la concentration en calcium dans le bouton pré-synaptique provoque l'exocytose de vésicules contenant le neurotransmetteur, qui va être libéré dans la fente synaptique puis capté au niveau du neurone post-synaptique par des récepteurs spécifiques, déterminant ainsi le type de réponse.

Selon la loi de Dale, on ne retrouve dans un neurone qu'un seul neurotransmetteur, dit « classique ». Différents types de molécules jouent un rôle dans la neurotransmission et sont classés en fonction de leur structure chimique, comme décrit dans le **Tableau 1**.

Tableau 1 : Classification des neurotransmetteurs.

Neurotransmetteurs classiques				Neuropeptides	Autres
Acides aminés		Amines biogènes			
Excitateurs	Inhibiteurs	Catécholamines	Indolamines		
Glutamate	Acide γ-aminobutyrique (GABA)	Dopamine	Sérotinine	Substance P	Lipides endogènes (cannabinoïdes)
Acétyl choline	Glycine	Noradrénaline	Histamine	Endorphines, Enképhalines	Gaz (NO, CO)
		Adrénaline		Neuropeptide Y	Purines (adénosine, ATP, GTP)
				Neurohormones (cortisol, mélatonine, hormones sexuelles)	

On considère que 60 à 80% des neurones du cerveau humain expriment et libèrent soit l'acide γ-aminobutyrique (GABA), soit le glutamate. Cette proportion augmente d'autant plus dans le cortex préfrontal, où les neurones sont majoritairement glutamatergiques, excitateurs, ou GABAergiques, interneurones inhibiteurs.

C. VASOREACTIVITE

Les neurones ont un rôle d'initiation dans la régulation du flux sanguin cérébral, puisqu'ils sécrètent des signaux vasoactifs dirigés directement ou indirectement vers les vaisseaux sanguins (Attwell *et al.*, 2010; Filosa *et al.*, 2006; Mishra *et al.*, 2016). En effet, au moment de l'activité neuronale, plusieurs molécules peuvent être libérées, notamment un neurotransmetteur : le glutamate. Le glutamate agit sur les neurones par l'intermédiaire de récepteurs ionotropiques (NMDA et AMPA), permettant la production rapide de molécules vasodilatatrices ; mais il agit aussi indirectement à travers les astrocytes suite à sa fixation à des récepteurs métabotropiques (mGluRs) ou à des transporteurs EAAT1/2 ([voir p. 80-86](#)). L'activité neuronale va aussi conduire à la production d'adénosine, sous forme d'ATP ou d'ADP, qui ont aussi une action vasodilatatrice suite à leur fixation à des récepteurs purinergiques astrocytaux ([voir p. 79-80](#)) ; de même que le potassium (K⁺), dont la concentration extra-cellulaire augmente à la suite des potentiels d'action, ce qui va agir sur l'endothélium des vaisseaux sanguins ([voir p. 77-79](#)).

Les molécules vasoactives produites par les neurones dépendent de leur type cellulaire. La stimulation de vibrisses a permis d'induire une augmentation du flux sanguin dans le cortex somato-sensoriel, qui était associée à la production de PGE₂ par les neurones pyramidaux thalamiques (Lecrux *et al.*, 2011), mais ce fonctionnement a aussi été observée dans le cortex pré-frontal (Lacroix *et al.*, 2015) et dans l'hippocampe. L'activation du cortex somatosensoriel active aussi des interneurones (Lecrux *et al.*, 2011). En fonction de leur type, les interneurones produisent des vasomodulateurs qui peuvent être soit vasoconstricteurs, comme le NPY ; ou vasodilatateurs, comme le NO ou le VIP (Cauli *et al.*, 2004). Les interneurones agissent aussi sur la vasoréactivité à travers leur production de GABA, par l'intermédiaire des GABAR astrocytaires (Lia *et al.*, 2019).

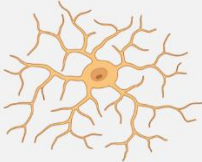
2. CELLULES GLIALES

Les cellules gliales tirent leur nom du grec « γλία » (*glia*), qui signifie « colle ». Ce sont en effet les cellules de soutien du système nerveux, puisqu'elles permettent de créer un réseau cohésif de neurones. Elles ont cependant d'autres rôles primordiaux pour le bon fonctionnement cérébral, sur le plan du métabolisme et du maintien de l'homéostasie, de l'immunité, de la

neurotransmission. Elles participent de plus à la formation de la barrière hémato-encéphalique (BHE), ce qui traduit un rôle dans la protection du système nerveux central et leur permet de participer au couplage neurogliovasculaire.

On estime qu'il y a environ 87 milliards de cellules gliales dans le cerveau humain, ce qui s'approche du nombre de neurones (Herculano-Houzel, 2014). Ce sont des cellules à forte fréquence mitotique, cependant leur production *de novo* est aussi hautement régulée, notamment en association avec diverses morts cellulaires (apoptose, ferroptose, etc.). Dans le système nerveux humain, on retrouve quatre types de cellules gliales aux fonctions spécialisées (**Tableau 2**).

Tableau 2 : Récapitulatif des différentes cellules gliales et de leurs fonctions.

Type cellulaire	Morphologie	Fonctions
Oligodendrocyte		• Formation de la gaine de myéline • Maintien des axones
Ependymocyte		• Sécrétion du liquide cébro-spinal
Microglie		• Réponse immunitaire
Astrocyte		• Formation et maintien de la BHE • Intermédiaire métabolique pour les neurones • Neurotransmission • Régulation du flux sanguin cérébral

A. OLIGODENDROCYTES

Les oligodendrocytes sont des cellules gliales qui présentent peu de prolongements, qui vont s'enrouler autour des faisceaux axonaux, en formant la gaine de myéline pour les isoler électriquement. La gaine de myéline permet la conduction saltatoire des signaux électriques, et donc une vitesse de conduction plus élevée. Elle participe aussi au développement des faisceaux axonaux et à la maintenance des axones.

Les oligodendrocytes ont des équivalents dans le système nerveux périphérique (SNP), appelées cellules de Schwann.

B. EPENDYMOCYTES

Les épendymocytes sont des cellules qui tapissent les ventricules du cerveau. Ces cellules sécrètent, font circuler et maintiennent l'intégrité du liquide cérébro-spinal. Elles côtoient des cellules souches neurales au sein de l'épithélium de la zone sous-ventriculaire (ZSV, (Fratini *et al.*, 2015). Les épendymocytes ont aussi la capacité de se différencier en astrocytes en cas de lésion de la moelle épinière (Meletis *et al.*, 2008).

C. MICROGLIE

Les cellules microgliales sont des cellules polymorphes et mobiles, d'origine hématopoïétique (Legendre and Le Corronc, 2014; McKercher *et al.*, 1996). Ce sont les cellules de l'immunité innée du cerveau. Elles constituent la première réponse cellulaire face à l'infiltration des agents pathogènes ou toxiques. En conditions physiologiques, les cellules microgliales possèdent un très petit corps cellulaire, mais une dense arborisation de prolongements qui leur permettent de « surveiller » leur microenvironnement (Nimmerjahn *et al.*, 2005). Lorsqu'elles détectent un agent pathogène ou lésionnel à proximité, elles vont s'activer, ce qui résultera en des changements moléculaires et morphologiques : leur corps cellulaire va devenir plus grand et rond, et leurs ramifications plus courtes et moins nombreuses (Hanisch and Kettenmann, 2007). Sous cette forme amiboïde, la microglie peut se déplacer vers la cible et est capable de phagocytose et de libérer des molécules pro- et anti-inflammatoires. Ainsi, les cellules microgliales sont considérées comme les macrophages résidents du SNC.

La microglie communique avec les neurones et les astrocytes (Kettenmann *et al.*, 2011; Tremblay *et al.*, 2010) et peut jouer un rôle dans l'activité synaptique en sécrétant des molécules de la neurotransmission (Császár *et al.*, 2022; Czapski and Strosznajder, 2021; Pascual *et al.*, 2012). La dysfonction de la microglie est impliquée dans plusieurs pathologies neurologiques, notamment la maladie d'Alzheimer (Huang *et al.*, 2023) et la sclérose en plaques (Guerrero and Sicotte, 2020).

D. ASTROCYTES

Les astrocytes (du grec, « ἄστρον » (*astro*) = étoile, et « κύτος » (*cyte*) = cellule), sont des cellules gliales en forme d'étoile, dont le réseau forme une structure de soutien du système nerveux central. Leurs nombreux prolongements leur permettent d'établir des contacts entre

eux, ainsi qu'avec d'autres structures comme les vaisseaux sanguins (*glia limitans perivascularis*) ou la pie-mère (*glia limitans superficialis*), créant ainsi un maillage maintenant les neurones en place.



Figure 16 : Image en microscopie électronique de pieds astrocytaires (en rouge) entourant les vaisseaux sanguins.

Les pieds astrocytaires, terminaisons de leurs prolongements, recouvrent la quasi-entière de la surface externe des vaisseaux sanguins cérébraux intra-parenchymateux (**Figure 16**), en s'apposant à leur matrice extra-cellulaire (Filosa and Iddings, 2013). Cette organisation se développe au cours de la prolifération astrocytaire (pendant la période péri-natale chez l'humain et post-natale chez les rongeurs), de façon concomitante avec la complexification de l'arborisation vasculaire (Marín-Padilla, 2012; Zhao *et al.*, 2015). Plusieurs études pré-cliniques ont d'ailleurs montré que la prolifération astrocytaire et l'angiogenèse sont inter-dépendantes (Ma *et al.*, 2012; O'Sullivan *et al.*, 2017). Cette structure représente la barrière hémato-encéphalique (**Figure 17**). Outre leur action de protection et leur rôle métabolique dans le SNC, les astrocytes ont aussi des fonctions essentielles dans le fonctionnement cérébral, à savoir, dans la neurotransmission, la vasomotricité et la neuroinflammation.

A BARRIÈRE HEMATO-ENCEPHALIQUE

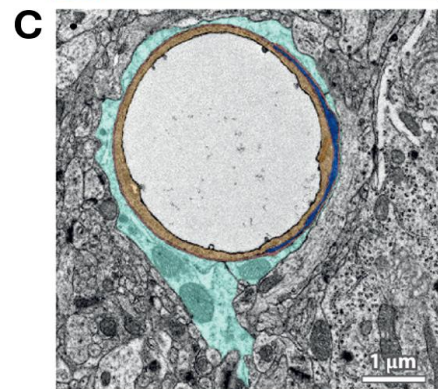
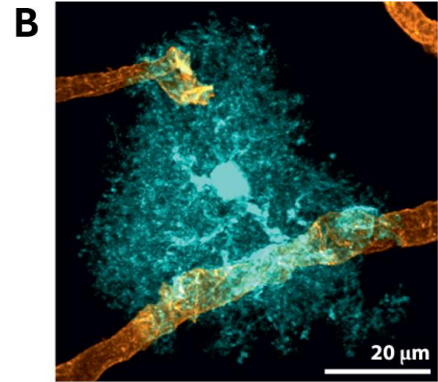
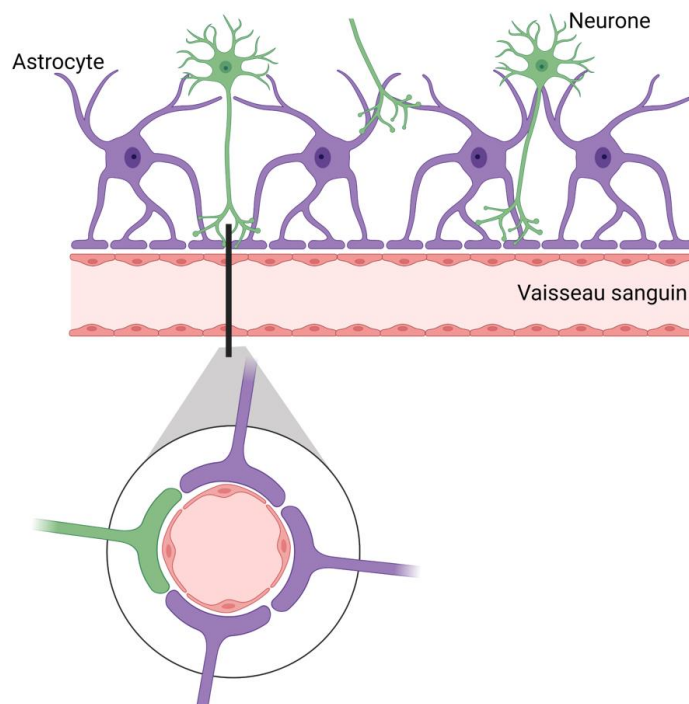


Figure 17 : La barrière hémato-encéphalique. A. Les pieds astrocytaires entourent la quasi-totalité de la surface externe des vaisseaux sanguins, les neurones ayant aussi quelques contacts directs avec les vaisseaux. B. Image confocale d'un astrocyte (en bleu clair) interagissant avec des capillaires (en orange). C. Section d'un capillaire cérébral obtenue en microscopie électronique en transmission. L'astrocyte (en bleu clair), s'entoure autour du vaisseau. B et C sont issues de (Escartin *et al.*, 2021; Poulot-Becq-Giraudon *et al.*, 2022 ; Díaz-Castro *et al.*, 2023).

Rôle dans la neurotransmission

Les pieds astrocytaires, apposés au niveau des terminaisons neuronales pré- et post-synaptiques, sont appelés éléments extra-synaptiques : on parle ainsi de synapses tripartites (Araque *et al.*, 1999). Les astrocytes contribuent ainsi à l'activité de la synapse, de façon indirecte, par la synthèse et la recapture de certains neurotransmetteurs, comme le glutamate et le GABA. Ils participent aussi de façon directe à la neurotransmission synaptique, puisqu'ils présentent à leur surface des récepteurs spécifiques et sont capables de produire des neurotransmetteurs pré-synaptiques comme le glutamate et le GABA, ou d'autres agonistes, appelés gliotransmetteurs, comme l'ATP (Adénosine Triphosphate), le lactate ou la D-Sérine (Noriega-Prieto and Araque, 2021; Perea *et al.*, 2009; Pérez-Alvarez and Araque, 2013; Scofield, 2018).

Fonction vasomotrice

Le rôle des astrocytes dans la vasoréactivité cérébrale a été mise au jour suite aux travaux de Zonta et collaborateurs en 2003, qui ont montré le rôle essentiel de l'augmentation de la concentration intra-cellulaire en Ca^{2+} suite à l'activation de récepteurs métabotropiques au glutamate (mGluRs) de type I astrocytaux (Zonta *et al.*, 2003a) ainsi que l'implication de l'activité d'une enzyme astrocytaire : la cyclooxygénase de type I (COX I) (Zonta *et al.*, 2003b), dans la vasodilatation.

D'autres équipes ont plus tard mis en évidence que l'activation astrocytaire avait tendance à induire au contraire une vasoconstriction (Metea and Newman, 2006), posant la base d'une première controverse dans l'implication des astrocytes dans la vasoréactivité cérébrale. Aujourd'hui, après une multitude de travaux et de modèles expérimentaux, il est supposé qu'*in vivo*, les astrocytes ont tendance à induire une vasodilatation des microvaisseaux cérébraux dans des conditions physiologiques (Takano *et al.*, 2006). En revanche, des altérations mécaniques, telles qu'une diminution du tonus myogénique, ou métaboliques, comme une augmentation de l'oxygénation, vont avoir tendance à favoriser l'induction d'une vasoconstriction. L'oxygénation a en effet un rôle prépondérant dans l'équilibre des réactions enzymatiques de COX I, et une diminution de celle-ci peut modifier les métabolites qui résultent de son activation (Gordon *et al.*, 2011).

L'implication des astrocytes dans la vasoréactivité cérébrale a plus tard été remise en question du fait de l'implication des mGluRs et de la durée de latence de réponse astrocytaire, suite à l'activation neuronale (Cauli and Hamel, 2018; Lia *et al.*, 2023). D'abord, il semblerait qu'à l'âge adulte, les mammifères n'expriment plus les mGluR de type I (Sun *et al.*, 2013). De plus, l'application d'un antagoniste spécifique de mGluR5 n'a pas altéré le couplage neuroglivascular (Calcinaghi *et al.*, 2011). Il a été mis en évidence que des mGluR de type II sont exprimés à l'âge adulte et qu'ils permettraient d'augmenter la concentration intra-cellulaire en Ca^{2+} , aboutissant à une vasodilatation (Pاناتier and Robitaille, 2016). Cependant, l'activation des récepteurs métabotropiques, qui, puisqu'ils sont couplés à une protéine G, est allongée, ce qui ne correspond pas aux réponses vasoactives observées *in vivo* (Nizar *et al.*, 2013). Ces récepteurs pourraient donc intervenir dans le maintien de la réponse vasoactive, mais pas dans son initiation.

De plus, l'importance de l'augmentation intracellulaire astrocytaire en Ca^{2+} , suite à l'activation de récepteurs métabotropiques ne fait pas non plus l'unanimité au sein de la communauté scientifique. Effectivement, on observe toujours une augmentation du flux sanguin cérébral, suite à une stimulation somatosensorielle chez des souris $\text{IP}_3\text{R}_2\text{-KO}$ (Nizar *et al.*, 2013; Takata *et al.*, 2013) et plus récemment après une stimulation optogénétique astrocytaire dans ce même modèle (Vittani *et al.*, 2025). Or, ce récepteur serait la seule source d'augmentation du calcium cytosolique chez les astrocytes, suite à l'activation de mGluRs, la suppression de ce récepteur entraînerait donc l'abolition totale d'une augmentation de la concentration calcique astrocytaire. Il s'avère cependant que des signaux calciques résiduels pourraient être observés chez des souris $\text{IP}_3\text{R}_2\text{-KO}$, grâce à des indicateurs de calcium génétiquement encodés, spécifiquement dans les processus et les pieds astrocytaires (Del Franco *et al.*, 2022; Okubo *et al.*, 2019; Srinivasan *et al.*, 2015), où est exprimée COX I, notamment.

De plus, des réponses calciques rapides, induisant une vasodilatation, peuvent se mettre en place dans les processus astrocytaires et en particulier dans les pieds astrocytaires (Lind *et al.*, 2018; Otsu *et al.*, 2015). L'origine de ces mouvements calciques intra-astrocytaires est toujours inconnue, mais elle pourrait être liée à la libération de glutamate par les neurones, qui activerait des transporteurs au glutamate EAAT1/2 astrocytaires. Ces transporteurs sont couplés à d'autres transporteurs cationiques, dont la suppression a un effet négatif sur le couplage neuroglivascular (Robinson and Jackson, 2016), ce qui soutient cette hypothèse.

Rôle dans la neuroinflammation

Enfin, en cas de lésion du SNC, de pathologie ou plus généralement de neuroinflammation, les astrocytes subissent des changements morphologiques et fonctionnels, afin de remodeler leurs fonctions moléculaires (Escartin *et al.*, 2021; Poulot-Becq-Giraudon *et al.*, 2022). Ces « astrocytes réactifs » peuvent participer à des phénomènes de cicatrisation ou de réparation de la BHE, mais ils peuvent aussi être impliqués dans des processus physiopathologiques comme la neurodégénération (Lawrence *et al.*, 2023; Liu *et al.*, 2018).

3. VAISSEAUX CEREBRAUX

Comme pour tous les autres organes, le sang chargé en oxygène et en nutriments est acheminé vers le cerveau à travers un réseau hiérarchisé et dense de vaisseaux sanguins. Cette architecture permet d'amener le sang dans les régions cérébrales les plus profondes, ce qui est nécessaire, puisqu'à lui seul le cerveau humain consomme environ 20 % des apports énergétiques quotidiens de l'organisme, pour subvenir à ses besoins et permettre son bon fonctionnement (Girouard and Iadecola, 2006). L'arborescence vasculaire est composée de vaisseaux de structures et de tailles différentes, ce qui permet une circulation efficace du sang. Le sang riche en oxygène et en nutriments, provenant du cœur, est amené au cerveau par des artères, puis des artères piales (au niveau de la pie-mère en surface du tissu neuroglial, sous l'arachnoïde) débouchant vers des artérioles, de diamètre de plus en plus petit, et, qui pénètrent dans le parenchyme cérébral. Ces artérioles acheminent le sang vers des capillaires, au niveau desquels les échanges gazeux et nutritionnels se font avec les astrocytes. Des capillaires, partent des veinules, puis des veines, rejoignant ensuite le cœur.

A. ARCHITECTURE DU RESEAU DE VAISSEAUX CEREBRAUX

Avancées technologiques

L'architecture vasculaire cérébrale superficielle est bien décrite dans la littérature, depuis les travaux de médecins du XVII^{ème} siècle, tels que Thomas Willis et Franciscus Sylvius, qui se sont intéressés à l'anatomie cérébrale. Cependant, ces connaissances étaient principalement basées sur des observations *post-mortem*. Au siècle dernier, des techniques ont permis de visualiser les vaisseaux sanguins cérébraux pénétrants, grâce à l'injection de résines polymérisables, qui, après corrosion, deviennent des moulages du réseau micro-vasculaire, observables au microscope électronique (**Figure 18A**).

Le développement de nouvelles techniques d'imagerie et l'optimisation de techniques existantes constituent un domaine de recherche translationnel. De grandes avancées dans ces domaines ont eu lieu ces dernières décennies, notamment pour la visualisation de l'arbre vasculaire cérébral dans les régions cérébrales profondes, *in vivo*, grâce au développement de techniques non invasives.

Il existe plusieurs techniques d'imagerie cérébrale modernes. On peut plus particulièrement citer la TEP (Tomographie par Emission de Positrons) et l'IRMf (l'Imagerie à Résonnance Magnétique fonctionnelle), avec son effet BOLD (Blood Oxygen Level Dependent), qui sont maintenant très couramment utilisées, tant en expérimental qu'en clinique. Tandis que la première repose sur le couplage neurométabolique, la seconde s'appuie sur le couplage neuroglivovasculaire, à savoir le processus qui permet d'adapter le flux sanguin cérébral au niveau d'activité neuronale. Ces techniques permettent ainsi de visualiser les changements de perfusion cérébrale grâce à des marqueurs : l'oxygène dans le cas de l'IRMf BOLD et le fluorodésoxyglucose, un analogue radiopharmaceutique du glucose, dans le cas de la TEP. L'intensité du signal permet de déduire si la zone concernée est activée ou non.

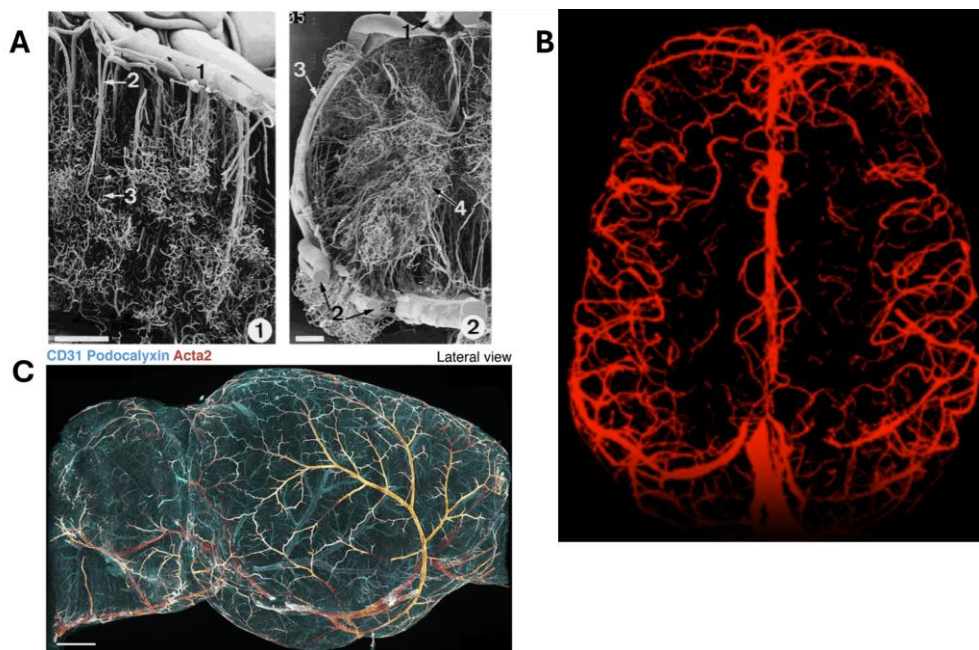


Figure 18 : Avancées technologiques pour la visualisation des petits vaisseaux cérébraux. **A.** Images en microscopie électronique à balayage de moules de corrosion du réseau microvasculaire, issues de *Rodriguez-Baeza et al., 1998*. **B.** Segmentation de TOF-MRA du cerveau entier, issue de *Bollmann et al., 2022*. **C.** Vue latérale d'un cerveau de souris transparaïsé, mettant en évidence les vaisseaux sanguins cérébraux, même profonds, issue de *Kirst et al., 2020*.

L'évolution technologique en imagerie et plus particulièrement en IRMf, s'accompagne d'importants travaux de modélisation mathématique, tant pour aider à la visualisation et l'analyse des données récoltées, que pour développer de nouveaux outils (*Bernier et al., 2018*; *Cassot et al., 2006*; *Fouard et al., 2006*) et des biomarqueurs (*Fournier et al., 2024*; *Gommel et al., 2024*; *Khalifa et al., 2016*). Ceci a abouti, en 2022, aux premières imageries de petites

artéριοles piales, grâce à la TOF-MRA (Time-Of-Flight Magnetic Resonance Angiography), par Bollmann *et al.* (**Figure 18B**).

L'étude de l'arborisation vasculaire cérébrale en général, et du réseau de petits vaisseaux (artéριοles et capillaires) en particulier, s'avère un élément indispensable à la compréhension du fonctionnement du cerveau (Welsh and Ledoux, 2015). L'architecture de ces petits vaisseaux permettant d'irriguer des régions spécifiques du cerveau, appelés territoires, influe fortement sur le flux sanguin cérébral, donc sur le métabolisme cérébral et par conséquent sur le fonctionnement neuronal.

Cerveau humain

La vascularisation artérielle du cerveau humain (**Figure 19**) est assurée par les artères carotides en avant, et les artères vertébrales en arrière. Ces dernières proviennent des artères subclavières et se projettent vers le tronc cérébral, où elles rejoignent l'artère basilaire par l'anastomose vertébro-basilaire, qui va donner les artères cérébrales postérieures. Les artères carotides, quant à elles, naissent de l'arc aortique à gauche et du tronc artériel brachio-céphalique à droite. L'artère carotide interne va donner les artères cérébrales moyennes et les artères cérébrales antérieures. Les artères carotides internes sont reliées, entre elles par l'artère communicante antérieure, et à l'artère basilaire par l'artère communicante postérieure. L'ensemble de ces artères forment le polygone de Willis. Cette organisation permet en cas d'occlusion d'une de ces artères, que le cerveau soit toujours irrigué. Chacune de ces artères donne des collatérales, devenant de plus en plus petites, jusqu'à donner les artéριοles intra-parenchymateuses, qui vont pénétrer dans le cerveau perpendiculairement. Les artères assurent la perfusion du cerveau en oxygène et en métabolites énergétiques.

La vascularisation veineuse suit un trajet différent, débouchant sur les veines jugulaires internes. En superficie, elle se compose d'un système superficiel, qui comprend les veines cérébrales supérieures, la veine cérébrale moyenne superficielle et les veines cérébrales inférieures ; ainsi que d'un système profond, qui comprend la grande veine du cerveau, correspondant à l'anastomose entre les deux veines cérébrales internes, et des veines basales. Ces deux systèmes veineux communiquent, pour garantir un équilibre hémodynamique.

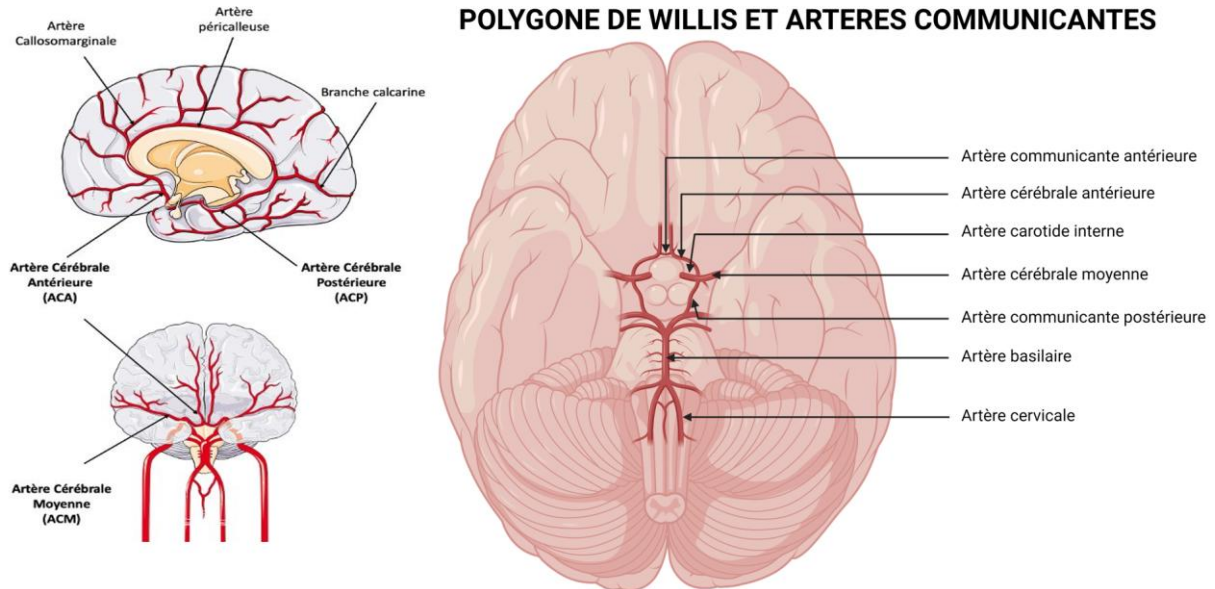


Figure 19 : Vasculature cérébrale et polygone de Willis.

Cerveau murin

Les avancées technologiques permettant la visualisation du cerveau murin sont semblables à celles portées en clinique. Il existe en effet des systèmes IRM et TEP pour petits animaux, disponibles dans plusieurs centres de recherche. Ces systèmes sont cependant plus compliqués à mettre en place, notamment du fait de la taille, très petite, du cerveau de souris, par rapport au cerveau humain, nécessitant donc une meilleure définition (Bahrami *et al.*, 2017).

Le développement combiné de techniques de transparence et du microscope à feuilles de lumière (*light sheet*) permet aujourd'hui de produire des images de cerveau entier de souris, en 3D. Couplées à de l'immunohistochimie, le réseau vasculaire cérébral peut être mis en évidence (**Figure 18C**), comme illustré dans les travaux de Kirst et de son équipe (Kirst *et al.*, 2020).

Le cerveau murin présente une anatomie vasculaire très proche du cerveau humain, notamment dans l'organisation du polygone de Willis. La seule différence notable étant l'absence des artères communicantes antérieures, les artères cérébrales antérieures s'anastomosant directement en une artère azygos cérébrale antérieure, donnant plus en avant l'artère frontale interne. Le réseau murin des artères piales est donc très similaire à celui

de l'humain, permettant non seulement la comparaison entre les deux espèces, mais aussi au cerveau murin d'être un modèle pertinent d'étude cérébrovasculaire pré-clinique.

B. ORGANISATION DE L'ARBRE VASCULAIRE CEREBRAL

Comme exposé précédemment, il existe différents types de vaisseaux sanguins, dont la structure diffère. Principalement, on trouve les artères, les capillaires et les veines (**Figure 20**).

La structure des veines et celle des artères sont très proches. Dans les deux cas, elles comportent une tunique externe, appelée adventice, composée de fibroblastes et de collagène ; une tunique interne, appelée media, qui s'organise en plusieurs couches de cellules musculaires lisses et de quelques fibres élastiques (dans les artères et les artérioles) ; et enfin d'une tunique interne, l'intima, qui représente une fine couche de cellules épithéliales, formant une barrière avec le sang circulant dans la lumière du vaisseau.

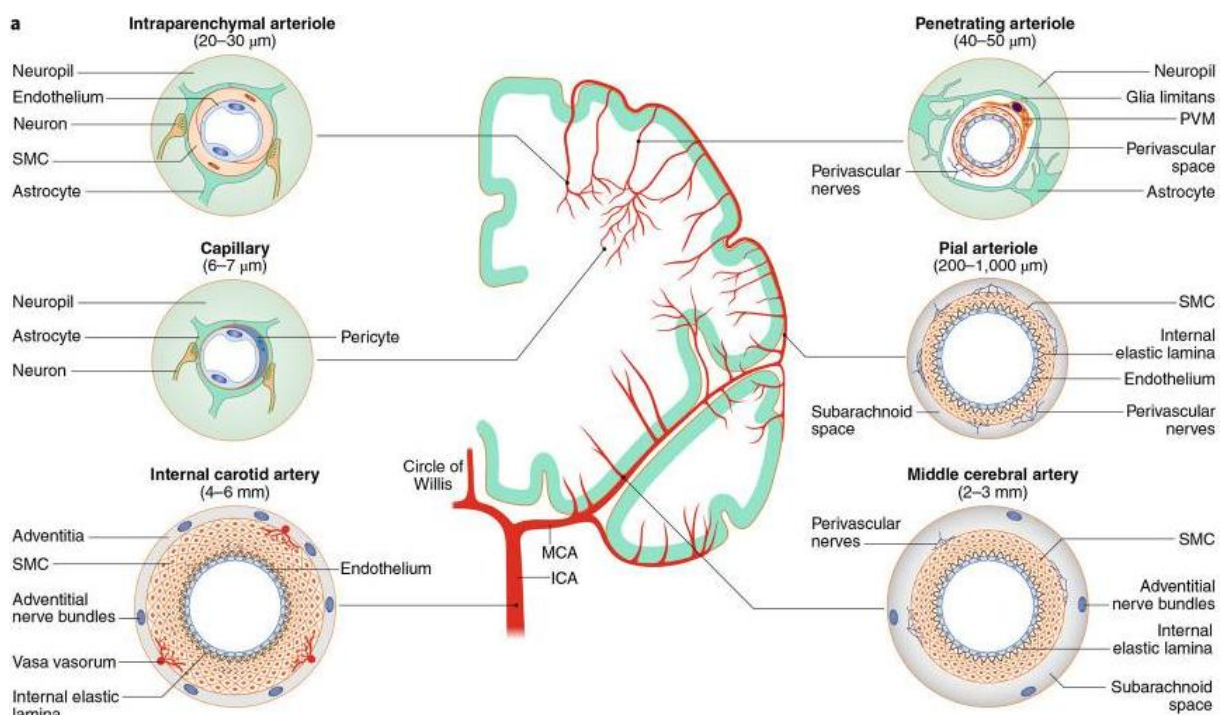


Figure 20 : Structure des différents types de vaisseaux sanguins (issu de Iadecola & Schaeffer, 2021).

Concernant les artères piales, qui se trouvent à la surface du cerveau, en contact avec la pie-mère, la média est épaisse. Elles ont un diamètre compris entre 100 et 20 µm dans le cerveau murin. Les artérioles intra-parenchymateuses, qui, comme leur nom l'indique, pénètrent perpendiculairement dans le parenchyme cérébral, possèdent moins d'épaisseurs de cellules

musculaires lisses, les plus petites n'en présentant qu'une fine couche, entourant directement les cellules endothéliales de l'intima.

Plus en profondeur, ces artérioles deviennent des pré-capillaires puis des capillaires, les cellules musculaires lisses devenant de plus en plus rares, jusqu'à laisser place aux péricytes. Les capillaires sont composés uniquement d'une couche de cellules endothéliales, entourée d'une lame basale sur laquelle se trouvent des péricytes, de façon non continue. Le réseau capillaire est très dense (400-1000 capillaires par millimètre cube de tissu cortical d'après Traytsman, 2017), ce qui lui permet d'assurer la majorité des échanges gazeux et nutritifs.

Les veinules post-capillaires vont ensuite drainer le sang pauvre en oxygène et chargé en métabolites évacués par les cellules du parenchyme. Elles rejoignent les veines ascendantes, qui débouchent sur les veines piales, à la surface du cerveau. Contrairement à la périphérie, les veines cérébrales sont dépourvues de valvules. Elles sont aussi beaucoup plus fines et souples que les artères, du fait de leur couverture en cellules musculaires lisses incomplète.

C. STRUCTURE DES VAISSEAUX CEREBRAUX

Cellules endothéliales

Les cellules endothéliales forment la tunique interne des vaisseaux, l'intima, et sont directement au contact du sang circulant. Unies par des jonctions serrées, elles forment notamment le premier rempart de la BHE (Mahringer and Fricker, 2016). De plus, elles expriment différentes protéines capables d'agir sur l'hémodynamisme pro-coagulant (Olgasi *et al.*, 2024). Au niveau des autres vaisseaux, l'endothélium est le premier relais métabolique du sang vers les cellules du parenchyme cérébral. Les cellules endothéliales jouent alors un rôle dans le contrôle du flux sanguin cérébral, puisqu'elles sont capables de produire des messagers vasoactifs, comme le NO (monoxyde d'azote), vasodilatateur, grâce entre autres à une NO synthase endothéliale (eNOS). De façon plus large, les cellules endothéliales sont des cellules sécrétrices très actives, et participent aux phénomènes d'angiogenèse et de neuroinflammation.

Cellules musculaires lisses

Les cellules musculaires lisses forment une tunique plus ou moins épaisse. Cette épaisseur diminue au plus les artérioles s'enfoncent profondément dans le parenchyme cérébral. Le diamètre intra-luminal diminue et crée une résistance à l'écoulement du sang, qui permet un contrôle plus fin du flux sanguin cérébral. Ces cellules sont au contact des pieds astrocytaires, ce qui permet une communication entre les astrocytes et les vaisseaux sanguins, à travers la présence de différents canaux ioniques et transporteurs. Les mouvements ioniques générés, en particulier de calcium, vont provoquer la contraction ou la relaxation des cellules musculaires lisses, ce qui va modifier le diamètre intra-luminal des vaisseaux et donc moduler le flux sanguin cérébral.

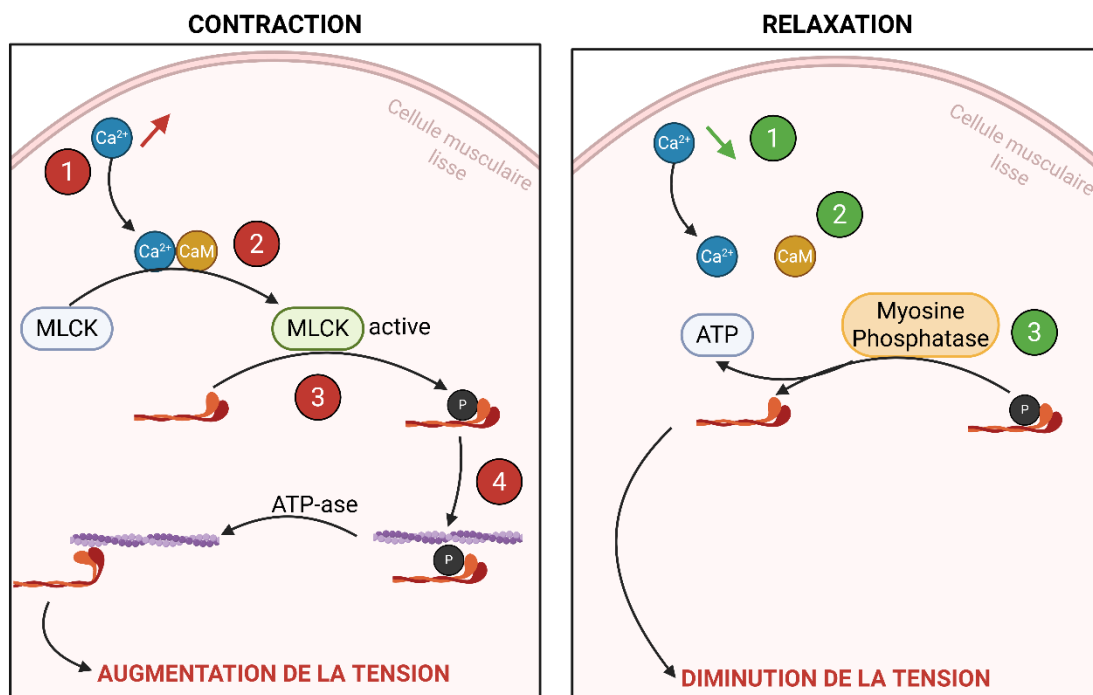


Figure 21 : Mécanismes intra-cellulaires permettant la contraction et la relaxation des cellules musculaires lisses. Pour la contraction : **1.** Augmentation de la concentration intra-cellulaire de calcium grâce à son entrée dans la cellule et sa libération par le réticulum sarcoplasmique. **2.** Liaison du calcium à la calmoduline (CaM). **3.** Le complexe Ca^{2+} -CaM active la kinase de la chaîne légère de myosine (MLCK). **4.** La MLCK phosphoryle les chaînes légères des têtes de myosine et augmente l'activité de la myosine ATPase, permettant aux ponts de myosine, maintenant actifs de glisser le long de l'actine. Pour la relaxation : **1.** Le calcium libre dans le cytosol diminue car il est pompé hors de la cellule et recapté par le réticulum sarcoplasmique. **2.** Le calcium se détache de la calmoduline. **3.** La myosine phosphatase détache le phosphate de la myosine, ce qui diminue l'activité de la myosine ATPase.

La contraction des cellules musculaires lisses est déclenchée par une augmentation de la concentration intracellulaire de calcium (**Figure 21**). Celui-ci est capté par la calmoduline, formant un complexe qui active la MLCK (Myosin Light-Chain Kinase), une protéine kinase capable de phosphoryler les têtes des chaînes légères de myosine. Sous cette forme, ces chaînes peuvent glisser le long des myofilaments d'actine, grâce à la consommation d'ATP. Ce glissement entraîne un raccourcissement des myofilaments et ainsi une contraction de la cellule. A l'inverse, la production de PGE2 et de NO va conduire respectivement à la production d'AMPc et de GMPc, induisant une diminution du calcium intra-cellulaire. On observera alors une diminution du nombre de complexes calcium-calmoduline, conduisant à la déphosphorylation des têtes des chaînes légères de myosine par une phosphatase. Ceci réduit la tension sur les myofilaments d'actine, qui s'allongent, permettant une relaxation des cellules musculaires lisses (Gash *et al.*, 2024).

Péricytes

Les péricytes sont des cellules spécialisées, capables de réguler localement le flux sanguin cérébral (Attwell *et al.*, 2016; Hartmann *et al.*, 2022). A la différence des cellules musculaires lisses, qui forment une couche uniforme sur la paroi vasculaire, on aperçoit les péricytes à la surface des capillaires, car ils ont un corps cellulaire arrondi et sont disposés irrégulièrement. Ils jouent un rôle dans le maintien des vaisseaux sanguins et ont des échanges avec les cellules du parenchyme cérébral, qui leur permettent de participer au couplage neuroglivascular.

Vasomotricité et loi de Poiseuille

La régulation du flux sanguin cérébral se fait par la contraction ou la dilatation des artères et des capillaires, dictées par les cellules musculaires lisses et les péricytes. Ce phénomène est appelé la vasomotricité. Celle-ci va influencer sur le diamètre des vaisseaux, mais aussi sur la pression à l'intérieur de ceux-ci, appelée pression de perfusion. Le flux sanguin cérébral peut ainsi être prédit par la Loi de Poiseuille :

$$Q = \frac{\pi \times r^4 \times \Delta P}{8 \times \eta \times L}$$

Avec : Q = Flux sanguin cérébral ; r = Rayon du vaisseau ; ΔP = Pression de perfusion ; η = Viscosité du sang ; L = Longueur du vaisseau.

Si on assume que la pression, la viscosité et la longueur du vaisseau sont des valeurs constantes, le flux est proportionnel à la puissance 4 du rayon des vaisseaux sanguins. De fait, une diminution 50 % du diamètre du vaisseau provoque une division du flux par 16.

D. TROUBLES DE LA PERFUSION CEREBRALE

Les troubles de la perfusion peuvent entraîner une hypoperfusion locale. Or, une diminution de la perfusion cérébrale est corrélée avec une diminution des fonctions cognitives, les neurones ne recevant pas l'oxygène et les métabolites énergétiques nécessaires à leur bon fonctionnement. Cela peut aussi être prédictif de démence, plus tard dans la vie (Chao *et al.*, 2010). On parle alors de déclin cognitif vasculaire. L'hypoperfusion peut être causée par des événements lésionnels ou issus d'évènements multiples, plus silencieux car concernant les petits vaisseaux.

ORGANISATION DE L'UNITE NEUROGLIOVASCULAIRE

L'unité neurogliovasculaire comprend donc trois grands acteurs : les neurones, qu'ils soient excitateurs ou inhibiteurs, les cellules gliales, notamment les astrocytes, et enfin les vaisseaux sanguins. En permettant leur communication directe et indirecte, elle a deux grandes fonctions :

- L'installation et le maintien de la BHE, qui permet la protection du SNC, mais aussi les échanges énergétiques entre la circulation sanguine et le parenchyme cérébral, ce qui garantit le bon fonctionnement neuronal.
- Le couplage neurogliovasculaire, qui correspond à l'ajustement du flux sanguin cérébral au niveau d'activation neuronale.

III - COUPLAGE NEUROGLIOVASCULAIRE : HISTOIRE D'UN ALLER ET D'UN RETOUR

Le couplage neurogliovasculaire est un processus physiologique permettant l'ajustement local du flux sanguin cérébral au niveau d'activité cérébrale. Il se traduit par la dilatation ou la contraction de vaisseaux sanguins, ce qui permet d'assurer les besoins en métabolites énergétiques des neurones (**Figure 22**). Il fait donc intervenir tous les acteurs de l'unité neurogliovasculaire.

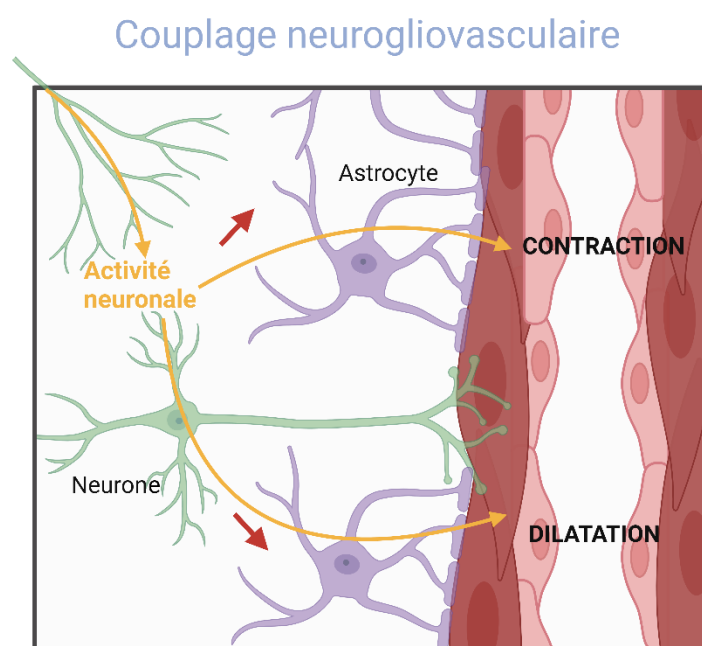


Figure 22 : Le couplage neurogliovasculaire. Le flux sanguin cérébral s'adapte au niveau d'activité neuronale, par la contraction ou la dilatation des vaisseaux cérébraux, sous l'effet de voies moléculaires au sein de l'unité neurogliovasculaire.

Le principe de couplage neurogliovasculaire repose sur les travaux d'Angelo Mosso (Mosso and Royal College of Surgeons of England, 1880). Son hypothèse exposait que la perfusion sanguine cérébrale pouvait localement être modifiée par des tâches cognitives et attentionnelles. Il inventa le pléthysmographe, un appareil permettant de mesurer les changements de volume sanguin cérébral, qu'il utilisa sur des participants ayant des défauts crâniens ou ayant subi une chirurgie cérébrale, lui permettant d'accéder au cerveau à travers le cuir chevelu (Zago *et al.*, 2009) Tymko *et al.*, 2018). Plus tard, ce sont Charles Roy et Charles Sherrington qui ont montré que l'injection d'un extrait cérébral dans la carotide commune

d'un autre animal, permet d'augmenter le volume sanguin cérébral. Ils en déduisirent que les métabolites sécrétés par le cerveau pouvaient causer une dilatation des vaisseaux sanguins cérébraux. L'observation de l'existence d'un mécanisme permettant des variations locales de perfusion sanguine en accord avec les variations locales de l'activité cérébrale, a donc constitué la première définition du couplage neurogliovasculaire. D'autres types d'expériences ont été réalisées, notamment par variation de l'oxygène ou par interventions pharmacologiques, et ont permis de poser les bases des mécanismes physiologiques de la modulation du flux sanguin cérébral (Roy and Sherrington, 1890).

Le couplage neurogliovasculaire représentant une part très importante de l'homéostasie cérébrale, il est crucial d'avoir une régulation très fine des signaux qui le mettent en place, afin de permettre un équilibre entre contraction et dilatation des vaisseaux qui soit adapté aux besoins des cellules, localement. Il est donc primordial que tous les acteurs cellulaires décrits précédemment puissent recevoir et transmettre des signaux adaptés, qu'ils soient intrinsèques ou extrinsèques, ce qui représente de nombreuses voies intra-cellulaires, capables de s'équilibrer.

1. VOIES DE REGULATION : DES NEURONES AUX VAISSEAUX

La régulation du couplage neurogliovasculaire nécessite une communication entre tous les acteurs de l'unité neurogliovasculaire. Les principales molécules impliquées dans ces voies de régulation sont le K⁺, l'ATP et le glutamate (Cauli and Hamel, 2010; Pelligrino *et al.*, 2011), qui sont libérées pendant la neurotransmission par les neurones et les astrocytes. On parle ainsi de régulation antérograde du flux sanguin cérébral : l'augmentation de l'activité neuronale va entraîner une augmentation du flux, ce qui va permettre de répondre aux besoins énergétiques (Attwell *et al.*, 2010).

A. PAR LE POTASSIUM

Le potassium va assurer son rôle vasoactif suite à sa libération dans l'espace extra-cellulaire pendant la neurotransmission (**Figure 23**). La régulation de la concentration de potassium dans l'espace extracellulaire se fait en grande partie par les astrocytes, qui servent de « siphon » (Kofuji and Newman, 2004). Ils sont capables de recapter le potassium des zones à fortes concentrations (régions périssynaptiques), mais aussi d'en relarguer dans les zones où la

concentration en potassium est faible (régions périvasculaires). Ce rôle d'interface potassique des astrocytes, entre les neurones et les cellules musculaires lisses vasculaires, est permis grâce à l'expression de canaux potassiques à leur membrane (Dunn and Nelson, 2010; Filosa *et al.*, 2006).

Les canaux *Big Potassium* (BK), présents à la surface des pieds astrocytaires, sont sensibles à la concentration en calcium. Ils s'activent suite à l'augmentation de calcium intra-cellulaire liée à l'activité neuronale, et permettent de libérer du potassium dans l'espace péri-vasculaire. Cette augmentation modérée de la concentration de potassium extra-cellulaire va activer les canaux rectifiants entrants, K_{ir} , permettant une sortie de potassium, et une hyperpolarisation de la membrane des cellules musculaires lisses vasculaires, résultant en une vasodilatation (Dunn and Nelson, 2010; Filosa *et al.*, 2006; Pétrault *et al.*, 2005).

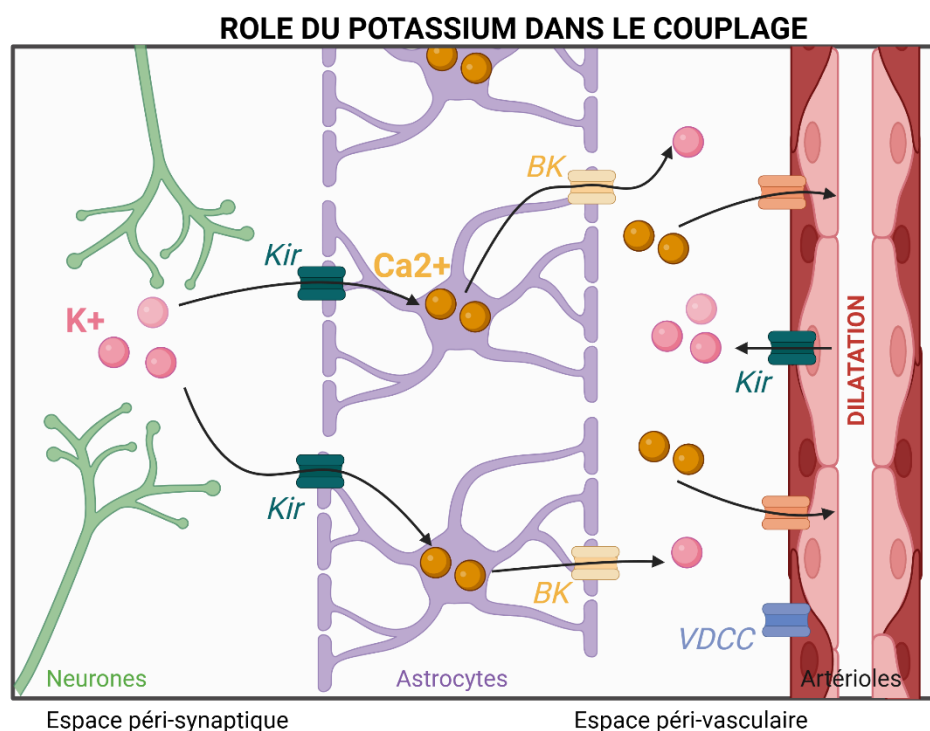


Figure 23 : Rôle du potassium dans le couplage neurogliovasculaire.

Les canaux K_{ir} et plus particulièrement les canaux $K_{ir}2.1$, sont exprimés dans les cellules musculaires lisses des artérioles intra-parenchymateuses et pré-capillaires : ceci renforce l'idée que le couplage neurogliovasculaire doit répondre à des besoins métaboliques locaux. Ces éléments supportent la théorie de la vasodilatation rétrograde, selon laquelle les réponses

vasodilatatrices démarrent des segments vasculaires les plus profonds (capillaires et artérioles pré-capillaires), à travers une hyperpolarisation transmise par l'endothélium, vers les segments piaux (Schaeffer and Iadecola, 2021; Secomb, 2008).

Le rôle des canaux BK dans les artérioles intra-parenchymateuses est peu documenté, par rapport aux artères piales, où ils interviennent dans le maintien du tonus myogénique (Cipolla *et al.*, 2009).

B. PAR L'ATP

Au cours de la neurotransmission, de l'ATP est libéré par les neurones pré-synaptiques (Zimmermann, 1994). L'ATP agit ensuite sur les vaisseaux sanguins à travers les astrocytes, sur des récepteurs appartenant à deux familles : les P2X et les P2Y. Par l'intermédiaire des récepteurs P2X, l'ATP peut induire une vasoconstriction artériolaire et donc une diminution de l'activité neuronale (Lezmy *et al.*, 2021). En revanche, à l'échelle capillaire, il a été montré que l'activation des récepteurs P2X1 peut conduire à une vasodilatation (Mishra *et al.*, 2016). Lorsque l'ATP active les récepteurs P2Y astrocytaires, cela entraîne une vague calcique excitatrice (Ml *et al.*, 2000), pouvant se transmettre d'un astrocyte aux astrocytes voisins (**Figure 24**), à partir du stock du réticulum endoplasmique, grâce à des augmentations de la concentration en IP_3 ; ou à travers leurs jonctions GAP (Haydon and Carmignoto, 2006)(Guthrie *et al.*, 1999). Les vagues calciques astrocytaires vont généralement conduire à une augmentation de l'activité neuronale *via* une déplétion en neurotransmetteurs excitateurs (Lia *et al.*, 2023). Cet ATP peut aussi être converti en adénosine, qui va agir sur des récepteurs purinergiques de type A2 à la membrane des cellules musculaires lisses, ce qui va libérer de l'AMPc induisant une vasodilatation (Pelligrino *et al.*, 2011).

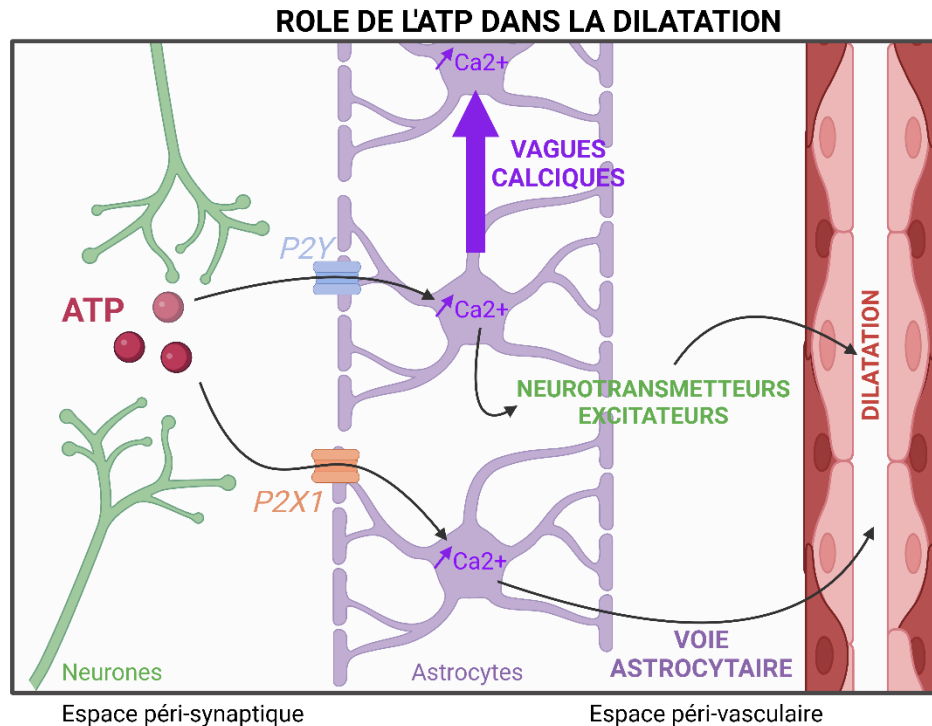


Figure 24 : Rôle de l'ATP dans la dilatation des micro-vaisseaux cérébraux.

C. PAR LE GLUTAMATE

Glutamate

Le glutamate a été identifié en 1866 par H. Ritthausen (Ritthausen, 1866). En tant qu'acide aminé non essentiel, son rôle a longtemps été limité au métabolisme du carbone et de l'azote (Tapiero *et al.*, 2002), pouvant donc servir de source d'énergie ou d'ammoniaque. Son importance dans le système nerveux central n'a été découverte qu'en 1954 (Hayashi, 1954) et sa caractérisation en tant que neurotransmetteur a eu lieu en 1963, dans les travaux de Krnjević & Phillis (Krnjević and Phillis, 1963a, 1963b).

SYNTHÈSE, RECAPTURE ET CATABOLISME DU GLUTAMATE

Le glutamate, produit à partir de la glutamine par la glutaminase (ou à partir de l'acide α -cétooglutarate par la glutamate déshydrogénase), est stocké dans des vésicules sécrétoires par des transporteurs vésiculaires spécifiques (VGLUT1, 2 et 3). La recapture du glutamate à la suite de sa libération dans la fente synaptique est un phénomène hautement régulé (**Figure 25**). Elle se fait par les EAAT1/2 (Transporteurs des Acides Aminés Excitateurs 1/2), exprimés à la surface des cellules gliales. Le glutamate est ensuite retransformé en glutamine

par la glutamine synthétase, qui sera réacheminée aux neurones pré-synaptiques où elle sera retransformée en glutamate. Cette succession de libérations-recaptures s'appelle le cycle glutamate-glutamine (Tapiero *et al.*, 2002). Le glutamate est aussi à l'origine d'autres molécules de la neurotransmission, comme le GABA, la glycine et l'aspartate. Sa dérégulation peut entraîner une surcharge extracellulaire de glutamate, qui peut entraîner des dysfonctionnements de l'activité neuronale liée à l'excitotoxicité glutamatergique.

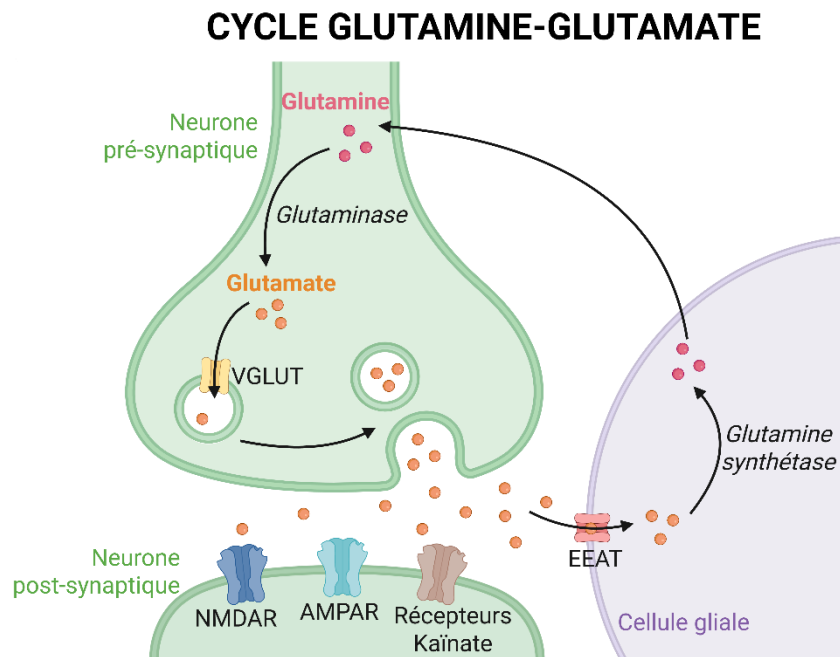


Figure 25 : Cycle de synthèse-catabolisme du glutamate.

RECEPTEURS GLUTAMATERGIQUES

Il existe deux types de récepteurs glutamatergiques : les récepteurs ionotropiques et les récepteurs métabotropiques (mGluR).

Les récepteurs ionotropiques sont des récepteurs-canaux activés par le glutamate et un agoniste sélectif dont ils portent le nom. On retrouve ainsi classiquement les récepteurs AMPA (acide α -amino-3-hydroxy-5-méthylisoxazole-4-propionique, AMPAR), les récepteurs NMDA (N-méthyl-D-aspartate, NMDAR), et les récepteurs kaïnate, très minoritaires.

L'AMPA est un récepteur canal perméable aux cations monovalents, ce qui participe à la dépolarisation des neurones post-synaptiques. Les AMPAR sont généralement exprimés en colocalisation avec des NMDAR.

ACTIVATION DES NMDAR

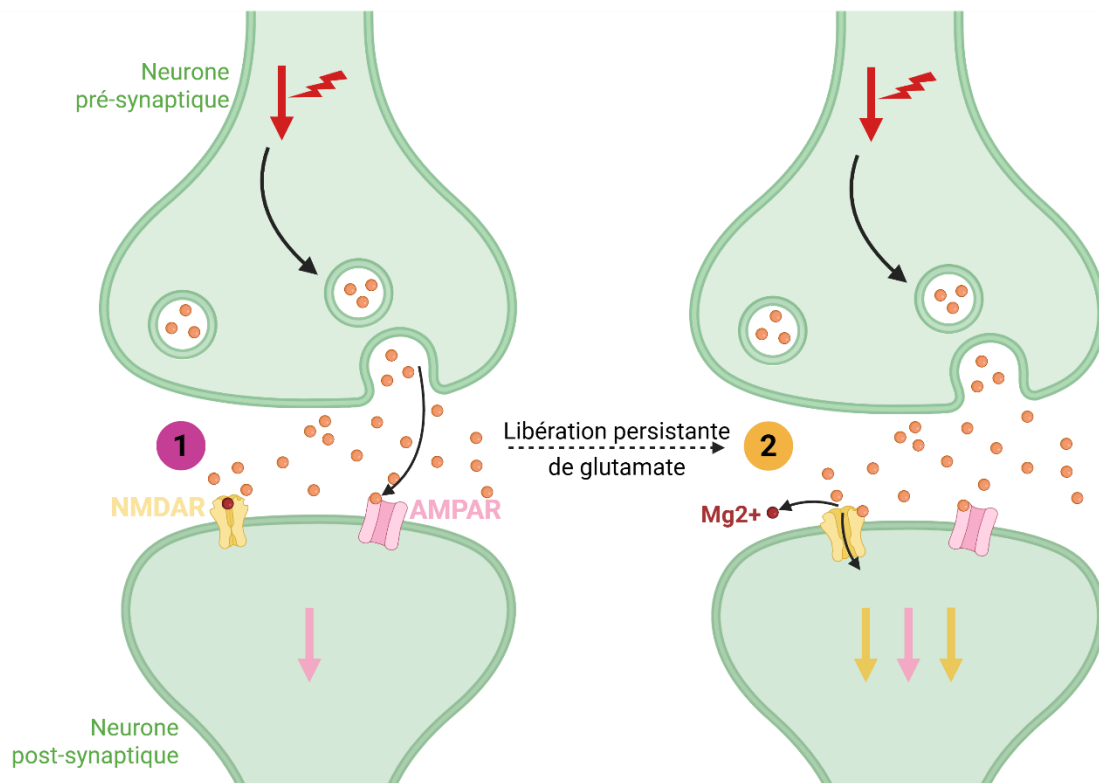


Figure 26 : Activation des récepteurs NMDA. 1. A l'arrivée des potentiels d'action dans la terminaison axonale, les vésicules libèrent le glutamate dans la synapse, qui est capté par les récepteurs AMPA, mais pas par les récepteurs NMDA, bloqués par leur bouchon de Mg^{2+} . 2. Lorsque la libération de glutamate persiste, les récepteurs AMPA dépolarisent suffisamment la membrane de l'élément post-synaptique pour faire sauter le bouchon de Mg^{2+} , ce qui permet la fixation du glutamate aux récepteurs NMDA et donc leur activation.

Le NMDAR est un récepteur canal ionique sélectif aux cations, avec une très forte perméabilité calcique. Le grand nombre d'isomères des sous-unités qui le composent, confère à chaque sous-type de récepteurs des propriétés biophysiques (comme la probabilité d'ouverture) et fonctionnelles qui lui sont propres. Son affinité pour le glutamate est bien plus élevée que pour les autres récepteurs ionotropiques, cependant, son mécanisme d'activation est complexe. En effet, au potentiel de repos, le pore du canal du NMDAR est bloqué par un ion Mg^{2+} , ce qui signifie que malgré la fixation du glutamate et/ou d'un de ses co-agonistes au récepteur, les cations ne peuvent pas entrer dans la cellule. Seule une forte dépolarisation de la membrane plasmique permet de faire sauter ce « bouchon » de magnésium, généralement à la suite de l'activation d'AMPA. L'activation des NMDAR nécessite donc une dépolarisation du neurone pré-synaptique glutamatergique intense et durable, afin d'assurer qu'il y ait à la fois une activité électrique dans le neurone post-synaptique et que le glutamate et/ou ses

agonistes soient toujours disponibles (**Figure 26**). L'entrée de calcium qui succède à l'activation des NMDAR peut entraîner plusieurs cascades de signalisation intracellulaires.

TYPES DE NEURONES GLUTAMATERGIQUES

Les neurones glutamatergiques sont des neurones excitateurs, c'est-à-dire qu'ils promeuvent la propagation de l'activité neuronale. On retrouve deux types de neurones glutamatergiques dans le cortex préfrontal : les cellules étoilées épineuses et les cellules pyramidales (Scholl, 1963 ; Baughman and Gilbert, 1981).

Les cellules épineuses ont une arborisation dendritique dense avec des épines et un court axone qui se projette vers la substance blanche. On les retrouve dans les cortex sensoriels, comme le cortex somesthésique (Woolsey and Van der Loos, 1970; Jones, 1975).

Les cellules pyramidales sont très majoritaires et représentent au moins 70% des neurones du cortex (Sloper, 1973). Elles sont caractérisées par la forme triangulaire de leur cytoplasme et des arborisations dendritiques apicales et basales (Spruston, 2008). Ces neurones ont un axone plus long, qui leur permet de se projeter vers d'autres régions cérébrales, constituant ainsi les neurones efférents du cortex cérébral (Molyneaux *et al.*, 2007). Leur taille est variable : ils sont généralement plus grands dans les couches corticales plus profondes.

ROLES PHYSIOLOGIQUES DU GLUTAMATE

Le glutamate est en réalité le neurotransmetteur exciteur le plus présent dans le SNC, participant au maintien de la balance excitation/inhibition, avec le GABA, ce qui contribue à l'homéostasie électrophysiologique neuronale. Le glutamate joue un rôle primordial dans la communication neuronale et dans la régulation de la plasticité neuronale, à travers la potentialisation à long-terme (LTP), ce qui en fait un neurotransmetteur essentiel aux phénomènes de mémorisation et d'apprentissage. Le glutamate joue aussi un rôle dans la fonction motrice, en particulier dans l'initiation des mouvements volontaires.

PHYSIOPATHOLOGIE DU GLUTAMATE

Comme exposé précédemment, la régulation du cycle glutamine-glutamate est primordiale pour éviter des phénomènes d'excitotoxicité glutamatergique. Il a été montré que ce processus pouvait entraîner des conséquences délétères, retrouvées dans de nombreuses pathologies du système nerveux central. On le retrouve par exemple en aigu, dans l'accident

vasculaire cérébral ischémique, où l'excitotoxicité glutamatergique intervient de façon précoce, suite à l'apparition de la lésion (Rossi *et al.*, 2000; Wroge *et al.*, 2012). Des études cliniques ont montré que des taux élevés de glutamate dans le plasma à 24 heures post-AVC étaient associées à un mauvais pronostic neurologique précoce (Fan *et al.*, 2023; Kamtchum-Tatuene and Jickling, 2019; Shen *et al.*, 2022). Dans des pathologies neurologiques à plus long-terme, l'excitotoxicité glutamatergique joue aussi un rôle, en participant à la neurodégénérescence, par exemple, dans le cas de la maladie de Huntington et la sclérose latérale amyotrophique (SLA) (Parsons and Raymond, 2014; Zeron *et al.*, 2002).

Le glutamate ayant aussi un rôle dans le maintien de la balance excitation-inhibition et dans la neurotransmission, une dérégulation de son cycle de synthèse et catabolisme va entraîner de fortes altérations fonctionnelles, associées à une dérégulation de sous-unités des récepteurs glutamatergiques. Ces dysfonctionnements sont retrouvés dans des pathologies psychiatriques (schizophrénie, dépression, phénomènes d'addiction), dans l'épilepsie, ainsi que dans la maladie de Parkinson et la maladie d'Alzheimer (Bowie, 2008). Dans cette dernière pathologie, on observe une dérégulation de l'expression de certaines sous-unités des récepteurs NMDA et AMPA qui pourrait contribuer à un dysfonctionnement des phénomènes de LTP, qui seraient responsables d'une partie des troubles associés à la mémoire, par perte de plasticité synaptique (Carles *et al.*, 2024; Davis *et al.*, 1992; Morris *et al.*, 1986).

Voies astrocytaires

Les voies astrocytaires (**Figure 27**) sont dépendantes du transport du glutamate par les EAAT 1/2, qui, couplé à l'activation astrocytaire engendrée par l'augmentation de la fréquence d'arrivée des potentiels d'action excitateurs, va provoquer une augmentation de la concentration intra-cellulaire de calcium. La PLA₂ (Phospholipase A₂) va être activée, conduisant à une libération de l'AA (Acide Arachidonique) à partir de la bicouche lipidique. Cela va permettre le fonctionnement de la COX I (Cyclooxygénase I) (Mishra *et al.*, 2016; Zonta *et al.*, 2003b). Celle-ci va produire des PGE₂ (Prostaglandines E₂), ainsi que des EETs (Acides époxyeicosatriénoïques), qui vont entraîner une vasodilatation. L'AA peut aussi être libéré par les astrocytes, vers les cellules musculaires lisses, où il va être transformé par les cytochromes P450 ω -hydroxylases en 20-HETE (Acide hydroxyeicosatétraénoïque), conduisant à une vasoconstriction (Filosa *et al.*, 2013; Gordon *et al.*, 2011; Koehler *et al.*, 2009).

L'entrée de glutamate par les EAAT 1/2 active la pompe Na^+/K^+ ATPase, ce qui va stimuler la glycolyse astrocytaire et donc augmenter la recapture du glucose à partir de la circulation sanguine (Pellerin and Magistretti, 1994).

Il existe un dialogue important entre les astrocytes et les interneurones, qui participe au couplage neurogliovasculaire. Le GABA délivré par les interneurones peut agir sur les astrocytes en modulant leur activation et donc leur concentration intra-cellulaire en calcium (Lia *et al.*, 2019) et en influant sur la synchronicité neuronale (Lecrux *et al.*, 2011) : ceci aura des répercussions sur le flux sanguin cérébral.

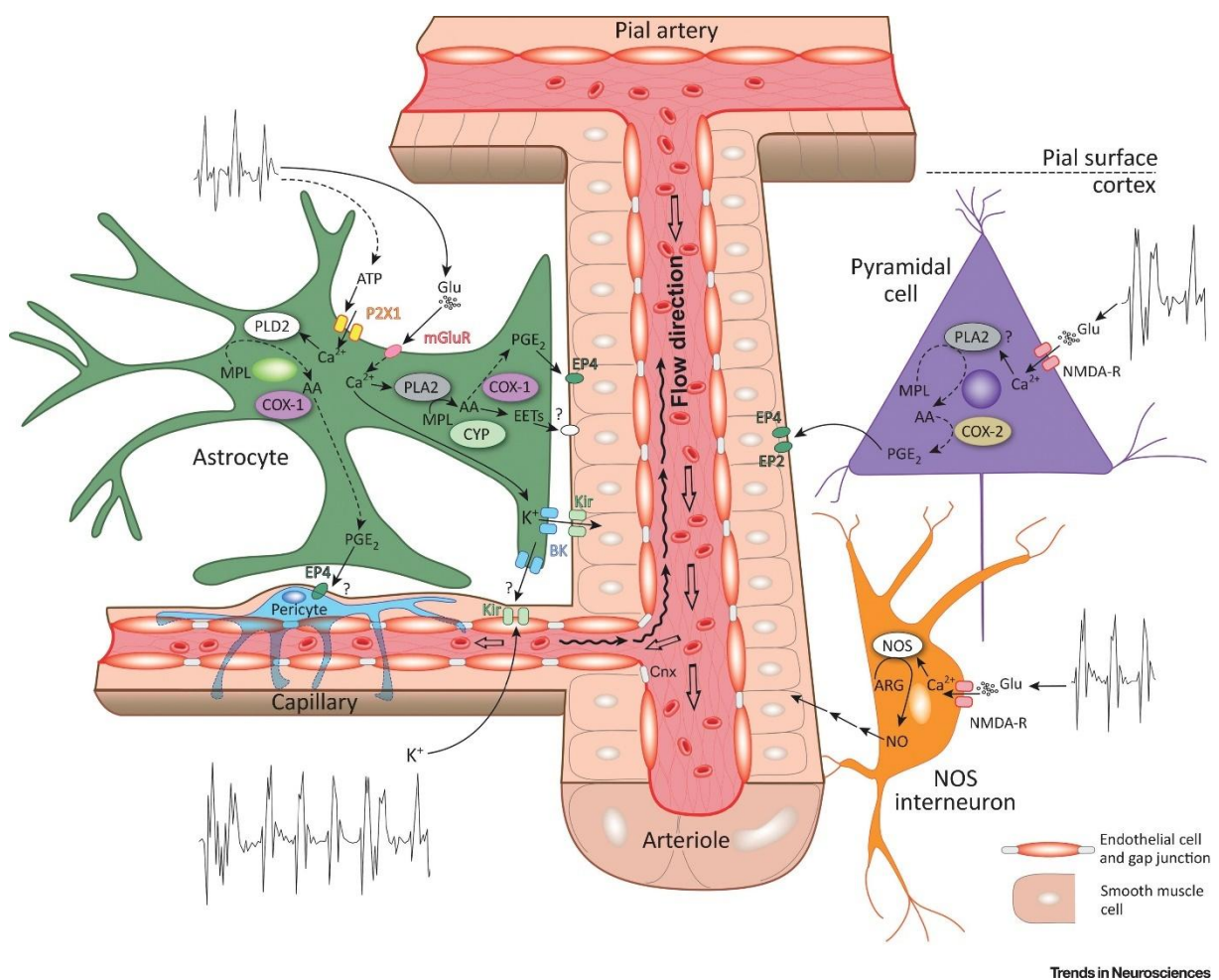


Figure 27 : Les voies glutamatergiques de dilatation astrocytaires (à gauche) et neuronales (à droite) des vaisseaux cérébraux (issu de Cauli & Hamel, 2018).

Voies neuronales

Les voies neuronales (**Figure 27**) impliquent que le glutamate active des récepteurs ionotropiques NMDAR et AMPAR, entraînant une augmentation de la concentration intracellulaire en calcium (Lind *et al.*, 2013). La nNOS (NO synthase neuronale) exprimée dans les interneurones à SOM et à NPY (Cauli *et al.*, 2004), va pouvoir interagir avec son substrat, l'arginine, permettant la libération de NO, qui va diffuser passivement jusqu'aux cellules musculaires lisses, provoquant leur relaxation et donc la dilatation des vaisseaux sanguins cérébraux (Bredt and Snyder, 1990; Ma *et al.*, 1996; Northington *et al.*, 1992). Parallèlement, comme dans les astrocytes, l'activité de la PLA2 va augmenter la disponibilité de l'AA, ce qui va permettre le fonctionnement de COX II (Cyclooxygénase II), exprimée en conditions physiologiques par les neurones pyramidaux (Breder and Saper, 1996; Kaufmann *et al.*, 1996; Yamagata *et al.*, 1993). Une fois activée, COX II synthétise PGH₂, qui sera transformée en PGE₂ et PGI₂ (Prostacyclines I₂) par la PGE-synthase. Cela conduira à l'activation des récepteurs EP₂ et EP₄ pour PGE₂ et IP pour PGI₂, conduisant à une augmentation de l'AMPc au sein des cellules musculaires lisses et donc à une vasodilatation (Lacroix *et al.*, 2015). Il est intéressant de noter qu'à forte concentration, PGE₂ va préférentiellement se fixer à des récepteurs EP₃, qui diminuent la concentration en AMPc et conduisent donc à une vasoconstriction (Dabertrand *et al.*, 2013).

De plus, certains neuropeptides sécrétés par les interneurones ont une action vasodilatatrice, comme le VIP (Itakura *et al.*, 1987), ou vasoconstrictrice, comme le NPY (Cauli *et al.*, 2004), en modulant la concentration en AMPc dans les cellules musculaires lisses.

2. AUTOREGULATION DE LA PERFUSION CEREBRALE : DES VAISSEAUX AUX NEURONES

L'incidence des voies de régulation est modulée par des phénomènes d'autorégulation de la perfusion cérébrale, qui sont intrinsèques aux vaisseaux cérébraux.

A. REGULATION DU FLUX SANGUIN CEREBRAL PAR L'ENDOTHELIUM

Du fait de leur position dans la structure des vaisseaux sanguins, les cellules endothéliales sont directement au contact du sang circulant et sont donc soumises à des forces

hémodynamiques, notamment des contraintes d'étirement liées à la pression pariétale et des contraintes de cisaillement causées par la friction du sang (Lansdell *et al.*, 2022). Les contraintes de cisaillement vont causer une transduction mécanique, un étirement du cytosquelette (Lu and Kassab, 2011) et provoquer la production de radicaux libres de l'oxygène. Ces événements sont associés à l'activation de la eNOS (NO synthase endothéliale), ce qui conduit à la production de NO. Ce dernier diffuse vers les cellules musculaires lisses et va entraîner de la vasodilatation. Le NO produit par les cellules endothéliales peut aussi jouer un rôle de rétrocontrôle négatif sur la production astrocytaire de 20-HETE (Metea and Newman, 2006).

Les cellules endothéliales sont aussi à l'origine de la production d'autres molécules vasoactives, comme PGI₂ (Attwell *et al.*, 2010), l'endothéline-1. Les cellules musculaires lisses peuvent quant à elle sécréter du thromboxane A₂ (Angus *et al.*, 1992; Messina *et al.*, 1989).

B. TONUS MYOGENIQUE

L'autorégulation du flux sanguin cérébral fait aussi intervenir une fonction intrinsèque aux artères musculaires : le tonus myogénique (**Figure 28**). Celui-ci permet de maintenir la perfusion sanguine stable et appropriée dans une gamme de pressions sanguines. Il se constitue de vasoconstrictions et de vasodilatations des artères du polygone de Willis et de plus petites artères piales (Dw and Dd, 1984; Gebremedhin *et al.*, 2014). Le tonus myogénique intervient dès une pression artérielle moyenne de 60mmHg, en dessous, le flux sanguin cérébral suit passivement les variations de la pression de perfusion. Il permet ainsi de protéger la microcirculation et le tissu cérébral d'une augmentation trop importante de la tension, mais aussi d'une diminution brutale en cas d'ischémie. Le tonus myogénique se développe à la suite des changements mécaniques que subissent les cellules musculaires lisses lors des variations de pression sanguine (Hill-Eubanks *et al.*, 2014). Ces déformations membranaires activent des canaux calciques mécano-sensibles de type TRPV4 (Transient Receptor Potential Vanilloïde 4, (Chan *et al.*, 2019), ainsi que des canaux voltage-dépendants, ce qui permet la dépolarisation des cellules musculaires lisses.

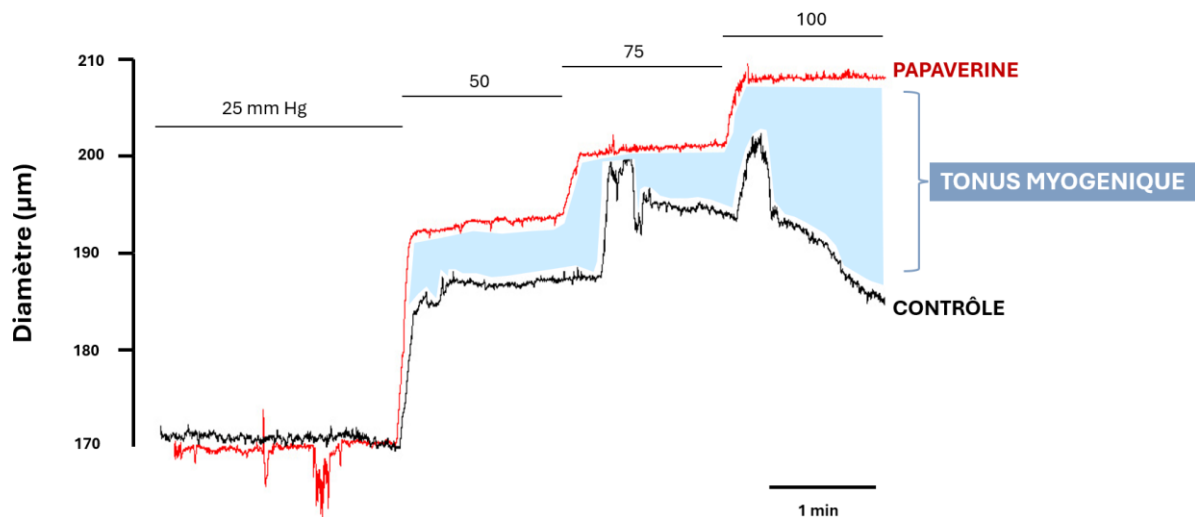


Figure 28 : Développement du tonus myogénique. Augmentation de la pression intra-luminale (en noir), par rapport à la même artère, après application de papavérine, qui inhibe la contraction des cellules musculaires lisses (en rouge).

C. COUPLAGE VASCULO-NEURONAL (VNC)

La communication au sein de l'unité neurogliovasculaire passe également du vaisseau vers les cellules du parenchyme cérébral : c'est ce qu'on appelle le couplage vasculo-neuronal ou VNC, mis en évidence par (Kim *et al.*, 2015). Leur étude a permis de révéler le rôle dans ce phénomène du canal TRPV4, un canal calcique mécanosensible, situé à l'interface entre les artérioles et les pieds astrocytaires. L'activation de ce canal au moment de l'instauration d'un tonus myogénique plus important dans une artériole va induire des vagues calciques intra-astrocytaires (**Figure 29**). L'augmentation du calcium astrocytaire, par l'intermédiaire de récepteurs purinergiques (A_1R) et d'interneurones GABA-ergiques, va diminuer la fréquence de décharge des neurones voisins (Kim *et al.*, 2021, 2016). L'hypothèse étant que ce phénomène de VNC serait constitutif et participerait au maintien d'un certain niveau d'activité neuronale au repos. Mais, dans des conditions où le niveau d'activité neuronale devrait augmenter, le VNC serait annulé par le couplage neurogliovasculaire, afin de permettre aux vaisseaux de modifier leur tonus myogénique vers un état plus relaxé (Kim *et al.*, 2016; Presa *et al.*, 2020).

Couplage Vasculo-Neuronal

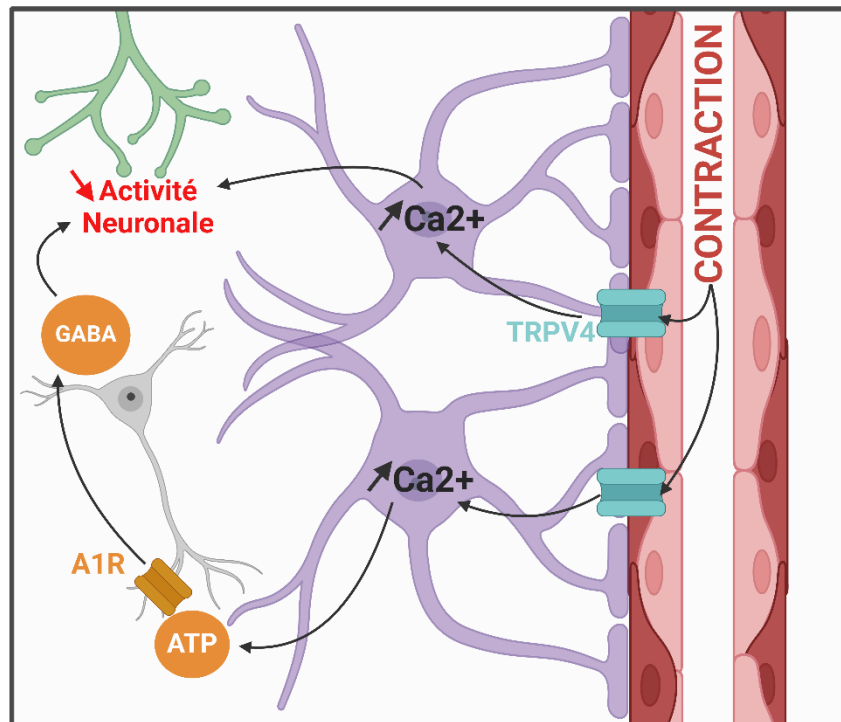


Figure 29 : Le couplage vasculo-neuronal.

ROLE DU COUPLAGE NEUROGLIOVASCULAIRE

Le rôle du couplage est le sujet de débats au sein de la communauté scientifique. En effet, l'observation d'une vasodilatation à la suite d'une augmentation locale de l'activité neuronale, suggère que cette activité augmentée induit une demande énergétique plus importante et l'augmentation du flux sanguin permettrait de répondre à cette demande (Kaplan *et al.*, 2020). Or, il a été estimé que le flux sanguin cérébral basal était suffisant pour satisfaire les besoins en oxygène de neurones actifs (Mintun *et al.*, 2001), ainsi le couplage neurogliovasculaire apporterait un surplus en oxygène, qui ne s'explique pas sur le plan métabolique. En effet, il semblerait que l'augmentation de l'activité neuronale suite à un stimulus sensoriel n'entraîne que 10% de *spiking* supplémentaires, ce qui représenterait un faible surcoût énergétique (Lin *et al.*, 2010; Schölvinck *et al.*, 2008). De plus, la recapture en oxygène et en glucose à partir de la circulation sanguine reste stable, même en cas d'augmentation de l'activité neuronale (Madsen *et al.*, 1999; Powers *et al.*, 1996).

Déjà, alors qu'un précédent consensus statuait que l'énergie apportée pendant l'activité neuronale était liée à la glycolyse, le niveau de recapture de l'oxygène et du glucose, ainsi que la quantité d'ATP produit seraient finalement plus compatibles avec la phosphorylation oxydative (Lin *et al.*, 2010). Ensuite, une hypothèse justifiant ce surplus énergétique serait que le couplage neurogliovasculaire ne soit pas seulement un rétro-contrôle métabolique, mais aussi une commande « *feedforward* » provenant des neurones, à travers les neurotransmetteurs émis pendant l'activité neuronale, et plus particulièrement du glutamate, vers les vaisseaux sanguins, ce qui permettrait d'assurer le maintien de la production de métabolites vasoactifs (Attwell *et al.*, 2010). Ainsi, l'augmentation du flux sanguin cérébral serait nécessaire afin de réguler positivement la recapture de l'oxygène (Buxton and Frank, 1997). Or, l'oxygène est un paramètre important dans la régulation de la synthèse des produits d'activité de COX I (Harder *et al.*, 1996), ainsi que dans la production du NO (Stuehr *et al.*, 2004). Plus précisément, à des concentrations physiologiques en oxygène, il y aura préférentiellement une production d'EETs et de PGE₂, conduisant à une vasodilatation ; alors que lorsque cette concentration est diminuée, il y aura une production de 20-HETE qui favorisera la vasoconstriction (Attwell *et al.*, 2010). De plus, il a été montré qu'une diminution importante de l'oxygène au moment de l'activité neuronale pouvait conduire à une transition métabolique encourageant la glycolyse anaérobie, induisant une augmentation de la production de lactate et d'adénosine, qui ont eux aussi une action vasoactive (Caesar *et al.*, 2008; Gordon *et al.*, 2008).

Ainsi, il est très probable que le couplage neurogliovasculaire soit la conséquence d'un « *feedforward* » des neurotransmetteurs, dont le but est d'assurer le maintien de la concentration en oxygène et par extension le contrôle de la production en neuromodulateurs. Des données plus récentes montrent qu'au-delà de l'aspect métabolique, le couplage neurogliovasculaire pourrait permettre d'autres mécanismes intra-cérébraux, tels que l'élimination de molécules produites par l'activité cérébrale, comme le CO₂, le lactate, ou encore tau (Tarasoff-Conway *et al.*, 2015). Le couplage neurogliovasculaire aurait aussi un rôle dans la sécrétion et la circulation du liquide céphalo-rachidien (Drew, 2022), le maintien de la température cérébrale (Zhu *et al.*, 2006), ainsi que la régulation de la circulation du sang en tant de liquide non-newtonien (Wei *et al.*, 2016).

DYSFONCTION DU COUPLAGE NEUROGLIOVASCULAIRE

On retrouve des altérations du couplage neurogliovasculaire dans plusieurs contextes. D'abord, le couplage n'est pas uniforme dans l'ensemble du cerveau (Devonshire *et al.*, 2012). Il peut en effet être inversé, dans un cadre physiologique, dans l'hypothalamus (Roy *et al.*, 2021) et le striatum (Shih *et al.*, 2011), c'est-à-dire que le flux sanguin cérébral diminue suite à une augmentation de l'activité neuronale. Cependant, les altérations du CNGV interviennent la plupart du temps dans un contexte pathologique. Un découplage neurovasculaire sera diagnostiqué suite à une IRMf, associée à des tâches cognitives (Congxiyu Wang *et al.*, 2023). On peut le retrouver à proximité de tumeurs cérébrales (Agarwal *et al.*, 2021), mais aussi dans le cas de troubles psychiatriques (Sukumar *et al.*, 2020), après un AVC (Mikulis, 2013) ou dans le cadre d'une maladie neurodégénérative (Glodzik *et al.*, 2022; Nicolakakis *et al.*, 2008).

A. LIEN AVEC LA COGNITION

Dans quasiment toutes les étiologies, l'altération du couplage neurogliovasculaire est associée à une altération cognitive (Catchlove *et al.*, 2018; Shim *et al.*, 2015). En effet, il semblerait que la dysfonction de la réactivité cérébrovasculaire soit corrélée au degré de déclin cognitif (D. Kim *et al.*, 2021; Silvestrini *et al.*, 2006). De même, une étude comparative a montré que chez des patients présentant des altérations cognitives, la vasoréactivité cérébrale était altérée dans 6 protocoles sur 10 (Catchlove *et al.*, 2018). L'altération du CNGV serait ainsi un facteur prédictif du déclin de la vitesse de traitement de l'information et de la mémoire épisodique (Peng *et al.*, 2018).

Le lien entre le découplage neurogliovasculaire et le déclin cognitif pourrait avoir plusieurs origines. Avec l'âge, on observe l'altération des mécanismes de transport endothéliaux, ce qui diminuerait la recapture du glucose et de l'oxygène et entraverait l'élimination de molécules toxiques (Santisteban and Iadecola, 2025; Tarantini *et al.*, 2017). De même, on retrouverait dans plusieurs maladies neurodégénératives une altération du métabolisme du NO, qui serait responsable d'un découplage neurogliovasculaire (Gonçalves *et al.*, 2022; Lourenço *et al.*, 2017). Toutefois, il faut noter que l'apparition d'une altération de la réactivité cérébrovasculaire est souvent associée à des troubles du métabolisme, en particulier l'hypertension, le diabète de type 2 et, dans une moindre mesure, l'obésité (Gautam and Moradikar, 2025; Congxiyu Wang *et al.*, 2023).

Ainsi, en clinique, un déclin cognitif associé à un découplage neurogliovasculaire a déjà été observé, en présence d'hypertension (de Montgolfier *et al.*, 2020; Iadecola and Gottesman, 2019; Santisteban *et al.*, 2023) ou d'un diabète de type 2 (Barloese *et al.*, 2022; Feng and Gao, 2024; Mogi and Horiuchi, 2011).

L'état actuel de la littérature ne permet cependant pas de comprendre précisément les mécanismes qui associent le déclin cognitif, le découplage neurogliovasculaire et les troubles du métabolisme. Des études pré-cliniques, utilisant des modèles murins soumis à une alimentation enrichie en graisses animales montrent qu'il existe bien un lien entre le développement de troubles du métabolisme multiples et un découplage (Li *et al.*, 2013), mais peu d'études se concentrent sur l'impact cognitif de cette association et les raisons sous-jacentes à celle-ci.

COUPLAGE NEUROGLIOVASCULAIRE

Le couplage neurogliovasculaire est la résultante de la communication entre les neurones, les astrocytes et les vaisseaux, en réponse à une augmentation ou une diminution de l'activité neuronale, afin d'ajuster le flux sanguin cérébral. Au cours de l'augmentation de l'activité neuronale, du K⁺, de l'ATP et du glutamate vont être libérés dans l'espace péri-synaptique, et pourront agir, dans le cadre de ce couplage, soit sur d'autres neurones, soit sur les astrocytes, soit directement sur l'endothélium et les cellules musculaires lisses, afin d'induire une réponse vasoactive. Le tonus myogénique est un phénomène intrinsèque aux cellules musculaires lisses, qui va permettre de maintenir une pression intra-luminale viable.

Un découplage neurogliovasculaire pourrait survenir en présence de troubles du métabolisme, ce qui aurait pour conséquence un déclin cognitif.

PRESENTATION DE LA THESE & OBJECTIFS

Le lien entre les troubles du métabolisme et le déclin cognitif est aujourd'hui bien décrit dans la littérature. La nature de ce lien est cependant encore incertaine. De précédents travaux (Pétrault *et al.*, 2019) ont permis de montrer que le régime HFD et les troubles du métabolisme associés induisaient un déclin cognitif portant sur la mémoire de reconnaissance visuelle à court terme et la flexibilité de la mémoire, ainsi qu'une dysfonction de la dilatation des artères piales et des artérioles intra-parenchymateuses. L'absence de signes indiquant une rupture de la BHE et d'atrophie cérébrale écarte l'hypothèse d'accidents vasculaires cérébraux et de neurodégénération chez ces animaux. L'hypothèse retenue pour expliquer le lien entre toutes ces manifestations cliniques est un découplage neuroglivovasculaire. Du fait du type d'altération cognitive, l'étude du cortex préfrontal semble indiquée, puisqu'il s'agit du carrefour du traitement de l'information au sein du cerveau et qu'il pourrait être le siège des dysfonctionnements à l'origine du déclin cognitif observé.

Le glutamate est une cible pertinente pour étudier le NGVC. En effet, il est le neurotransmetteur excitateur prédominant du cortex préfrontal et a de plus des effets vasodilatateurs bien décrits. Dans la mesure où il a déjà été montré que le HFD pouvait induire une modification du système de recapture du glutamate (Valladolid-Acebes *et al.*, 2012), on peut donc supposer qu'une altération dans les voies de signalisation du glutamate pourraient entraîner un défaut du NGVC, dont les conséquences se traduiraient par une altération des capacités vasodilatatrices des artères, ainsi que la survenue d'un déclin cognitif dans un contexte de troubles du métabolisme.

L'objectif de mes travaux de thèse a consisté à **identifier des marqueurs cérébraux prédictifs en amont de l'apparition d'un déclin cognitif induit par les troubles du métabolisme**. Pour répondre à cet objectif, j'ai poursuivi la caractérisation métabolique, comportementale et cognitive des animaux du modèle déjà mis en place au sein du laboratoire. J'ai aussi suivi l'intégrité du couplage entre la réactivité vasculaire et la neurotransmission en étudiant la balance entre les signaux neurogliaux et endothéliaux dans le couplage et le découplage neurovasculaire en se concentrant sur les voies du glutamate, par l'inhibition des enzymes normalement actives. J'ai ensuite voulu mettre en évidence des signes de neuroinflammation causés par la consommation d'un régime alimentaire enrichi en graisses animales. Pour ce faire, une étude immunohistologique a été menée, en co-marquant COX II avec des marqueurs de différents types cellulaires : NeuN (neurones), GFAP (astrocytes activés), Iba1 (microglie)

et CD31 (cellules endothéliales des vaisseaux sanguins). Cette étude avait pour but de : montrer la répartition de l'expression de COX II au sein de l'unité neurogliovasculaire et mettre en évidence une éventuelle augmentation de l'expression de COX II avec le HFD ; et dans le même temps de montrer une éventuelle différence de représentation des types cellulaires inflammatoires avec une augmentation de la GFAP ou d'Iba-1, et donc de la neuroinflammation chez les individus HFD. Enfin, j'ai cherché à vérifier si les troubles du métabolisme perturbent la capacité de plasticité des synapses du cortex préfrontal, par des explorations électrophysiologiques sur tranches de cerveaux frais, en particulier l'étude de la potentialisation à long-terme.

MATERIEL ET METHODES

ANIMAUX

L'ensemble des protocoles de cette étude ont été réalisés dans le respect de la Directive Européenne 2010/63UE et ont été préalablement approuvés par le Comité d'Ethique en Expérimentation Animale (CEEA 75, APAFIS#19866–201903071722644v2). Les animaux sont hébergés dans une animalerie de statut conventionnel, sous des conditions contrôlées de température (21-24°C) et d'hygrométrie (40-70%) et avec un cycle jour/nuit de 12h-12h. L'accès à la nourriture (Sage, Augy, France) et à l'eau est *ad libitum*.

Dans ces conditions, notre équipe dispose d'une cohorte de souris mâles C57Bl6/J, constamment renouvelée afin de maintenir un roulement. Au cours de ce doctorat, 10 groupes de souris ont été inclus dans mon étude. Chaque groupe est composé de la façon suivante : sur 16 souris par groupe, 8 souris sont alimentées par un régime normal (*Normal Diet*, ND, Safe A04, **Figure 30A**) et 8 souris sont alimentées par un régime gras (*High Fat Diet*, HFD, Safe HF231, **Figure 30B**), à l'exception d'un groupe qui ne comprend que 8 souris sous ND (n = 152 souris au total).

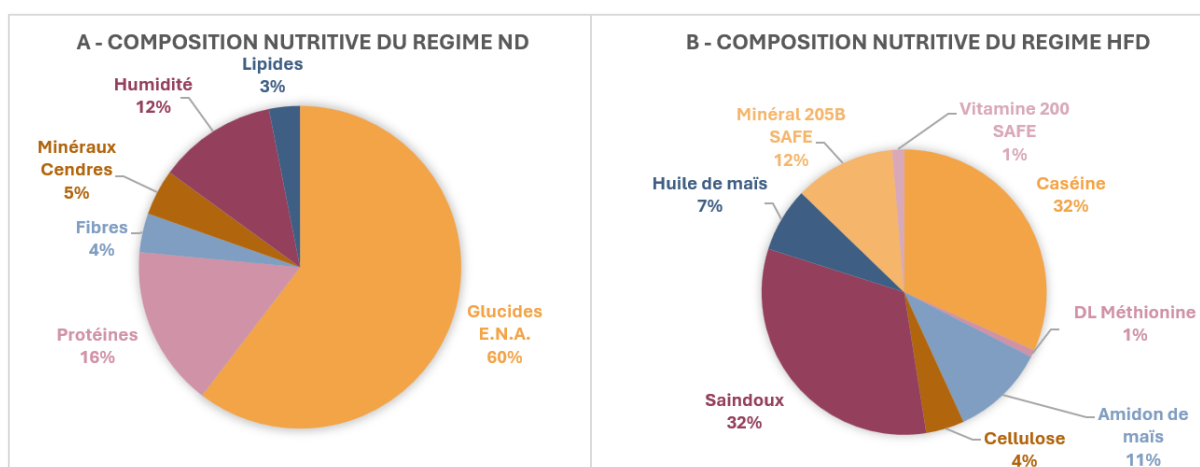


Figure 30 : Composition nutritive des régimes ND (A) et HFD (B).

A leur arrivée au laboratoire, les souris sont âgées de 8 semaines (M0) et pèsent entre 20 et 24 g. Après 4 jours d'habituation, elles sont placées sous régime ND ou HFD. Ces animaux sont suivis jusqu'à 6 ou 12 mois de régime et différents paramètres métaboliques et comportementaux sont évalués 6, 9 et 12 mois après le début du régime, afin de les caractériser.

CARACTERISATION DES ANIMAUX

Le protocole expérimental était le suivant (**Figure 31**) :

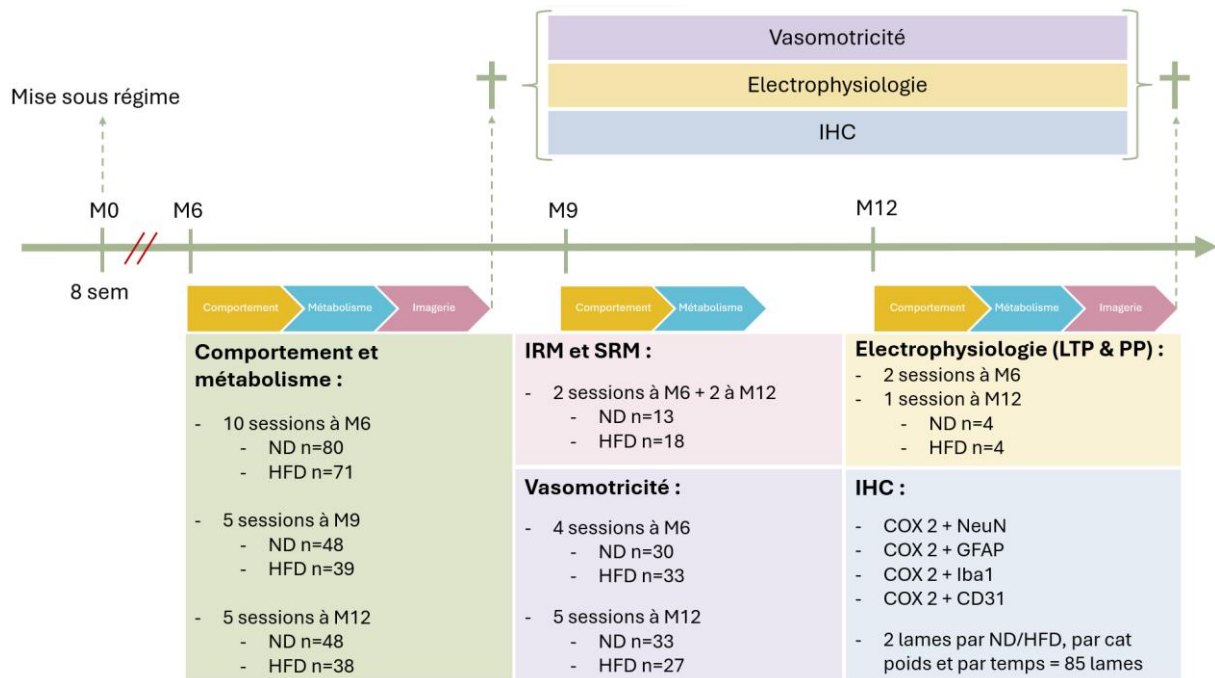


Figure 31 : Déroulé des expérimentations et nombres d'individus dans chaque étude.

SUIVI COMPORTEMENTAL ET COGNITIF

Le profil comportemental et cognitif (**Figure 32**) des souris est basé sur une batterie de tests (**Figure 32F**) se déroulant sur la plateforme Liife (*Lille In vivo Imaging and Functional Exploration*, UAR 2014-US 41). Ces tests ont eu lieu à M6, M9 et M12 afin d'observer l'évolution des paramètres observés au fur et à mesure de l'installation des troubles métaboliques.

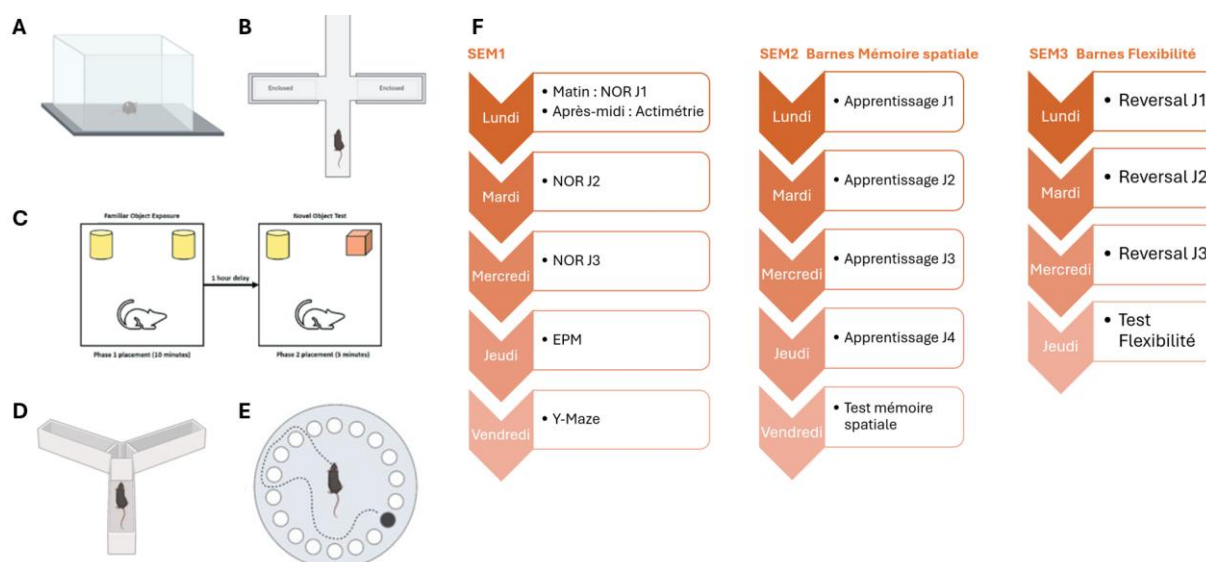


Figure 32 : Présentation du suivi comportemental et cognitif. A. Arène d'actimétrie. B. Labyrinthe en croix surélevé (EPM). C. Test de reconnaissance du nouvel objet (NOR). D. Labyrinthe en Y. E. Labyrinthe de Barnes. F. Déroulé type d'une session de tests comportementaux.

ACTIMETRIE

L'actimétrie (**Figure 32A**) est utilisée pour mesurer l'activité locomotrice spontanée des souris. L'animal est placé individuellement au centre d'une arène de 45x45x35 cm (Panlab, Bioseb, Vitrolles, France), dont les côtés, en plexiglas transparent sont élevés et le plancher est noir. L'arène émet des faisceaux infrarouges, ce qui permet d'enregistrer en direct les déplacements de souris. Cet enregistrement se fait sur une durée de 10 min et à son issue, la distance parcourue (en cm), le temps d'inactivité (en s), le nombre de redressements ainsi que les vitesses de déplacement sont mesurés.

LABYRINTHE EN CROIX SURELEVEE (OU ELEVATED-PLUS MAZE)

Le Labyrinthe en Croix Surélevée (EPM) est un test standard chez les rongeurs (**Figure 32B**), permettant d'évaluer leur prise de risque et leur caractère anxieux (Walf and Frye, 2007). Ce labyrinthe possède deux bras ouverts et deux bras fermés. Les souris ont tendance à préférer les espaces clos, ainsi, sur une période de 10 min, la fréquence d'entrée dans les bras ouverts (% Fréquence d'entrée dans les BO), et le temps passé dans ceux-ci sont mesurés (% Temps passé dans les BO), afin de déterminer le caractère plutôt désinhibé, ou au contraire, anxieux, de l'animal (Ethovision XT, Noldus, Wageningen, The Netherlands).

$$\% \text{ Fréquence d'entrée dans les BO} = \frac{\text{Nombre d'entrées dans les BO}}{\text{Nombre d'entrées dans les BO} + \text{dans les BF}}$$

$$\% \text{ Temps passé dans les BO} = \frac{\text{Temps passé dans les BO}}{\text{Temps passé dans les BO} + \text{Temps passé dans les BF}}$$

TEST DE RECONNAISSANCE D'UN NOUVEL OBJET (OU NOVEL OBJECT RECOGNITION)

Le test de reconnaissance d'un nouvel objet (NOR) permet d'évaluer la mémoire de reconnaissance visuelle à court terme (**Figure 32C**). Il est basé sur le fait que les rongeurs ont tendance à s'intéresser préférentiellement à un nouvel objet plutôt qu'à un objet familier (Antunes & Biala). Il se déroule sur trois jours, dont deux jours d'habituation et un jour de test. Le premier jour permet à la souris de s'habituer à l'arène (50x50x25 cm), pendant 10 min. Le deuxième jour, deux objets identiques sont disposés dans l'arène (dans le cas présent, des fioles en verre) pendant 10 min, ce qui permet à la souris de s'habituer à la présence d'objets. Enfin, le dernier jour, le test se découpe en deux phases : la première est une phase « d'acquisition », elle va permettre à la souris de se familiariser à deux objets identiques (deux « tours Légo » ou deux balles de golf à M6 et M12, deux bouchons de lessive ou deux capsules de café à M9) sur une période de 15 min. La seconde phase, dite aussi « phase de restitution », se déroule une heure plus tard, pendant 5 min. Pour cette dernière étape, un des objets a été changé dans chaque arène, (une balle de golf ayant été remplacée par une « tour Lego » ou inversement à M6 et M12, par exemple), ce qui implique que chaque souris est alors en présence d'un ancien objet et d'un nouvel objet. La souris est filmée lors de ces deux phases (Ethovision XT, Noldus, Wageningen, The Netherlands). L'exploration est retenue si l'animal se trouve à moins de 2 cm de l'objet et qu'il ne monte pas dessus. Si les souris passent moins de 20 secondes à explorer les objets pendant la première phase, elles sont exclues du test. Un index (défini ci-dessous) permet de déterminer la performance de chaque souris pendant la seconde phase du test.

$$\text{Index NOR} = \frac{\text{Temps Nouvel Objet} - \text{Temps Ancien Objet}}{\text{Temps Nouvel Objet} + \text{Temps Ancien Objet}} \times 100$$

LABYRINTHE EN Y

Le labyrinthe en Y (**Figure 32D**) permet d'évaluer la mémoire de référence spatiale du rongeur. Lors de la phase d'acquisition, qui dure 8 minutes, la souris a libre accès à 2 des 3 bras. Après un intervalle de 15 minutes, la souris est replacée dans le labyrinthe et a libre accès aux 3 bras pendant 5 minutes. Le test est fondé sur la préférence de l'animal pour la nouveauté, en l'occurrence ici le bras inexploré auparavant. La fréquence d'entrée dans le bras précédemment exploré et dans le bras inexploré, ainsi que le temps passé dans ceux-ci est mesurée. On calcule ensuite un index (défini ci-dessous) permettant de déterminer la performance de chaque souris pendant la seconde phase du test.

$$Index\ Y\ Maze = \frac{Temps\ Bras\ inexploré}{Temps\ Bras\ inexploré + Temps\ Bras\ exploré} \times 100$$

LABYRINTHE DE BARNES

Le labyrinthe de Barnes (**Figure 32E**) permet l'évaluation des capacités d'apprentissage et de la mémoire de référence spatiale chez les rongeurs. Ce dispositif peut être aussi utilisé pour évaluer la flexibilité cognitive (reversal). Ce test repose sur la tendance naturelle d'un rongeur à fuir les espaces ouverts/lumineux (aversifs). Il s'agit d'une plateforme blanche circulaire en PVC (diamètre : 122 cm), positionnée à 80 cm du sol. Elle comprend 40 trous de 5 cm de diamètre à intervalle régulier, à 4 cm du bord. Des indices spatiaux sont placés sur les murs de la pièce de test et ne sont jamais déplacés. La lumière dans la pièce est aversive (800 Lux), afin d'inciter les animaux à trouver la boîte d'échappement située sous l'un des trous (appelé « trou cible »), désigné aléatoirement pour chaque souris. Les animaux sont filmés pendant les essais (Ethovision XT, Noldus, Wageningen, The Netherlands), mais le scoring se fait manuellement, en direct.

La phase d'apprentissage consiste en 4 essais par jour pendant 4 jours. Au cours de l'apprentissage, l'animal utilise des indices spatiaux situés dans la pièce, pour retrouver le trou cible. L'essai est arrêté au moment où l'animal entre dans la boîte d'échappement, mais est automatiquement stoppé au bout de 3 minutes le cas échéant. L'animal est ensuite laissé pendant 1 minute dans la cache, afin d'encourager l'acquisition de son emplacement par rapport aux repères spatiaux.

Les paramètres retenus pendant la phase d'apprentissage sont :

- La latence primaire : le temps qu'il faut à l'animal pour trouver le trou cible
- La latence finale : le temps qu'il faut à l'animal pour entrer dans la boîte d'échappement
- Le nombre d'erreurs primaires : le nombre de trous explorés avant qu'il ne trouve le trou cible
- Le nombre d'erreurs finales : le nombre de trous explorés avant qu'il n'entre dans la boîte d'échappement

Le test de mémoire de référence spatiale a lieu le 5^{ème} jour. L'animal est filmé pendant 90 secondes, alors que la boîte d'échappement est retirée. Si l'animal a appris la position de la boîte d'échappement, il devrait passer plus de temps dans son cadran cible que dans le cadran opposé au trou cible. Ainsi, le temps passé dans le cadran cible, ainsi que le temps passé dans le cadran opposé sont comptabilisés.

Le labyrinthe de Barnes peut être utilisé sur une seconde semaine afin d'évaluer la flexibilité cognitive, pour un test appelé le « reversal ». Il comprend aussi une phase d'apprentissage (4 essais pendant 3 jours), pendant laquelle la boîte d'échappement est placée sous le trou à l'exact opposé de la semaine précédente pour chaque souris. Le test se déroule le 4^{ème} jour, dans les mêmes conditions que la semaine précédente. Les paramètres relevés lors du « reversal » sont identiques à la 1^{ère} phase de test.

Le labyrinthe de Barnes a l'avantage d'être moins stressant pour l'animal que le labyrinthe de Morris, et ne demande pas de restriction alimentaire contrairement au labyrinthe radial.

SUIVI METABOLIQUE

SUIVI DU POIDS

Les souris sont pesées tous les mois afin de permettre un suivi de leur prise de poids, puis classées en trois catégories de poids : poids standard (< 36,1 g, Sw), surpoids (entre 36,1 g et 43,7 g, Ov) et obésité (> 43,7 g, Ob). Ces catégories ont été établies par régression linéaire de la relation entre le poids corporel moyen et les poids du tissu adipeux viscéral, lors d'une précédente étude (Pétrault *et al.*, 2019). Toutes les expériences réalisées sont donc analysées en fonction du régime, mais aussi des catégories de poids.

TOLERANCE AU GLUCOSE

Les souris ont régulièrement été soumises à un test oral de tolérance au glucose (OGTT). Après 6 h de jeûne, la glycémie à jeun (T0, en mg/dL) a été déterminée avec un lecteur spécifique (Accu-Check Performa, Roche), par le prélèvement d'une goutte de sang au niveau de la veine caudale. Une solution de glucose à 0,1 g/mL à une dose de 2 g/kg leur est ensuite donnée grâce à une sonde de gavage. La glycémie est par la suite mesurée à différents temps (T10, T20, T30, T60, T90 et T120 minutes). Ce test nous permet de déterminer la capacité des souris à métaboliser le glucose.

DOSAGES METABOLIQUES

Plusieurs jours après la fin des tests comportementaux et de l'OGTT, les souris sont mises à jeun durant 6 h. Après anesthésie à l'isoflurane, un prélèvement de sang de 250 µL est effectué au niveau du sinus rétro-orbital et centrifugé afin d'en récupérer le plasma. A partir de celui-ci, des mesures de cholestérol total, ainsi que le taux de triglycérides sont effectuées grâce à un kit d'analyse enzymatique colorimétrique (ThermoFisher Scientific, Illkirch, France).

STEATOSE HEPATIQUE

Après mise à mort (méthode voir p.107), des biopsies de foies sont prélevées et fixées pendant 24 h dans du paraformaldéhyde (PFA) 4 %, déshydratées dans du sucrose 30 %, enrobées dans de la colle OCT puis congelées à -80 °C. Des coupes de foies de 8 µm d'épaisseur sont

effectuées au cryostat (Leica CM3050S) puis sont déposées sur lames. La coloration Oil Red O (protocole en **Figure 33**) met en évidence les gouttelettes lipidiques au sein du tissu. Une solution mère Oil Red O (50 mg/ml) a été préparée à partir de poudre d'Oil Red O (Sigma-Aldrich) dissoute dans de l'alcool isopropylique. Après 48h d'agitation, la solution est filtrée et diluée à une concentration de 3 mg/mL. À la suite du dernier rinçage dans l'eau, les lames sont montées dans un milieu aqueux glycergel (Agilent, Dako).

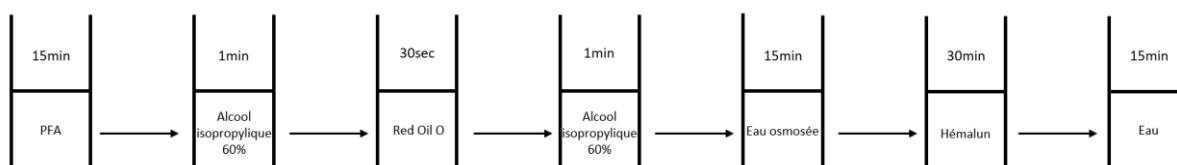


Figure 33 : Protocole de coloration à l'huile rouge.

Les coupes de foie sont observées (x20) et scannées sur un microscope (Zeiss Axioscan) et photographiées. Les gouttelettes lipidiques ont été quantifiées par la densité optique de la coloration Oil Red O à l'aide d'Image J.

PRESSIION ARTERIELLE

La pression artérielle systolique, diastolique et moyenne, ainsi que le pouls des souris ont été mesurés au niveau de l'artère caudale dès M6, puis tous les trois mois. Pour ce faire, elles ont été placées dans un appareil de mesure (Blood Pressure Analysis System, Physiological Research Instruments, USA, **Figure 34**). Dix mesures ont été retenues, tous les jours pendant trois jours, afin de pouvoir obtenir une mesure moyenne de la pression artérielle moyenne et du pouls.



Figure 34 : Appareil de mesure de la pression artérielle.

IMAGERIE *IN VIVO*

Les examens en résonnance magnétique ont eu lieu à M6 et à M12, à distance des tests métaboliques et comportementaux, en utilisant une IRM 7T (Brüker Biospec 70/20, Ettlingen, Allemagne). L'anesthésie a été induite en utilisant 2 % d'isoflurane et a été maintenue grâce à un masque à 1-1,5 % (air à 1,5L/min) pendant l'acquisition, en fonction de la fréquence respiratoire et la température basale des animaux était maintenue à 36-37°C. Les animaux étaient maintenus à l'aide de barres d'oreilles, afin de maintenir leur position tout au long des acquisitions et de permettre une homogénéité de positionnement entre les animaux.

Les mesures suivantes ont été enregistrées dans le cortex préfrontal et l'hippocampe :

- Volumétrie grâce à une acquisition T2 3D
- Perfusion sanguine cérébrale par une séquence « *Pulsed Arterial Spin Labelling* » (PASL)

VOLUMETRIE T2 3D

Le calcul du volume spécifique du cortex préfrontal et de l'hippocampe a été réalisé selon la même méthodologie que dans Puy *et al.*, 2022 (**Figure 35A**). L'inhomogénéité du champ des images acquises en T2 a été corrigée en utilisant l'algorithme N4 (Tustison *et al.*, 2010). Il y a ensuite eu une phase de diminution du bruit, grâce à un filtre multi-résolution (Coupé *et al.*, 2012). Cela a permis une extraction automatique du masque cérébral et de la segmentation du cerveau (Figure 34A) grâce à l'ANTS (*Advanced Normalization Tools package*) et de l'atlas Cermep (Lancelot *et al.*, 2014). Toutes les acquisitions sont ensuite passées par un contrôle visuel et une correction manuelle quand cela était nécessaire, par une opératrice experte (Clémence Leboullenger, LiiFE, exemple **Figures 35B-C**).

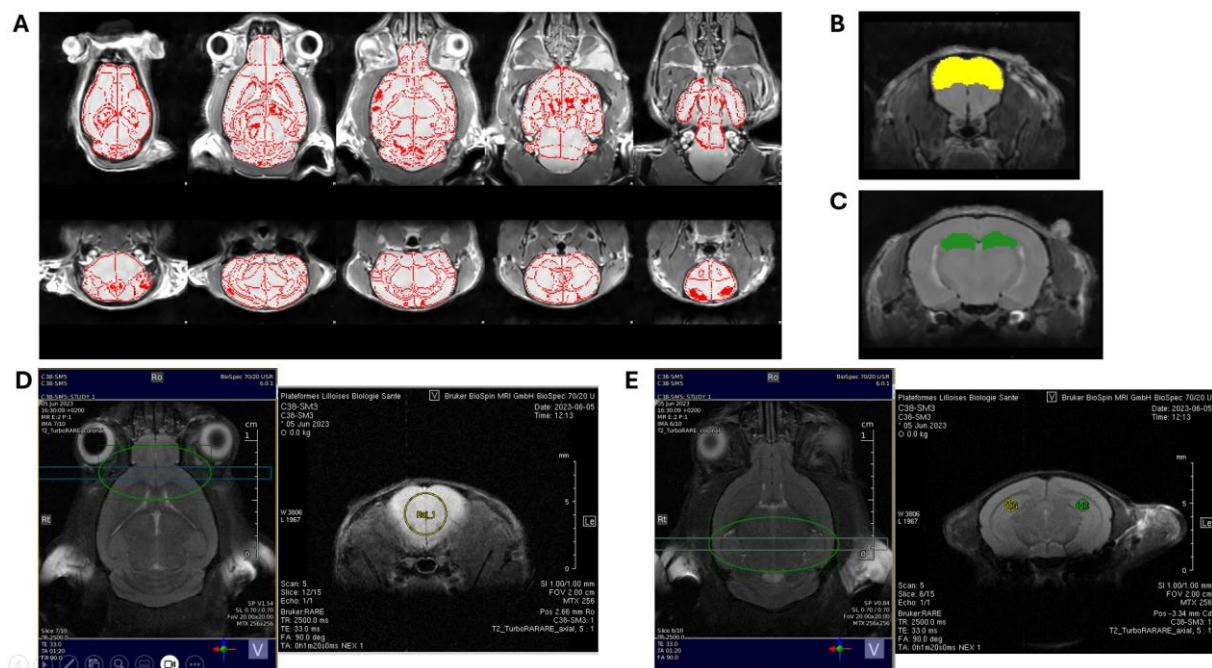


Figure 35 : Cartographies IRM. A. Représentation d’une segmentation en séquence T2 utilisée pour la volumétrie 3D. Masques permettant la délimitation du cortex préfrontal (**B**) et de l’hippocampe (**C**). Zones d’intérêt pour les mesures de la perfusion du cortex préfrontal (**D**) et de l’hippocampe (**E**).

PERFUSION SANGUINE (PASL)

La séquence PASL permet de visualiser l’eau contenue dans le sang artériel en inversant la magnétisation du sang par le biais d’ondes radiofréquences. Après un délai (Inversion Time, ou TI), pendant lequel le sang marqué perfuse le tissu cérébral, des images « marquées » sont acquises, séparément d’images « contrôles », acquises précédemment et permettant de définir la zone où la mesure sera faite, à savoir le cortex préfrontal (**Figure 35D**) et l’hippocampe (**Figure 35E**). Le flux sanguin cérébral se quantifie alors en mL/100 g/min.

SPECTROSCOPIE A RESONANCE MAGNETIQUE (SRM)

Pour la spectroscopie à résonance magnétique, le placement correct des animaux dans l’appareil a été confirmé à l’aide d’une acquisition en écho de spin rapide. Des séquences anatomiques T2 en coronal et en axial ont été faites afin de positionner le voxel d’acquisition de la SRM ($2 \times 2 \times 1,5 \text{ mm}^3$) dans la région antérieure du cerveau (temps de répétition (TR)/temps d’écho (TE) = 2500/33 ms, coupe de champ = 4 cm, encodée par une matrice de 256×256 , pour 16 coupes de 0,5 mm).

L'acquisition de la SRM et son post-traitement ont été faits en utilisant les séquences STEAM (Unsuppressed and suppressed STimulated Echo Acquisition Mode ; TR/TE = 3500/3 ms, NEX = 512). Avant chaque acquisition « Unsuppressed », un ajustement de second ordre a été effectué. La suppression de l'eau a été réalisée à l'aide de la technique VAPOR (Variable Pulse power and Optimized Relaxation delays), et aucun module de suppression du volume extérieur n'a été utilisé. Les pics d'eau obtenus avec des acquisitions non supprimées ont été utilisés pour vérifier la résolution spectrale et comme référence interne pour estimer la quantité de chaque métabolite. Le rapport signal sur bruit (Single Noise Ratio, SNR) des spectres pour les groupes ND et HFD était respectivement le suivant : 45.39 ± 11.76 vs 43.83 ± 10.88 . La quantification a pris en compte l'aire sous la courbe des spectres. La qualité du spectre a permis l'évaluation du signal pour les métabolites suivants (**Figure 36**) : Glu (Glutamate (1) : 2,323 ppm et Glutamate (2) : 2,050 ppm), Gln (Glutamine (1) 2,424 ppm et Glutamine (2) : 2,096 ppm), le Glx commun (Glu + Gln : 3,750 ppm), et les lipides insaturés ($-\text{CH}_2$: 1,502 ppm) et de lipides saturés ($-\text{CH}_3$: 0,885 ppm). Le post-traitement des données de SRM a été réalisé à l'aide du logiciel JMRUI 5.2, tandis que l'algorithme AMARES (*Advanced Method for Accurate, Robust, and Efficient Spectral fitting*) a été utilisé pour la quantification des principaux métabolites.

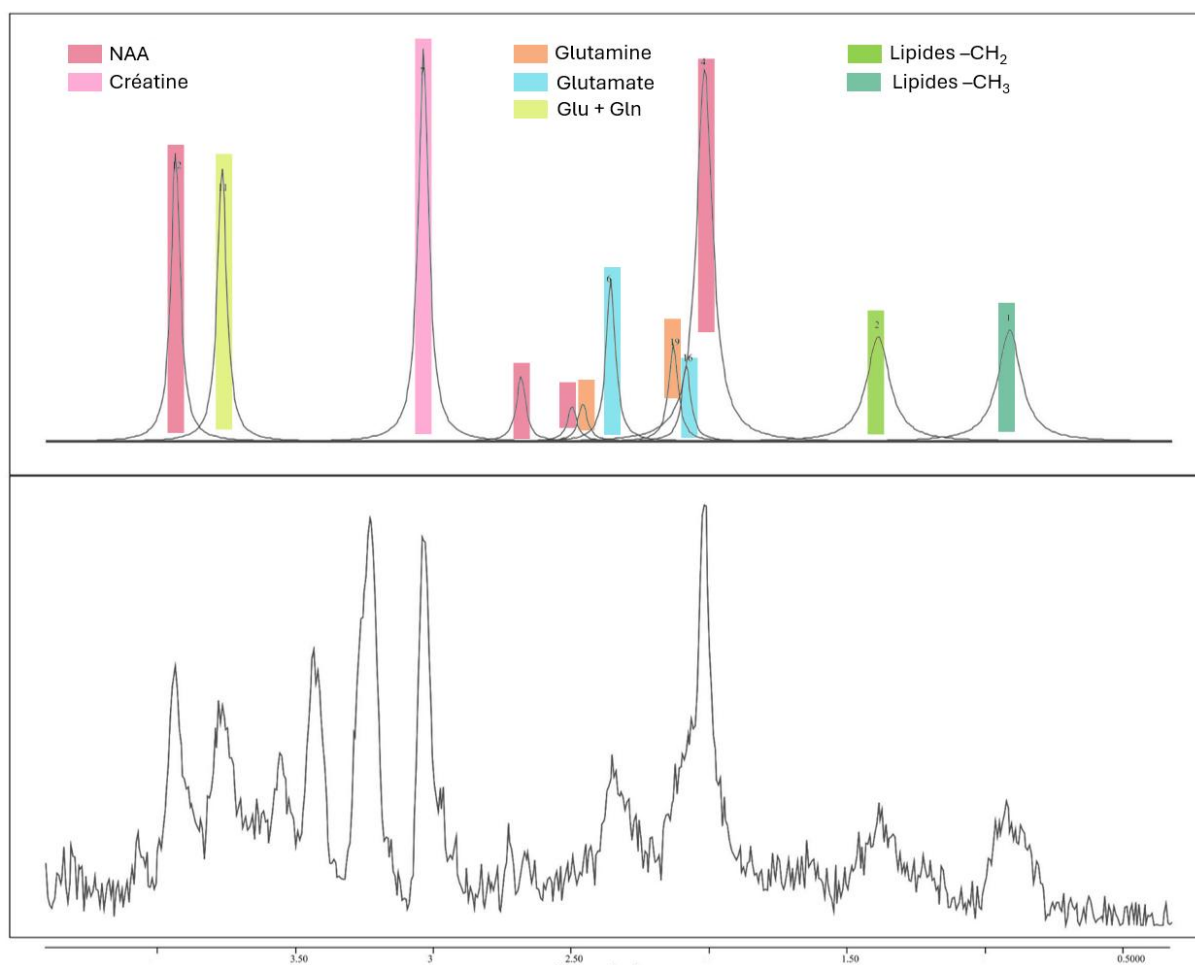


Figure 36 : Description des pics de SRM d'intérêt. En haut, le graphe des pics individuels et la molécule à laquelle ils correspondent. En bas, le spectre original.

ETUDE DE LA VASOMOTRICITE CEREBRALE

MISE A MORT DES ANIMAUX

Les souris ont été sacrifiées à la fin des tests comportementaux et métaboliques par une injection intrapéritonéale (IP) de sodium pentobarbital (Dolethal, 182,2 mg/kg). Le foie ainsi que les tissus adipeux viscéraux (TAV, péri-gonadiques et périrénaux) ont été prélevés, puis pesés. Le cerveau est également prélevé.

METHODES D'EXPLORATION VASCULAIRE *EX VIVO*

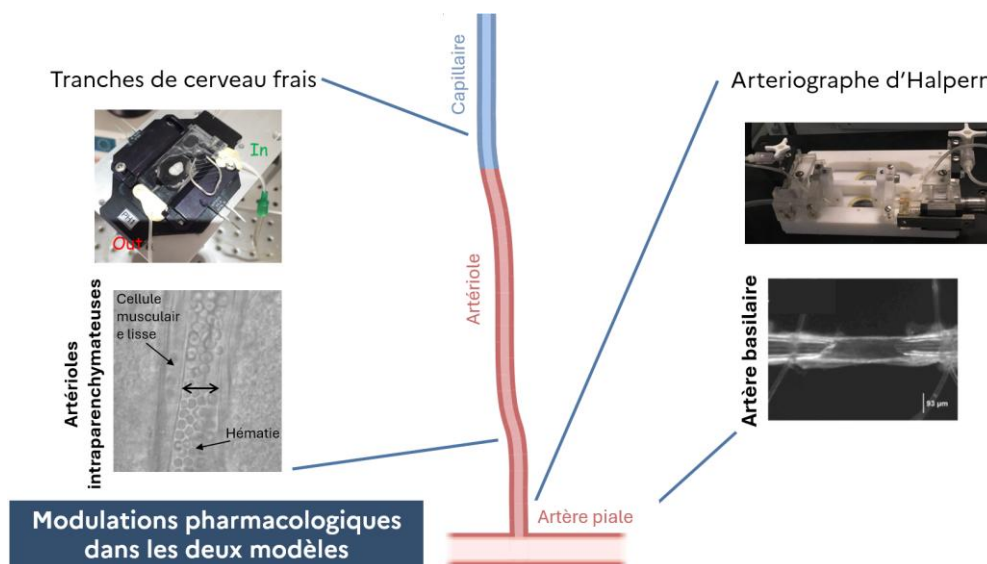


Figure 37 : Méthodes d'exploration vasculaire *ex vivo*.

L'étude des voies vasodilatatrices du glutamate est réalisée par deux techniques (**Figure 37**). L'analyse du rôle du glutamate dans le couplage neurogliovasculaire se fait par étude de la vasomotricité sur tranche de cerveau frais, qui permet de suivre l'évolution du diamètre des artéioles intra-parenchymateuses en fonction du contexte pharmacologique, dans le cortex préfrontal. La vasomotricité de l'artère basilaire est étudiée à l'aide de l'artériographe d'Halpern.

VASOMOTRICITE DE L'ARTERE BASILAIRE

La vasoréactivité a pu être mesurée grâce à l'artériographe d'Halpern (Living System Instrumentation, Burlington, USA), sur une portion proximale de l'artère basilaire, perfusée

avec une solution de Krebs oxygénée avec un mélange 20% O₂/5% CO₂/balance N₂ (en mM) : 119 NaCl, 24 NaHCO₃, 4,7 KCl, 1,18 KH₂PO₄, 1,17 MgSO₄, 7 H₂O, 10 glucose, 1,6 CaCl₂, pH = 7.4, maintenue à 37°C. L'artère est attachée à deux canules de verre (une distale et une proximale) à l'aide de fils de nylon. La canule distale est fermée, afin de travailler en condition « no flow ». La canule proximale est connectée à un transducteur de pression, une petite pompe péristaltique et à une servocommande qui mesure et ajuste continuellement la pression transmurale. L'ensemble du système d'artériographie est placé sur la platine d'un microscope inversé équipé d'une caméra. Le diamètre intra-luminal est mesuré par analyse de la vidéo, en direct. Le segment d'artère est stabilisé dans ces conditions pendant 1 heure, à une pression intra-luminale fixée à 20 mmHg.

Mesure du tonus myogénique

Le tonus myogénique de l'artère basilaire est mesuré en augmentant la pression intra-luminale par paliers de 25 mmHg, à 25, 50, 75 et enfin 100 mmHg, tout en suivant l'évolution du diamètre intra-luminal (Diamètre actif). A la fin de l'expérience, de la papavérine 100 mM (Pap, Sigma-Aldrich), un inhibiteur des phosphodiesterases, est ajouté au milieu avant de répéter les paliers de pression, afin d'induire une augmentation passive du diamètre intra-luminal (Diamètre passif). Les résultats du tonus myogénique sont exprimés en pourcentage (% tonus) :

$$\% \text{ tonus} = \left(1 - \frac{\text{Diamètre actif}}{\text{Diamètre passif}} \right) \times 100.$$

VASOMOTRICITE SUR TRANCHES DE CERVEAU FRAIS

Le cerveau des souris est prélevé et plongé immédiatement dans une solution de liquide céphalo-rachidien artificiel froid (aCSF) (en mM) : 124 NaCl, 3,5 KCl, 2 MgSO₄, 1,25 NaH₂PO₄, 2 CaCl₂, 26 NaHCO₃, 11 glucose, H₂O 18MΩ (pH 7,4), continuellement équilibré avec du carbogène 95% O₂, 5% CO₂. Il est ensuite coupé en tranches coronales de 300µm d'épaisseur au niveau du cortex préfrontal, à l'aide d'un vibratome (Warner Instruments, Harvard Apparatus, Les Ulis, France). Les coupes sont laissées dans une chambre contenant de l'aCSF équilibré à température ambiante (20-22°C) pendant 30 à 60 minutes pour stabilisation. Les tranches de cerveaux sont transférées dans la chambre de perfusion (Warner Instruments,

Harvard Apparatus, Les Ulis, France) où elles sont continuellement perfusées (7mL/min) avec de l'aCSF équilibré, à l'aide d'une pompe péristaltique et maintenues par une grille de nylon. Les artérioles du cortex préfrontal sont observées sur un microscope à contraste interférentiel différentiel (DIC-IR, Leica DMLSF), équipé d'une caméra sensible aux infra-rouges (LUMENERA INFINITY 3S-1URM, MicroMécanique SAS, France). Les vidéos des expériences sont numérisées par le logiciel Lumenera Capture (Ottawa, Canada) pour mesurer ultérieurement le diamètre basal intra-luminal du microvaisseau (diamètre de repos observé pendant 2 minutes) et les changements de diamètre suite à la perfusion des différentes substances pharmacologiques.

Sélection des vaisseaux

Les vaisseaux observés pendant la vasomotricité sur tranches de cerveau frais sont des artérioles intra-parenchymateuses. Comme expliqué précédemment, ces vaisseaux peuvent avoir une apparence et un diamètre différent en fonction de leur localisation. Les artérioles ont donc été sélectionnées sur des critères visuels, notamment la présence de cellules musculaires lisses, visibles au microscope. Les artérioles ont ensuite été classées en 3 catégories, les petites artérioles (PA, **Figure 38A**), les artérioles moyennes (AM, **Figure 38B**) et les grosses artérioles (GA, **Figure 38C**), en fonction de leur diamètre.

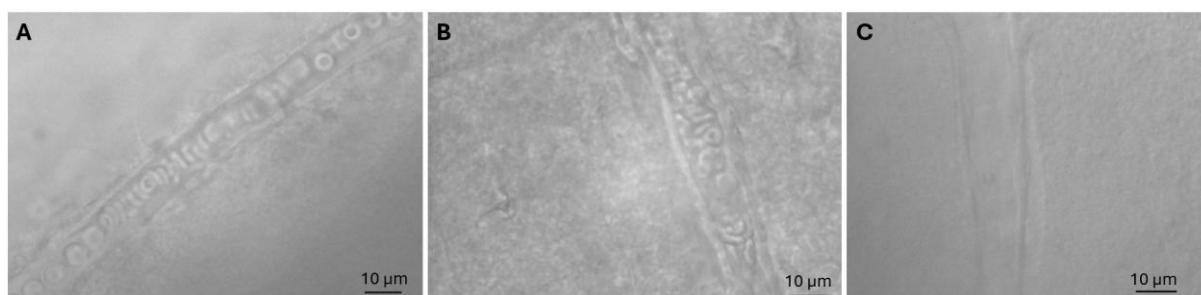


Figure 38 : Représentation de vaisseaux sélectionnés pour l'étude de la vasomotricité sur tranches de cerveau frais. A. Petite artériole. B. Artériole moyenne. C. Grosse artériole.

Modulations pharmacologiques

Afin d'assurer un tonus au sein des vaisseaux dans ce système, qui ne permet pas de maîtriser la pression intravasculaire, un agent pré-contractant est utilisé tout au long de l'expérience. La pré-contraction des vaisseaux a été assurée avec soit de la phényléphrine 100 μM (Sigma-Aldrich) ou un analogue du thromboxane A2 : l'U46619 2,5 μM (Tocris Biosciences). Ce

dernier induit une contraction plus stable et puissante que la phényléphrine, plus proche du tonus myogénique (Angus *et al.*, 1992). L'effet maximal du glutamate est induit après la pré-contraction en utilisant du glutamate 100µM (Sigma-Aldrich). Des inhibiteurs des enzymes impliquées dans les voies glutamatergiques ont été utilisés (**Tableau 3**).

Tableau 3 : Inhibiteurs enzymatiques utilisés pour la modulation pharmacologique des études de vasomotricité sur tranches.

Nom	Cible	Concentration	Fournisseur
SC560	COX I	100 nM	Merck
NS398	COX II	25 µM	Merck
Nω-Nitro-L-Arginine (L-NNA)	nNOS	10 µM	Sigma-Aldrich

Analyse

L'analyse de la vasomotricité sur tranches de cerveau frais se fait *a posteriori*. Le diamètre intraluminal des artérioles intra-parenchymateuses observées est mesuré à chaque étape du protocole. Cette valeur est la moyenne des mesures faites à plusieurs endroits du vaisseau (1 à 4 repères par vaisseau). Le pourcentage d'augmentation (%_{aug}) du diamètre par le glutamate est ensuite calculé :

$$\%aug = \frac{\text{diamètre glu} - \text{diamètre précontracté}}{\text{diamètre précontracté}} \times 100$$

Afin de standardiser mon analyse, j'ai mis en place un système de "cut-off". Cela permet le calcul d'un pourcentage de diminution du diamètre (%_{dim}), représentatif de l'état de réactivité de chaque vaisseau observé. Pour mon étude, je ne conserve donc que les expériences dont le pourcentage de diminution de diamètre est supérieur à 3 %, afin de garantir que l'étude ne porte que sur les micro-vaisseaux réactifs.

$$\%dim = \frac{\text{diamètre précontracté} - \text{diamètre de repos}}{\text{diamètre de repos}} \times 100$$

ELECTROPHYSIOLOGIE SUR TRANCHES DE CERVEAU FRAIS

MISE A MORT ET PREPARATION DES TRANCHES DE CERVEAU

Pour les études d'électrophysiologie, la mise à mort des animaux se faisait par une injection intrapéritonéale (IP) d'une solution de kétamine (100 mg/kg) et xylazine (10 mg/kg), suivie d'une injection intra-cardiaque de solution de coupe (en mM) : 93 NMDG, 2,5 KCl, 30 NaHCO₃, 20 HEPES, 25 glucose, 5 sodium ascorbate, 2 thiourée, 3 sodium pyruvate, 10 MgSO₄ (7H₂O), 1,2 NaH₂PO₄, 0,5 CaCl₂, H₂O 18MΩ (pH 7,4). La solution de coupe est injectée froide (environ 3°C), afin de contribuer au refroidissement du cerveau avant la coupe. L'injection se fait jusqu'à remplacement complet du sang circulant, contrôlé par un blanchissement du foie et le passage de la solution translucide à la sortie de l'oreillette gauche (15 à 20 mL de solution de coupe sont nécessaires). Les prélèvements et la pesée du foie et des tissus adipeux (TAV, péri-gonadiques et périrénaux) sont réalisés comme décrit précédemment.

Le cerveau des souris est prélevé et plongé immédiatement dans la solution de coupe froide, continuellement équilibrée avec du carbogène 95% O₂, 5% CO₂. Il est ensuite coupé en tranches coronales de 300μm d'épaisseur au niveau du cortex préfrontal, à l'aide d'un vibratome (Warner Instruments, Harvard Apparatus, Les Ulis, France). Les coupes sont laissées dans une chambre contenant de l'aCSF équilibré avec du carbogène et à température ambiante (20-22°C) pendant 2 heures pour stabilisation.

DEROULE DE L'EXPERIENCE

INSTALLATION

Les tranches de cerveau sont transférées dans la chambre de perfusion où elles sont continuellement perfusées (7mL/min) avec de l'aCSF équilibré chauffé (30-32°C). Elles sont maintenues par une grille de nylon. Le cortex préfrontal est observé sur le même microscope que lors des expériences de vasomotricité, en lumière blanche (sans le filtre infra-rouge). L'acquisition des signaux électrophysiologiques se fait grâce au logiciel ClampEx 11 (pCLAMP 11 Software Suite, Molecular Devices, San Jose, USA).

Le cortex préfrontal péri-limbique représentait notre zone d'étude (**Figure 39A**), puisqu'il reçoit des afférences monosynaptiques et polysynaptiques de l'hippocampe (Jin & Maren, 2015).

L'électrode de stimulation était placée au niveau de la couche granulaire, afin de stimuler les corps cellulaires neuronaux. L'électrode d'enregistrement était quant à elle placée le long des fibres neuronales, visibles au microscope (**Figure 39B**).

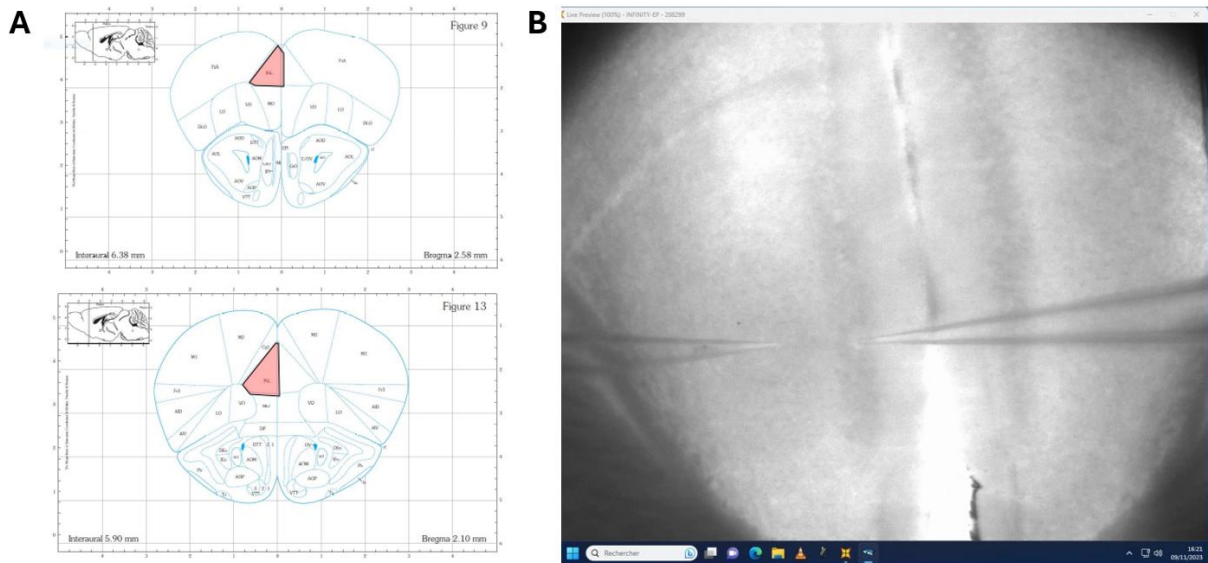


Figure 39 : Zone d'étude lors des expériences d'électrophysiologie. A. Délimitation de la zone d'intérêt (cortex préfrontal péri-limbique). **B.** Positionnement des électrodes avec à gauche, l'électrode d'enregistrement et à droite, l'électrode de stimulation.

CHOIX DES SIGNAUX

La mise en place des protocoles d'électrophysiologie au sein du laboratoire nous a permis de définir des conditions pour l'exploitation des potentiels d'excitation post-synaptiques (fEPSPs) enregistrés.

1. Il y a une réponse à la stimulation (présence d'un fEPSP)
2. Cette réponse est décalée par rapport à la stimulation (présence d'une fibre de Volley)
3. L'amplitude du fEPSP est suffisamment importante (au minimum 0,6 mV)
4. L'amplitude du fEPSP est modulable en fonction de l'intensité de la stimulation

PULSES APPARIES (PP)

L'étude des pulses appariés permet de déterminer les capacités de plasticité pré-synaptique, puisqu'elle permet notamment d'observer une facilitation par pulses appariés (PPF), c'est-à-dire l'augmentation de l'amplitude du fEPSPs quand deux stimulations de même intensité se font consécutivement (**Figure 40**). Elle est le résultat d'une augmentation transitoire de la probabilité de la libération de vésicules au niveau de l'élément pré-synaptique, du fait d'une concentration résiduelle en calcium supérieure à l'état basal (Satake *et al.*, 2012).

L'étude des PP pouvant être modulée par plusieurs facteurs, plusieurs fréquences de délivrance des stimulations ont été mesurées, entre 500 et 20 ms.

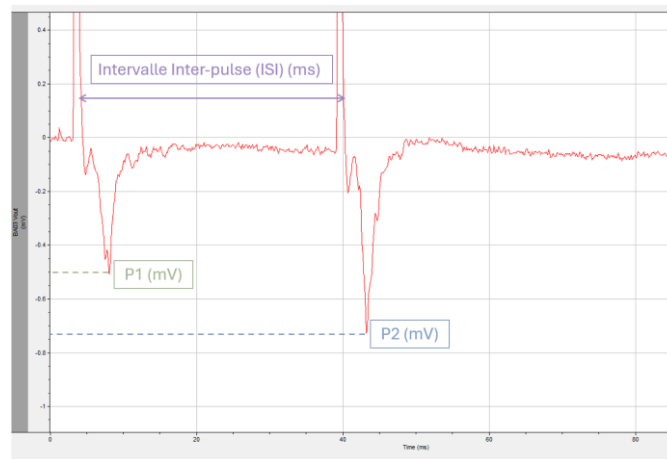


Figure 40 : Représentation d'un enregistrement de pulses appariés.

POTENTIALISATION A LONG-TERME (LTP)

Comme expliqué précédemment, la LTP est le processus cellulaire à la base de la plasticité synaptique. Elle repose sur le fait qu'à la suite d'une stimulation haute fréquence (HFS), les fEPSPs enregistrés dans une même zone auront une plus grande amplitude que précédemment, ce qui serait le reflet d'un renforcement de la connectivité synaptique d'un réseau de neurones.

Notre protocole comprenait 4 stimulations par minute, permettant de calculer un fEPSP moyen sur 4 mesures. Après avoir observé l'amplitude maximale de l'EPSP (amplitude max) en augmentant l'intensité de la stimulation, une baseline à 40 % de cette amplitude max doit être maintenue pendant au minimum 20 minutes. Le protocole de stimulation est ensuite

changé pour provoquer la HFS : 10 trains de 10 stimulations durant 3 secondes, répétés toutes les minutes pendant 3 minutes. Le protocole de stimulation permettant la baseline est ensuite ré-appliqué et les fEPSPs sont enregistrés pendant 1 heure.

Les paramètres observés lors du protocole de LTP sont l'amplitude du fEPSP (mV), la pente (ou *slope*) de l'EPSP (mV/ms), l'amplitude de la fibre de Volley (μ V). La qualité de l'expérience est représentée par le rapport de l'amplitude de la fibre de Volley sur la *slope*.

IMMUNOHISTOCHEMIE (IHC)

A la mise à mort, les animaux sont perfusés avec du sérum physiologique hépariné, puis les cerveaux prélevés sont fixés pendant 24 h dans du paraformaldéhyde (PFA) 4 %, déshydratés et préservés dans du sucrose 30 % puis plongés pendant 1 minute dans de l'isopentane à -40°C. Ils sont ensuite stockés à -80°C. Des coupes de cerveau de 20 μ m d'épaisseur sont effectuées au cryostat (Leica CM3050S) puis sont déposées sur lames.

Un protocole d'immunohistochimie a été mis en place afin d'étudier la colocalisation de COX II avec des marqueurs de plusieurs types cellulaires présents dans le cortex préfrontal, à savoir : NeuN (marqueur des neurones), GFAP (marqueur des astrocytes activés), Iba-1 (marqueur de la microglie) et CD31 (marqueur des cellules endothéliales vasculaires).

Les lames de cerveaux sont mises à température ambiante avant de passer par une étape de démasquage des sites antigéniques. Après le blocage des sites non spécifiques à l'aide de sérum de cheval, l'incubation avec les anticorps primaires anti-NeuN, anti-GFAP, anti-Iba-1 et anti-CD31 (**Tableau 4**) se fait pendant une nuit (12h) 4°C, en chambre humide. Après rinçages, l'incubation avec les anticorps secondaires (**Tableau 5**) se faisait pendant 1h à température ambiante. Le marquage anti-COX II se fait dans un second temps, l'anticorps étant produit chez la souris, le protocole du kit M.O.M (Mouse on Mouse, Vector Laboratories, BMK-2202) a été suivi. Les lames étaient ensuite protégées par une lamelle, par l'intermédiaire d'un liquide de montage Vectashield + DAPI (H-1200-10, Vector Laboratories, Inc.).

Tableau 4 : Anticorps primaires

Cible	Fournisseur	Référence	Concentration	Espèce hôte
COX II	Santa Cruz	Sc376861 (lot C2024)	1 : 50	Souris
GFAP	InVitrogen	PA5-143587	1 : 1000	Goat
NeuN	Biotechne	NBP3-05554	1 : 2000	Goat
Iba-1	Novus Biologicals	NB100-1028	1 : 1000	Goat
CD31	BD Pharmigen	557355	1 : 1000	Rat

Tableau 5 : Anticorps secondaires

Cible	Fournisseur	Référence	Longueur d'onde (nm)	Concentration	Espèce
IgG Souris	Invitrogen	A11061	568	1 : 400	Lapin
IgG Goat	Invitrogen	A11055	488	1 : 400	Âne
IgG Rat	Invitrogen	A21208	488	1 : 400	Âne

Tableau 6 : Nombre d'individus de chaque catégorie de poids et de régime à chaque temps inclus dans l'étude immunohistochimique.

	ND M12	HFD M12	ND M6	HFD M6
Standard	2	2	2	2
Surpoids	2	2	2	2
Obèses	2	1	/	/

Les coupes de cerveau sont observées (x40) sur un microscope confocal (Zeiss LSM 980 Airyscan2) et photographiées avec la technologie LSM Plus. Un comptage automatique des cellules des différents types cellulaires a été mis en place avec le logiciel Fiji ImageJ (version 2.16.0), par la détection des noyaux (marqués au DAPI) et de leur environnement (macro réalisée par Antonino Bongiovanni - Plateforme de microscopie photonique - UAR 2014 US 41). Un contrôle manuel a ensuite été réalisé sur chaque image.

ANALYSES STATISTIQUES

Toutes les valeurs sont exprimées en moyenne $\pm$ déviation standard rapportée à la moyenne (S.E.M.). Les analyses statistiques ont été faites en utilisant le logiciel GraphPad Prism 10 (GraphPad Software Inc., La Jolla CA, USA). Le seuil de significativité a été placé à $p < 0.05$. La normalité a été évaluée à l'aide du test d'Agostino et Pearson.

FIGURES

Sauf indication contraire, tous les schémas présentés dans ce manuscrit ont été générés avec le logiciel BioRender.

RESULTATS

Comme présenté dans l'introduction de ce manuscrit, mon travail de thèse a reposé sur plusieurs axes expérimentaux. D'abord, tout au long de ma thèse, au fil des sessions d'animaux, leur suivi métabolique, comportemental et cognitif a été effectué tous les trois mois. En parallèle, un premier projet visait à étudier les altérations cérébrovasculaires induites par le HFD et les troubles du métabolisme. A sa suite, deux projets ont émergé : un projet immunohistochimique visant à observer l'expression de COX II et d'autres facteurs de neuroinflammation dans le cortex préfrontal ; et un dernier projet visant à développer l'électrophysiologie sur tranches de cerveau frais dans notre laboratoire et à obtenir des données de références dans notre modèle.

CARACTERISATION DE LA COHORTE

PROFIL METABOLIQUE

DES TROUBLES DU METABOLISME IMPORTANTS APPARAISSENT APRES 6 MOIS DE REGIME HFD

Avant la mise sous régime ND ou HFD (M0), le poids corporel de toutes les souris est en moyenne de $23,51 \pm 0,21$ g. Avec le temps, la prise de poids est significativement plus importante dans le groupe HFD que chez les individus du groupe ND ($F_{(1, 625)} = 210,4$, $p < 0,001$, **Figure 41A**). Chez les souris sous HFD, une augmentation du poids des masses adipeuses viscérales est observée, le régime étant un facteur discriminant ($F_{(1, 143)} = 139,3$, $p < 0,001$, **Figure 41B, Tableau 7**). Comme le montre la **Figure 41C**, la coloration à l'huile rouge est plus prononcée dans les foies des souris du groupe HFD. En effet, une infiltration lipidique hépatique plus importante a été quantifiée dans ce groupe, par rapport au groupe ND, associé au régime ($F_{(1, 111)} = 55,68$, $p < 0,001$, **Figure 41D, Tableau 7**).

Le régime HFD induit une augmentation significative de l'insulinémie à jeun ($F_{(1, 182)} = 66,16$, $p < 0,001$, **Tableau 7**) et de la glycémie à jeun ($F_{(1, 232)} = 39,12$, $p < 0,001$, **Tableau 7**). La **Figure 41E** montre qu'au cours de l'OGTT, les souris ayant un régime enrichi en graisses animales voyaient un décalage vers la droite de leur pic de glycémie (à 25 min, alors qu'il apparaît à 10 min chez les souris du groupe ND). De plus, ce pic est plus élevé que chez les animaux du groupe ND, avec une glycémie qui ne revient pas à la valeur initiale à l'issue des 2h. L'aire sous la courbe (AUC) est significativement plus élevée dans le groupe HFD ($F_{(1, 230)} = 190,5$, $p < 0,001$, **Figure 41F et Tableau 7**), ce qui peut traduire une tolérance au glucose altérée. La Pression Artérielle Moyenne (PAM), habituellement altérée dans les modèles de syndrome métabolique, n'est pas modifiée par le régime (**Tableau 7**).

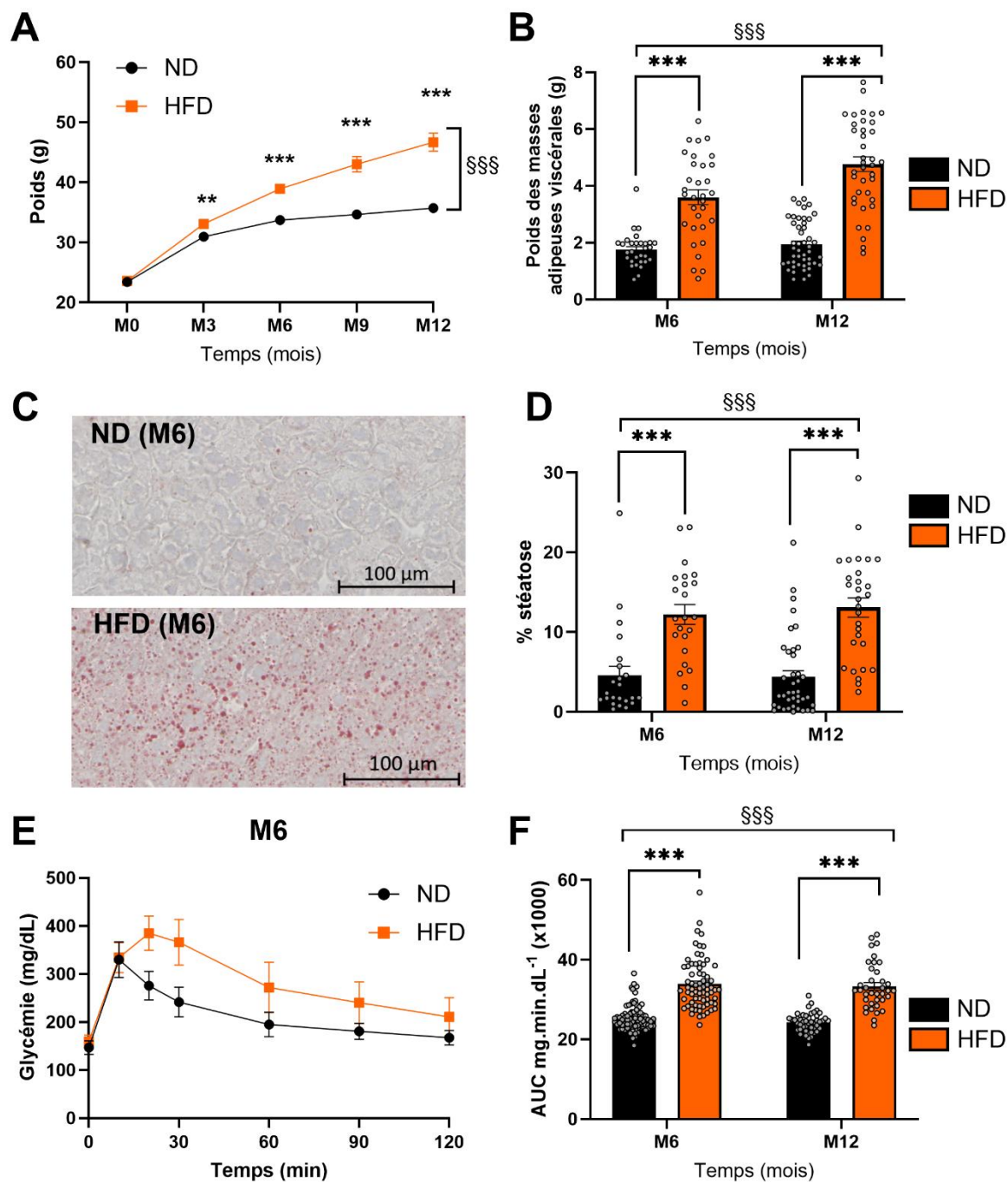


Figure 41 : Altérations de l'homéostasie lipidique et glucidique induites par le HFD. Evolution du poids corporel moyen (g) au cours du temps de souris mâles C57Bl6/J sous ND et sous HFD (A). Poids du tissu adipeux viscéral (VAT, en g) après 6 et 12 mois de régime ND ou HFD (B). Infiltration lipidique hépatique chez les souris ND et HFD, observée par coloration à l'huile rouge (x20). Illustrations représentatives de coupes de foies provenant d'une souris ND et d'une souris HFD après 6 mois de régime (C). Quantification de l'accumulation lipidique hépatique (stéatose) chez des souris ND et HFD à M6 et M12 (D). La tolérance au glucose a été évaluée avec un test de tolérance au glucose oral (OGTT). Une cinétique de l'évolution de la glycémie représentative des valeurs obtenues chez les souris ND et HFD a été illustrée à M6

(E). Quantification des aires sous la courbe (AUC) de l'OGTT des groupes ND et HFD à M6 et M12 (F). Les valeurs sont présentées en moyenne $\pm$ SEM. L'analyse statistique a été faite en utilisant l'ANOVA à 2 facteurs, $§§§p < 0,001$ pour l'effet du régime. Le test des comparaisons multiples de Šídák a été utilisé : $**p < 0,01$, $***p < 0,001$ pour la comparaison HFD vs. ND.

Tableau 7 : Caractérisation métabolique en fonction du régime à M6 et à M12.

A Temps vs. Régime		M6	M12
Pression Artérielle Moyenne (mmHg)	ND	77,49 $\pm$ 1,265 (56)	73,71 $\pm$ 1,884 (23)
	HFD	76,24 $\pm$ 1,383 (47)	64,95 $\pm$ 1,758 (23)
Tissus Adipeux Viscéraux (g) $§§§$	ND	1,754 $\pm$ 0,109 (30)	1,938 $\pm$ 0,121 (47)
	HFD	3,603 $\pm$ 0,260 (32) $***$	4,768 $\pm$ 0,2543 (38) $***$
Accumulation lipidique hépatique (% d'aire) $§§§$	ND	4,546 $\pm$ 1,178 (24)	4,364 $\pm$ 0,7845 (40)
	HFD	12,212 $\pm$ 1,247 (23) $**$	13,08 $\pm$ 1,218 (29) $***$
Triglycérides (mg.dL ⁻¹) $§§$	ND	65,11 $\pm$ 3,281 (64)	65,41 $\pm$ 5,837 (39)
	HFD	57,09 $\pm$ 2,864 (56)	49,61 $\pm$ 2,824 (31)
Cholestérol total (mg.dL ⁻¹) $§§§$	ND	151,0 $\pm$ 5,128 (64)	148,0 $\pm$ 6,169 (39)
	HFD	245,9 $\pm$ 7,452 (56) $***$	260,8 $\pm$ 8,408 (31) $***$
Insulinémie (μg.L ⁻¹) $§§§$	ND	1,194 $\pm$ 0,1013 (64)	1,293 $\pm$ 0,1481 (39)
	HFD	2,116 $\pm$ 0,1707 (56) $**$	3,807 $\pm$ 0,4981 (27) $***$
Glycémie à jeun (mg.dL ⁻¹) $§§§$	ND	146,8 $\pm$ 2,197 (80)	140,9 $\pm$ 2,130 (47)
	HFD	160 $\pm$ 2,574 (71) $***$	163,4 $\pm$ 4,515 (38) $***$
OGTT (AUC, mg.min.dL ⁻¹) $§§§$	ND	25373 $\pm$ 366 (79)	24213 $\pm$ 345 (47)
	HFD	33891 $\pm$ 739 (71) $***$	33331 $\pm$ 951 (37) $***$

Les valeurs sont présentées en moyenne $\pm$ SEM. L'analyse statistique a été faite en utilisant l'ANOVA à 2 facteurs, $§§§p < 0,001$, $§§p < 0,01$, $§p < 0,05$ pour l'effet du régime. Le test des comparaisons multiples de Šídák a été utilisé : $*p < 0,05$, $***p < 0,001$ pour la comparaison HFD vs. ND. Le nombre de souris incluses dans chaque mesure a été indiqué entre parenthèses.

LA PRISE DE POIDS INDEPENDAMMENT DU REGIME AUGMENTE LE RISQUE DE DEVELOPPER DES TROUBLES DU METABOLISME

Lors de la caractérisation initiale du modèle, il a été démontré qu'il existe un ensemble de corrélations entre la prise de poids corporel, la masse adipeuse viscérale et les perturbations du métabolisme glucidique et lipidique chez nos animaux (Pétrault *et al.*, 2019). Grâce à un

modèle de régression linéaire, il a ensuite été possible de discrétiser des poids seuils permettant de délimiter des catégories de poids, soulignant la sévérité des troubles métaboliques induits par la prise de poids. Les souris de poids standard ont un poids corporel < 36,1 g, les souris en surpoids ont un poids corporel compris entre 36,1 g et 43,7 g et les souris obèses pèsent plus de 43,7g. L'analyse de la cohorte sous un autre spectre que le régime suivi est pertinent dans la mesure où la prise de poids est hétérogène dans les deux groupes de régime. En effet, on retrouve des souris obèses à M12 dans le groupe ND, de même qu'un certain pourcentage de souris conservent un poids standard même après 12 mois de HFD.

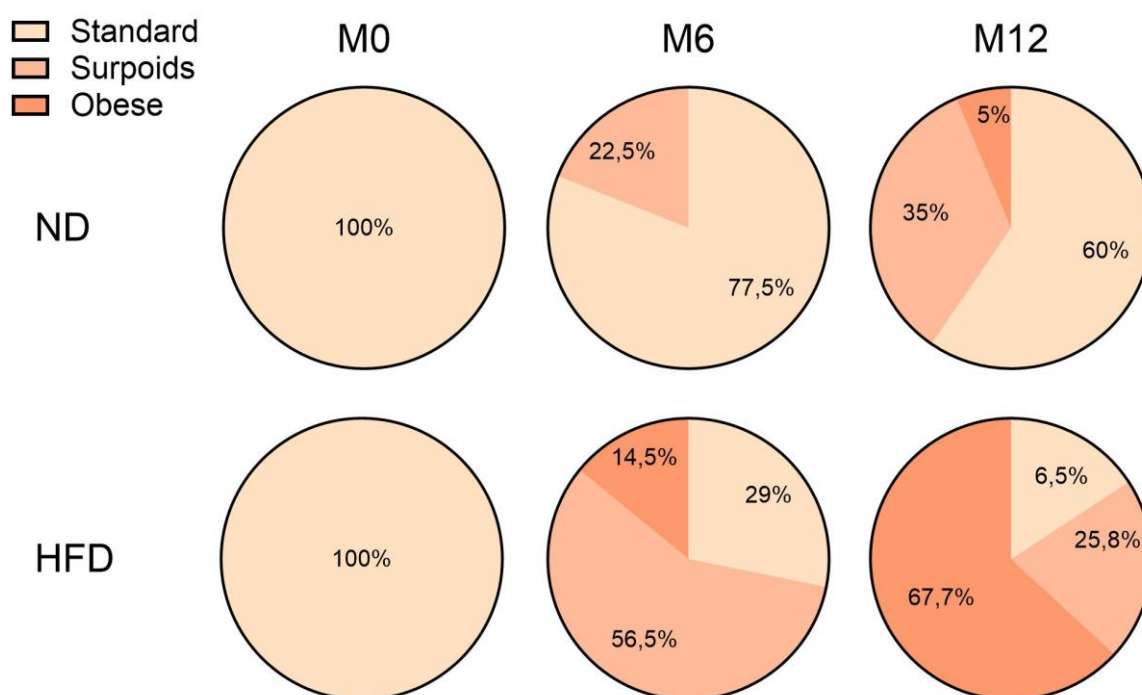


Figure 42 : Pourcentages représentatifs des souris dans chaque catégorie de poids, au cours du temps.

La prise de poids plus importante des souris HFD, entraîne une distribution différente au sein des catégories de poids (**Figure 42**), de celle des souris ND à M6 (Test du $\chi^2 = 52,62$, $p < 0,001$) et à M12 (Test du $\chi^2 = 32,65$, $p < 0,001$, **Figure 42**). Chez les souris ND, on observe une augmentation de la proportion de souris en surpoids (Ov), jusqu'à atteindre 35 % de la population ND totale à M12, avec 5 % de cette population ayant même atteint la catégorie obèse (Ob) à cet âge. Dans le groupe HFD, il n'y a presque plus de souris de poids standard (Sw) à M12 (6,5 % de la population totale). Le HFD induit une progression massive des souris

de la catégorie « surpoids » à l'obésité entre M6 et M12, jusqu'à atteindre 67,7 % de la population HFD totale.

La catégorie de poids a un effet significatif sur la déposition de VAT ($F_{(2, 128)} = 182,7$, $p < 0,001$, **Tableau 8**). En effet, les valeurs moyennes de VAT augmentent significativement entre les souris de poids standard et les souris en surpoids (Sw : $1,663 \pm 0,079$ g .vs Ov : $3,014 \pm 0,159$ g, $p < 0,001$), mais aussi entre les souris en surpoids et les souris obèses (Ob : $5,33 \pm 0,2$ g, $p < 0,001$, **Tableau 8**). La stéatose hépatique peut aussi être associée à la prise de poids, puisque la quantité de gouttelettes lipidiques au sein du foie des souris en surpoids et obèses est plus importante que chez les souris de poids standard (Sw : $4,454 \pm 0,776$ % d'aire .vs Ov : $8,456 \pm 1,072$ % d'aire, $p < 0,01$ et .vs Ob : $15,27 \pm 1,265$ % d'aire, $p < 0,001$, **Tableau 8**). Les valeurs de cholestérol total sont significativement plus importantes chez les souris HFD ($F_{(1, 186)} = 220,2$, $p < 0,001$, **Tableau 7**) et chez les souris en surpoids et obèses ($F_{(2, 187)} = 51,31$, $p < 0,001$, **Tableau 8**) sans modification de la triglycémie.

La prise de poids a aussi pour effet d'augmenter significativement la glycémie à jeun ($F_{(2, 183)} = 46,64$, $p < 0,001$, **Tableau 8**), puisque les souris en surpoids et les souris obèses présentent une hyperglycémie à jeun, par rapport aux souris de poids standard (Sw : $1,225 \pm 0,090$ mg.dL⁻¹ .vs Ov : $1,764 \pm 0,143$ mg.dL⁻¹, $p < 0,05$, et .vs Ob : $3,824 \pm 0,408$ mg.dL⁻¹, $p < 0,001$). La glycémie à jeun est elle aussi augmentée significativement avec le surpoids et l'obésité ($F_{(2, 233)} = 38,86$, $p < 0,001$, **Tableau 8**), avec la mise en place d'une intolérance au glucose ($F_{(2, 231)} = 34,40$, $p < 0,001$, **Tableau 8**).

Tableau 8 : Caractérisation métabolique en fonction de la catégorie de poids, tous temps confondus.

B vs. Catégories de poids	Poids standard	Surpoids	Obésité
Pression Artérielle Moyenne (mmHg)	77,94 ± 1,404 (46)	76,53 ± 1,648 (35)	74,67 ± 3,829 (7)
Tissus Adipeux Viscéraux (g) £££	1,663 ± 0,079 (59)	3,014 ± 0,159 (38) ***	5,33 ± 0,2 (34) ***
Accumulation lipidique hépatique (% d'aire) £££	4,454 ± 0,776 (41)	8,456 ± 1,072 (34) **	15,27 ± 1,265 (26) ***
Triglycérides (mg.dL ⁻¹)	62,65 ± 3,399 (90)	60,00 ± 2,556 (64)	54,86 ± 3,184 (36)
Cholestérol total (mg.dL ⁻¹) £££	159,3 ± 5,535 (90)	208,3 ± 7,557 (64) ***	267,4 ± 8,815 (36) ***
Insulinémie (µg.L ⁻¹) £££	1,225 ± 0,0895 (89)	1,764 ± 0,1431 (64) *	3,824 ± 0,4081 (33) ***
Glycémie à jeun (mg.dL ⁻¹) £££	143,3 ± 1,54 (119)	154,4 ± 2,372 (75) ***	174,0 ± 3,801 (42) ***
OGTT (AUC, mg.min.dL ⁻¹) £££	26199 ± 403,9 (118)	30530 ± 748,1 (74) ***	34080 ± 1092 (42) ***

Les valeurs sont présentées en moyenne ± SEM. L'analyse statistique a été faite en utilisant l'ANOVA à 1 facteur : £££ p < 0,001 pour l'effet de la catégorie de poids. Le test des comparaisons multiples de Tukey a été utilisé afin de comparer les autres catégories de poids à la catégorie « Poids Standard » : *** p < 0,001. Le nombre de souris incluses dans chaque mesure a été indiqué entre parenthèses.

LE HFD ET LA PRISE DE POIDS N'INDUISENT PAS DE CHANGEMENT DANS LA COMPOSITION LIPIDIQUE DU CPF ET DE L'HIPPOCAMPE

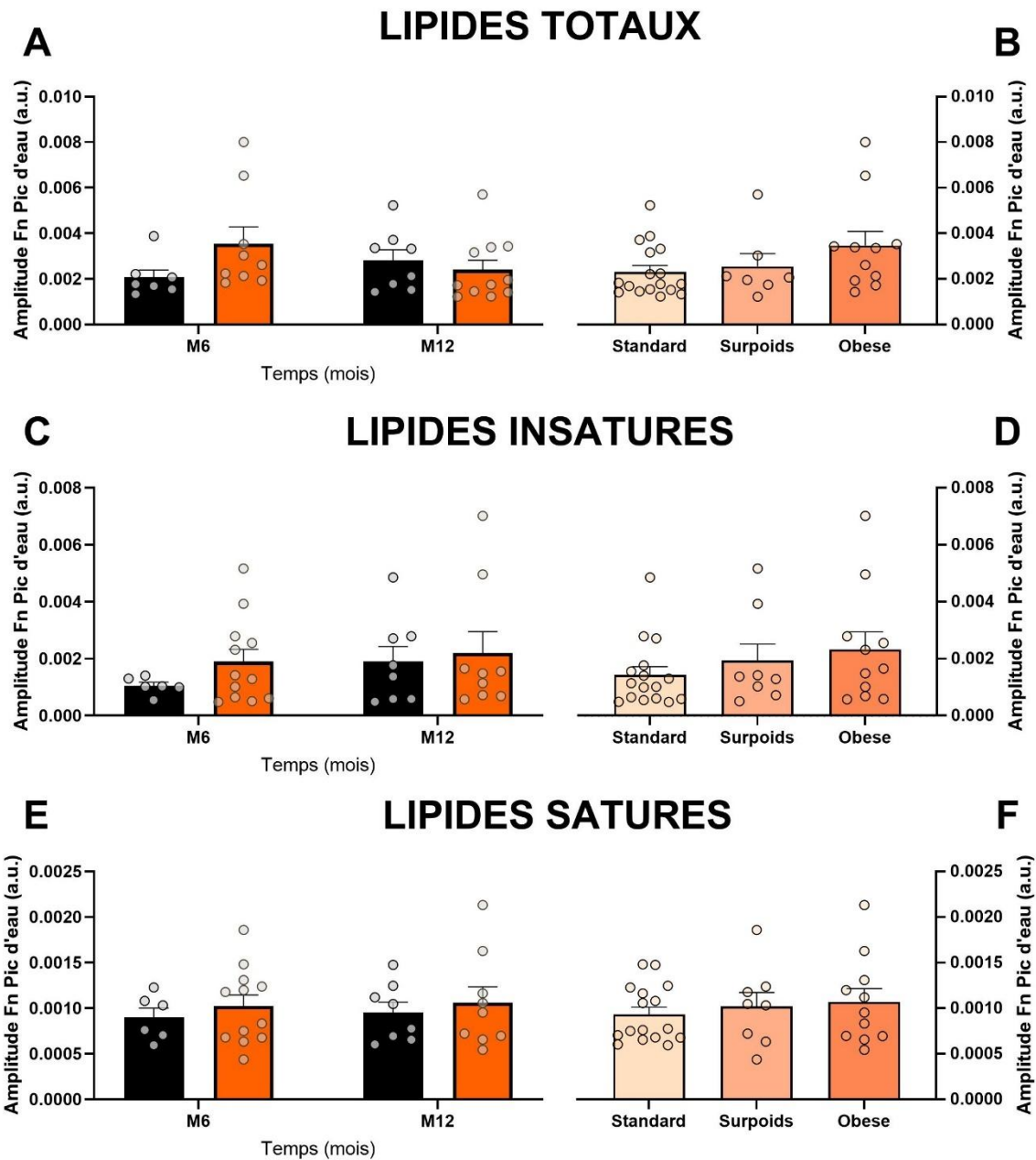


Figure 43 : Quantification par SRM des lipides au sein du cortex préfrontal. Cette quantification est représentée en fonction du régime et du temps (A) et en fonction de la catégorie de poids (B), avec la part de lipides insaturés ($-CH_2$, en C et D) et de lipides saturés ($-CH_3$, en E et F).

Grâce à la spectroscopie à résonance magnétique (SRM), les lipides cérébraux ont pu être quantifiés au sein de notre cohorte de souris dans un voxel de 6 mm^3 localisé dans la région

antérieure du cerveau, prenant en compte le cortex préfrontal et le striatum. Cette mesure a été faite pour évaluer si la composition lipidique cérébrale pouvait être modifiée par le régime ou par la prise de poids. D'autres métabolites ont aussi été quantifiés, comme le N-Acetyl-Aspartate (NAA, 2.02 ppm) et la créatine totale (3.03 et 3.90 ppm). Ces derniers sont considérés comme stables, et sont couramment utilisés comme marqueurs de l'intégrité et de l'activité neuronale. La quantité de NAA et de créatine totale n'a pas été impactée par le régime ou la prise de poids (NAA: $290.10^{-5} \pm 21.10^{-5}$ vs $246.10^{-5} \pm 34.10^{-5}$; tCreatine: 199 ± 7.10^{-5} vs $181.10^{-5} \pm 3.10^{-5}$).

En l'occurrence, aucune différence de quantification de lipides n'est observée chez les souris sous HFD, par rapport aux souris sous ND et ce, à tous les temps de l'étude, pour les lipides saturés (**Figure 43C-D**) et insaturés (**Figure 43E-F**). La teneur en lipides du cortex ne semble pas non plus modifiée par la prise de poids (**Figure 43A-B**).

PROFIL COMPORTEMENTAL

LE HFD NE MODIFIE PAS LES CAPACITES MOTRICES NI LE CARACTERE ANXIEUX DES ANIMAUX, CONTRAIREMENT A L'OBESE

Le profil comportemental des animaux a été évalué tout au long de l'étude, dans le but de déterminer si l'impact du régime et de l'évolution des troubles du métabolisme sur le comportement et certaines fonctions cognitives de nos animaux était bien toujours le même que d'après la caractérisation faite par l'équipe en 2019. L'activité locomotrice spontanée, le caractère anxieux, la mémoire de reconnaissance visuelle, la mémoire spatiale à court et long-terme ainsi que la flexibilité cognitive ont été mesurés.

L'évaluation de la motricité spontanée (actimétrie) et du caractère anxieux (*Elevated-Plus Maze*) des animaux sont nécessaires pour la validation des tests cognitifs. L'activité motrice spontanée est statistiquement identique entre les souris du groupe ND et celles du groupe HFD, à tous les temps de l'étude (**Figure 44A-D**). En revanche, le temps a un effet non négligeable sur ce paramètre, puisqu'il réduit significativement la distance parcourue ($F_{(2, 318)} = 44,94$, $p < 0,001$), la vitesse de déplacement ($F_{(2, 318)} = 44,84$, $p < 0,001$), le temps

d'inactivité ($F_{(2, 318)} = 52,58$, $p < 0,001$) et le nombre de redressements des animaux ($F_{(2, 318)} = 49,31$, $p < 0,001$).

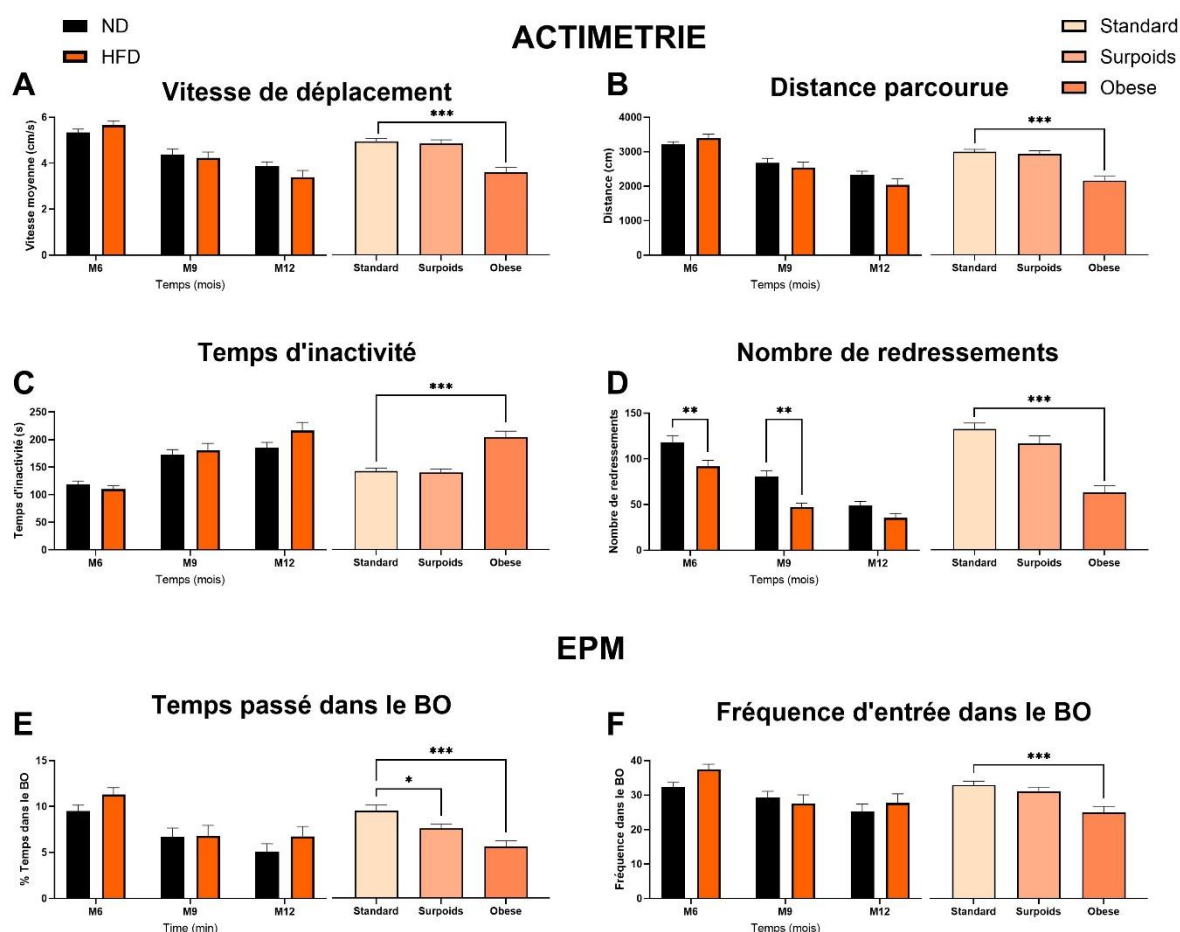


Figure 44 : Profil moteur et anxieux des souris de la cohorte. L'activité motrice spontanée a été caractérisée par la vitesse de déplacement des animaux (A), la distance parcourue (B), le temps d'inactivité (C) et le nombre de redressements (D) au cours du test de l'actimétrie. Le caractère anxieux des animaux a été mesuré grâce à l'EPM, à l'aide du % de temps passé dans les bras ouverts (BO, E) et de la fréquence d'entrée dans les BO (F). Les valeurs sont présentées en moyenne $\pm$ SEM. L'analyse statistique a été faite en utilisant le test des comparaisons multiples de Tukey afin de comparer les groupes ND et HFD : ** $p < 0,01$; et le test de Dunnett afin de comparer les autres catégories de poids à la catégorie « Poids Standard » : * $p < 0,05$; *** $p < 0,001$.

Si on prend en compte les catégories de poids, une diminution significative de la distance parcourue ($F_{(2, 321)} = 17,78$, $p < 0,001$), de la vitesse de déplacement ($F_{(2, 321)} = 16,14$, $p < 0,001$), ainsi qu'une augmentation significative du temps de repos ($F_{(2, 320)} = 18,70$, $p < 0,001$), associées aux souris obèses. Ce résultat suggère qu'une prise de poids importante peut affecter leurs capacités motrices.

Le caractère anxieux des rongeurs est inchangé quel que soit le régime suivi (**Figure 44E-F**). En revanche, les animaux en surpoids et obèses passent significativement moins de temps dans les bras ouverts de l'EPM, que les animaux de poids standard ($F(2, 321) = 8,675, p < 0,001$), avec significativement moins d'entrées dans ces bras par les souris obèses (Fréquence d'entrée Sw : $32,96 \pm 1,130$.vs Ob : $24,91 \pm 1,881, p < 0,001$). On peut cependant attribuer ce résultat à la diminution significative de l'activité motrice spontanée avec le temps et l'obésité, puisque la distance parcourue par les souris obèses dans l'EPM était effectivement moins importante que celle parcourue par leurs congénères de poids standard.

PROFIL COGNITIF

Trois fonctions cognitives ont été évaluées : la mémoire de reconnaissance visuelle, grâce au NOR, la mémoire spatiale, grâce au Y-Maze et à la première semaine du labyrinthe de Barnes, ainsi que la flexibilité cognitive, grâce à la seconde semaine du labyrinthe de Barnes.

LE HFD NE MODIFIE PAS LA MEMOIRE SPATIALE

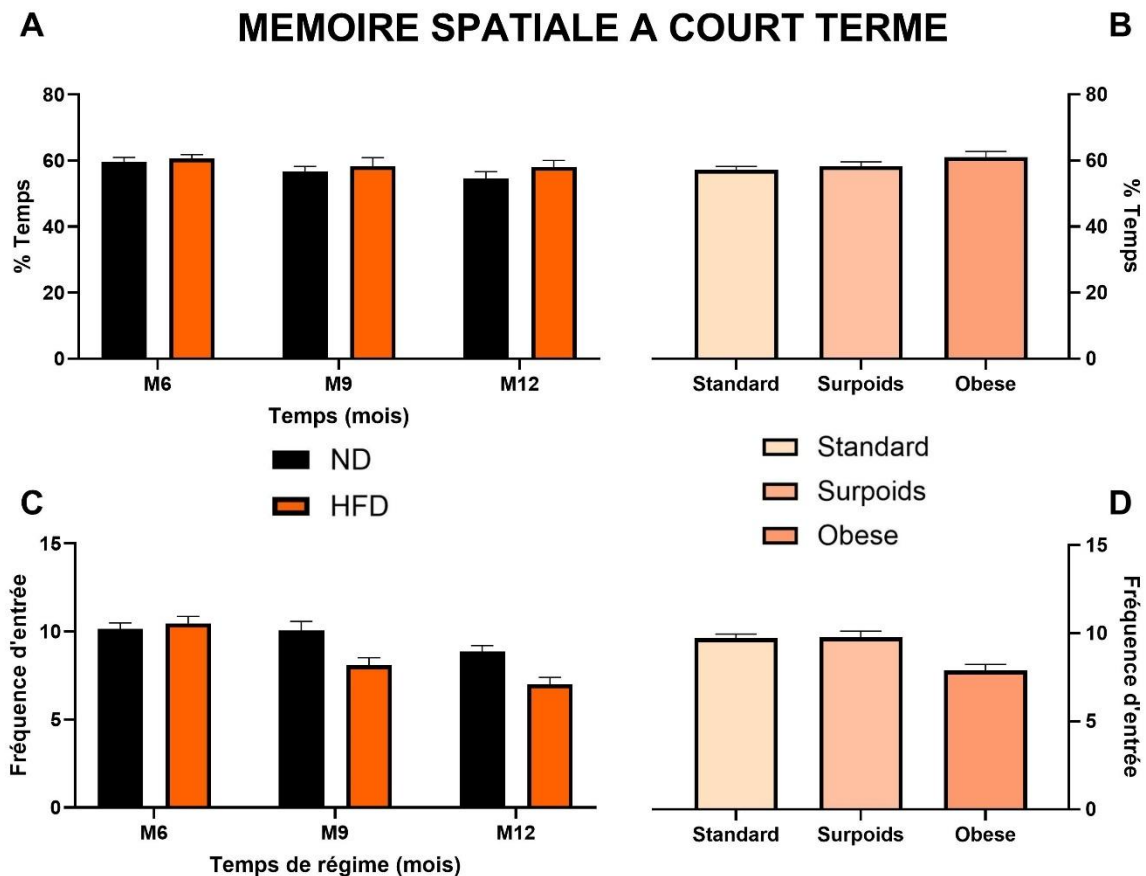


Figure 45 : Evaluation de la mémoire spatiale à court-terme. Celle-ci a été testée à l'aide du labyrinthe en Y et se caractérise, au moment du test, par le % de temps passé dans le bras nouveau (**A** en fonction du régime et du temps ; **B** en fonction de la catégorie de poids) et de la fréquence d'entrée dans le bras nouveau (**C** en fonction du régime et du temps ; **D** en fonction de la catégorie de poids). Les valeurs sont présentées en moyenne $\pm$ SEM.

La mémoire spatiale à court-terme, évaluée par le Y-Maze (Figure 46) à travers le temps passé dans le bras nouveau (**Figure 45A-B**) et la fréquence d'entrée dans le bras nouveau

(**Figure 45C-D**), ne semble pas être altérée par le régime ($F_{(1, 316)} = 1,914$, $p = 0,168$) ou par la prise de poids ($F_{(2, 319)} = 2,002$, $p = 0,137$) dans ma cohorte.

Concernant l'évaluation de la mémoire spatiale à long-terme (**Figure 46**), on peut noter que la courbe d'apprentissage à M12 des souris sous HFD est décalée par rapport à celle des souris sous ND, avec notamment une latence primaire significativement plus importante au deuxième jour ($t = 2,519$, $p < 0,05$, **Figure 46A**). Cependant, il n'y a pas de différence significative entre les aires sous les courbes d'apprentissage. De plus, le jour du test, le temps passé dans le cadran cible est similaire, quel que soit le régime suivi ou la catégorie de poids (**Figure 46C-F**).

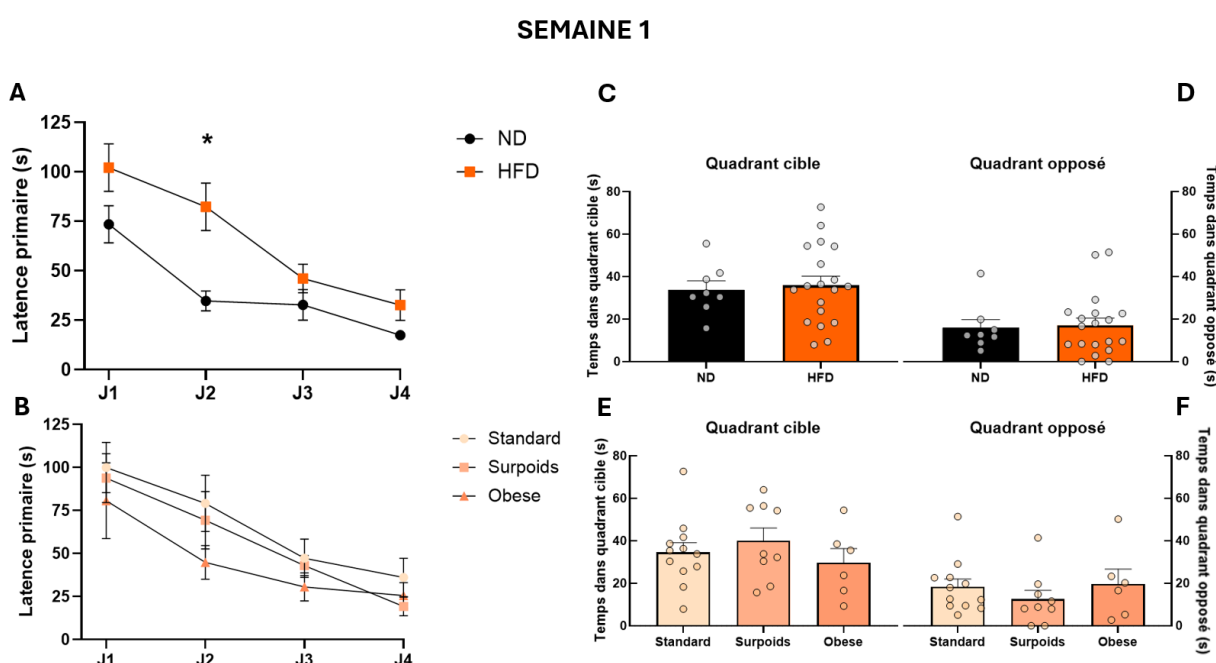


Figure 46 : Evaluation de la mémoire spatiale à long-terme à M12 avec le labyrinthe de Barnes. Courbes d'apprentissage, exprimée par la latence primaire en fonction du régime (**A**) et de la catégorie de poids (**B**). Temps passé dans le cadran cible (**C, E**) et dans le cadran opposé (**D, F**) le jour du test. Les résultats sont exprimés en moyenne $\pm$ SEM. L'analyse statistique a été faite en utilisant un t test, pour comparer les groupes ND et HFD : * $p < 0,05$.

DIFFERENCES DE PROFIL COGNITIF ENTRE LES ANIMAUX DE MA COHORTE ET LA CARACTERISATION INITIALE

Flexibilité de la mémoire

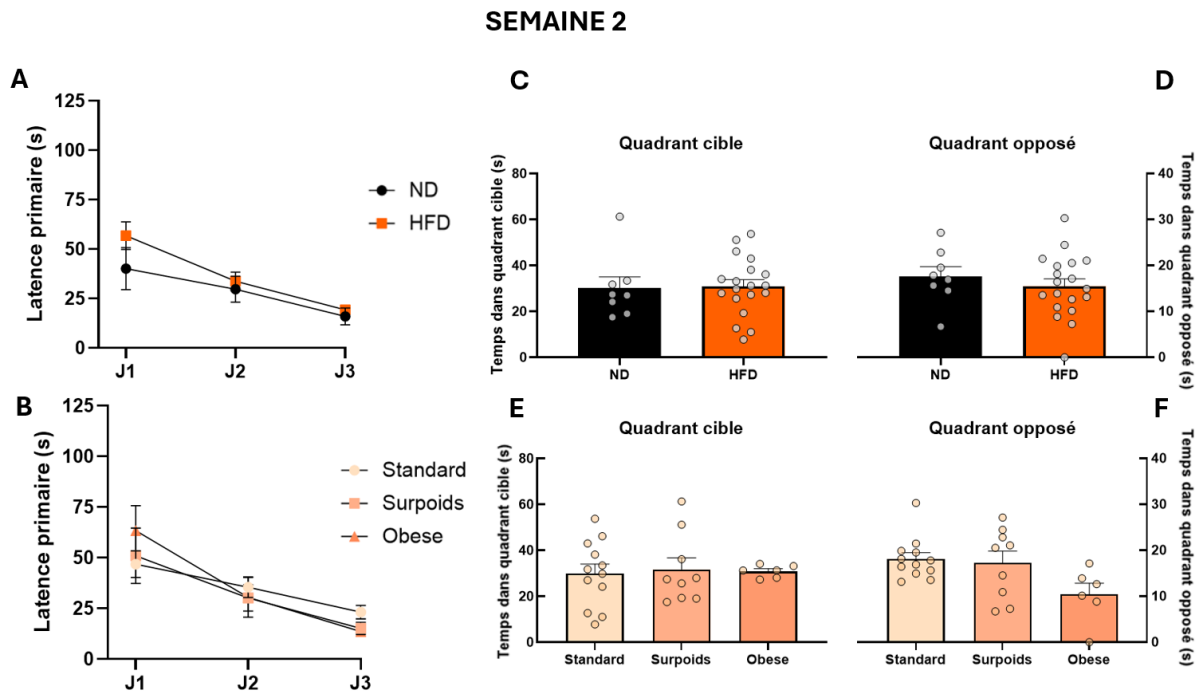


Figure 47 : Evaluation de la flexibilité cognitive à M12 avec le labyrinthe de Barnes, à l'issue de la seconde semaine. Courbes d'apprentissage, exprimée par la latence primaire en fonction du régime (A) et de la catégorie de poids (B). Temps passé dans le cadran cible (C, E) et dans le cadran opposé (D, F) le jour du test. Les résultats sont exprimés en moyenne $\pm$ SEM.

La flexibilité cognitive est évaluée lors de la seconde semaine du labyrinthe de Barnes, en changeant l'emplacement de la zone cible. Les animaux doivent alors réapprendre cette nouvelle position, avant d'être soumis à un nouveau test. Dans la cohorte, ni le régime, ni la catégorie de poids n'ont eu d'effet sur l'apprentissage au cours de la seconde semaine du labyrinthe de Barnes (**Figure 47A-B**). De même, le jour du test, le temps passé dans le cadran cible est similaire, quel que soit le régime suivi ou la catégorie de poids (**Figure 47C-F**), alors qu'il avait été montré précédemment une augmentation significative du temps passé dans le cadran opposé par les souris obèses, comparées aux souris de poids standard (Pétrault *et al.*, 2019).

Mémoire de reconnaissance visuelle

La mémoire de reconnaissance visuelle est mesurée par le test du NOR. Dans la cohorte, ni le régime, ni la catégorie de poids n'ont d'effet sur ce paramètre et ce peu importe le temps de l'étude (**Figure 48**). Or, il avait été montré (Pétrault *et al.*, 2019) que l'index NOR des souris sous HFD diminuait significativement dans le temps, alors qu'il restait stable chez les souris sous ND ; et que cette diminution était attribuable à la prise de poids, puisqu'elle était principalement marquée chez les souris en surpoids et obèses. Il est intéressant de noter qu'alors, l'index NOR moyen des souris ND était de 0,37. Or, dans ma cohorte, il est certes stable dans le temps, mais est en moyenne de 0,25, soit significativement plus faible ($t = 7,593$, $p < 0,05$, **Figure 48A-B**).

Suite à un changement d'enrichissement au cours d'un autre projet, la mémoire de reconnaissance visuelle des animaux a à nouveau été évaluée dans notre modèle d'étude (**Figure 48C**). Une diminution de l'index NOR est à nouveau retrouvée chez les souris HFD ($p < 0,01$) par rapport aux souris ND, dont l'index est en moyenne de 0,37, comme précédemment.

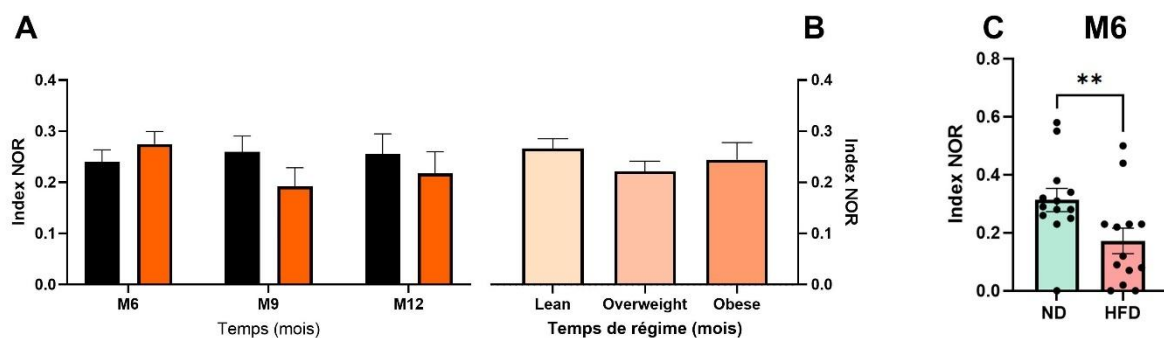


Figure 48 : Evaluation de la mémoire de reconnaissance visuelle. Index NOR en fonction du régime (A) ou de la catégorie de poids (B). Ce paramètre a été évalué en changeant l'enrichissement des animaux, sur des souris de notre modèle (C). Les valeurs sont présentées en moyenne $\pm$ SEM. L'analyse statistique a été faite en utilisant un t test, pour comparer les groupes ND et HFD : ** $p < 0,01$.

VOLUMES DU CPF ET DE L'HIPPOCAMPE

Dans l'étude de 2019, il n'avait pas été montré que le HFD ou la prise de poids n'entraînaient de diminution du volume cérébral dans notre modèle. Couplée à une étude histologique, cela avait permis de conclure qu'il n'y avait pas de neurodégénérescence chez nos animaux.

Une observation anatomique des cerveaux de souris a été effectuée en séquence T2, afin de mesurer la volumétrie du cortex préfrontal et de l'hippocampe (**Figure 49**). Le régime, le temps de l'étude ou la prise de poids n'ont pas modifié ce paramètre.

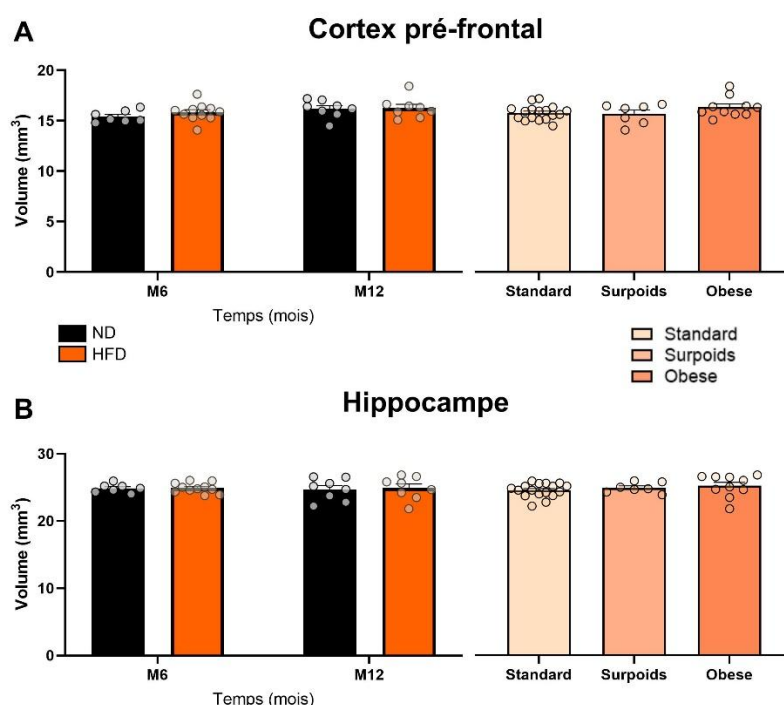


Figure 49 : Volumétrie du cortex préfrontal et de l'hippocampe. Absence de changement dans les volumes du cortex préfrontal (A) et de l'hippocampe (B) en fonction du régime, du temps ou de la catégorie de poids.

PROJET 1 : ALTERATIONS CEREbroVASCULAIRES INDUITES PAR LE REGIME ET LES TROUBLES DU METABOLISME

Une analyse globale du fonctionnement vasculaire cérébral a été menée à travers plusieurs paramètres :

- L'étude de la perfusion cérébrale dans les structures d'intérêt ;
- L'étude du tonus myogénique de l'artère basilaire de nos souris, qui représente la voie d'entrée de la circulation sanguine dans le cerveau ;
- L'étude des voies glutamatergiques sur les artéριοles intra-parenchymateuses.

Lors de la caractérisation du modèle en 2019, il a été mis en évidence une dysfonction de la relaxation vasculaire dépendant de l'endothélium chez les souris HFD. L'hypothèse alors émise était que le lien entre cette dysfonction, les troubles du métabolisme et le déclin cognitif était une altération du couplage neurogliovasculaire (NGVC). Un des objectifs de ma thèse a donc été d'évaluer l'intégrité du NGVC dans notre modèle. Ce découplage pourrait constituer le lien entre les troubles du métabolisme, périphériques, et le déclin cognitif observé chez nos animaux. Pour ce faire, nous avons choisi de nous concentrer plus précisément sur le glutamate, qui fait le lien entre la neurotransmission et la réactivité vasculaire. Dans un premier temps, l'effet vasodilatateur du glutamate a été mesuré dans les deux groupes de régime, puis nous avons utilisé des inhibiteurs spécifiques des enzymes impliquées dans les différentes voies vasodilatatrices du glutamate afin de mieux comprendre d'où pourrait venir le dysfonctionnement.

LA PERFUSION CEREbraLE EST INCHANGEE PAR LE HFD ET L'OBESITE

Lors de leur passage à l'IRM, la perfusion du cortex préfrontal et de l'hippocampe a été mesurée à l'aide d'une séquence PASL (**Figure 50**). Le régime, le temps de l'étude ou la prise de poids n'ont pas modifié ce paramètre dans ces structures cérébrales.

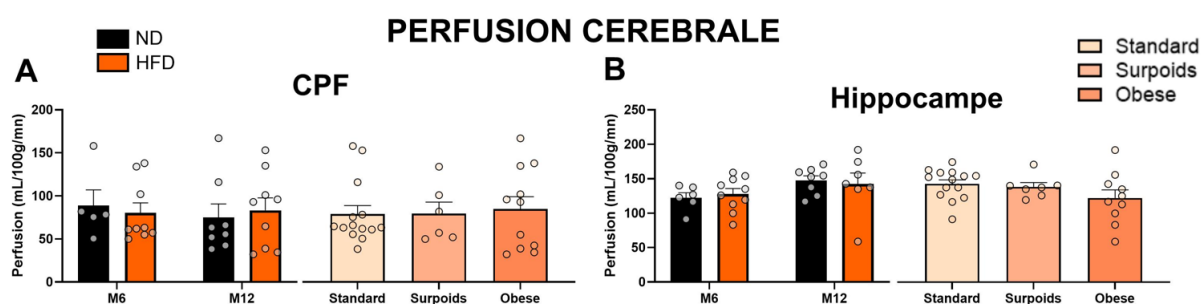


Figure 50 : Perfusion du cortex préfrontal et de l'hippocampe. La perfusion globale du cortex préfrontal (A) et de l'hippocampe (B), en fonction du régime (à gauche) et de la catégorie de poids (à droite). La perfusion a été évaluée par une séquence IRM PASL. Les valeurs sont présentées en moyenne $\pm$ SEM.

LE HFD ET L'OBESITE ALTERENT LE TONUS MYOGENIQUE DE L'ARTERE BASILAIRE

Lors de la caractérisation de la cohorte, il a été montré que le HFD altère les fonctions vasoactives des artères piales, à travers une diminution significative du flux sanguin cérébral dans le territoire Sylvien chez les souris HFD (mesurée à l'aide de la technique du laser Doppler) à M6 et M12, tandis qu'il n'y avait pas de diminution de la perfusion cérébrale au repos d'après l'IRM. De façon intéressante, la réduction du flux sanguin cérébral était concomitante avec l'apparition des troubles du métabolisme et du déclin cognitif.

Dans la présente étude, il semblait donc intéressant de poursuivre l'étude des fonctions vasoactives des artères piales, afin de mieux comprendre ce qui pourrait être à l'origine d'une diminution du flux sanguin cérébral associée au HFD. Ainsi, le tonus myogénique de l'artère basilaire a été mesuré à M6 et M12 au sein de la cohorte (**Figure 51**).

L'artère basilaire isolée a été soumise à des paliers de pression, grâce à l'artériographe d'Halpern. L'augmentation de cette pression augmente initialement le diamètre intra-luminal du vaisseau. Dans une configuration normale, le tonus myogénique se développe alors rapidement, en recontractant les cellules musculaires lisses, afin de réguler le flux sanguin cérébral. Chez les souris HFD, ce tonus myogénique est diminué significativement, dès M6 ($F_{M6}(1, 48) = 24,11, p < 0,001$, **Figure 51A**) et $F_{M12}(1, 51) = 19,00, p < 0,001$, **Figure 51B**) et ce principalement chez les souris obèses. La prise de poids a donc aussi un effet sur le tonus myogénique, tous temps expérimentaux confondus ($F(2, 103) = 12,40, p < 0,001$, **Figure 51C**).

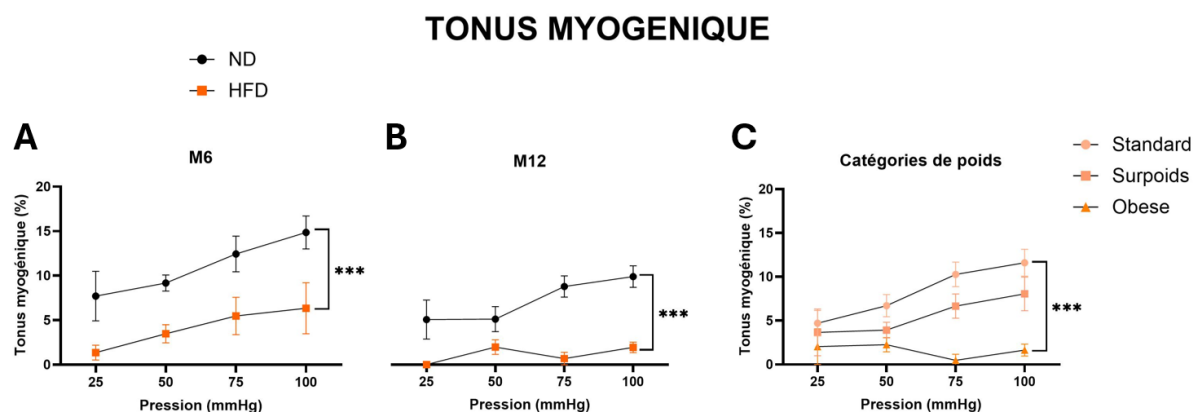


Figure 51 : Le tonus myogénique de l'artère basilaire. Ce tonus est représenté à M6 (A) et à M12 (B) pour les souris ND et HFD, ainsi qu'en fonction des catégories de poids (C). Les valeurs sont présentées en moyenne $\pm$ SEM. L'analyse statistique a été faite en utilisant l'ANOVA à 2 facteurs, *** $p < 0,001$ pour l'effet du régime. Pour l'effet de la catégorie de poids, une ANOVA à un facteur a été réalisée, *** $p < 0,001$.

LE TAUX DE GLUTAMATE INTRA-CEREBRAL EST INCHANGE PAR LE HFD ET LA PRISE DE POIDS.

Grâce à la spectroscopie à résonance magnétique (SRM), le taux de glutamate a pu être quantifié au sein de notre cohorte dans un voxel de 6 mm^3 localisé dans la région antérieure du cerveau, prenant en compte le cortex préfrontal et le striatum. Cette mesure a été faite pour évaluer si ce taux pouvait être modifié par le régime HFD ou par la prise de poids. La glutamine a elle aussi été quantifiée, en tant que précurseur du glutamate.

Des niveaux similaires de glutamate (**Figure 52A**) sont retrouvés dans la région antérieure du cerveau, quel que soit le régime (ND : $50.10^{-5} \pm 6.10^{-5}$ vs HFD : $60.10^{-5} \pm 8.10^{-5}$) ou la catégorie de poids (Sw : $61.10^{-5} \pm 3.10^{-5}$; Ov : $53.10^{-5} \pm 9.10^{-5}$ et Ob : $59.10^{-5} \pm 6.10^{-5}$). La quantité de glutamine (**Figure 52B**) ne change pas non plus quant à elle (ND : $30.10^{-5} \pm 5.10^{-5}$ vs HFD : $30.10^{-5} \pm 4.10^{-5}$; Standard : $28.10^{-5} \pm 3.10^{-5}$; Ov : $26.10^{-5} \pm 6.10^{-5}$ et Ob : $29.10^{-5} \pm 7.10^{-5}$), de même que les niveaux du pic glutamate + glutamine (**Figure 52C**).

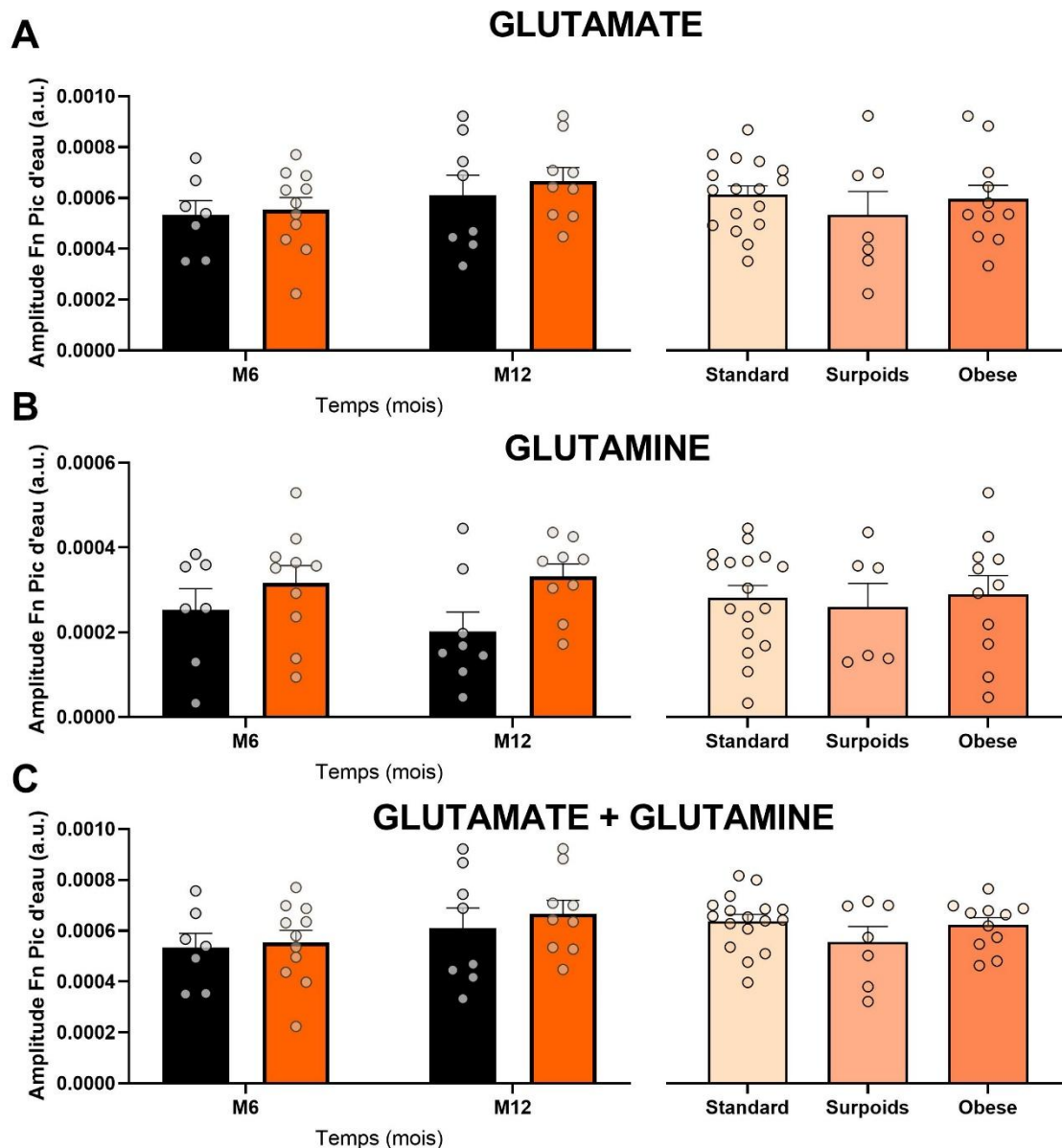


Figure 52 : Quantification du glutamate et de la glutamine dans le cortex préfrontal. Les taux de glutamate (A), de glutamine (B) et du pic glutamate + glutamine (C) au sein du cerveau, ont été quantifiés par SRM en fonction du régime et du temps et en fonction de la catégorie de poids. Les valeurs sont présentées en moyenne $\pm$ SEM.

L'EFFET VASODILATEUR DU GLUTAMATE EST ALTERE APRES 12 MOIS DE HFD ET PAR L'OBESITE

L'effet maximal du glutamate a été évalué grâce à un modèle de tranches de cerveau *ex vivo*, en appliquant 100 μ M de glutamate, après une pré-contraction (Phényléphrine 100 μ M, un agoniste des récepteurs α -1 adrénergiques). Le HFD provoque une diminution significative de

la dilatation induite par le glutamate ($F_{(1, 64)} = 5,660$, $p < 0,05$, **Figure 53A**). Cet effet est majoritairement observable à M12. Lorsque les souris sont comparées en fonction de leur catégorie de poids, il apparaît que la prise de poids a un effet majeur sur la vasodilatation induite par le glutamate ($F_{(2, 62)} = 15,68$, $p < 0,05$, **Figure 53B**), les souris obèses répondant significativement moins au glutamate que les souris de poids standard (Ob : $1,432 \pm 1,151$ % .vs Sw : $6,929 \pm 0,899$ %, $p < 0,05$) et que les souris en surpoids (Ov : $7,681 \pm 0,308$ %, $p < 0,05$).

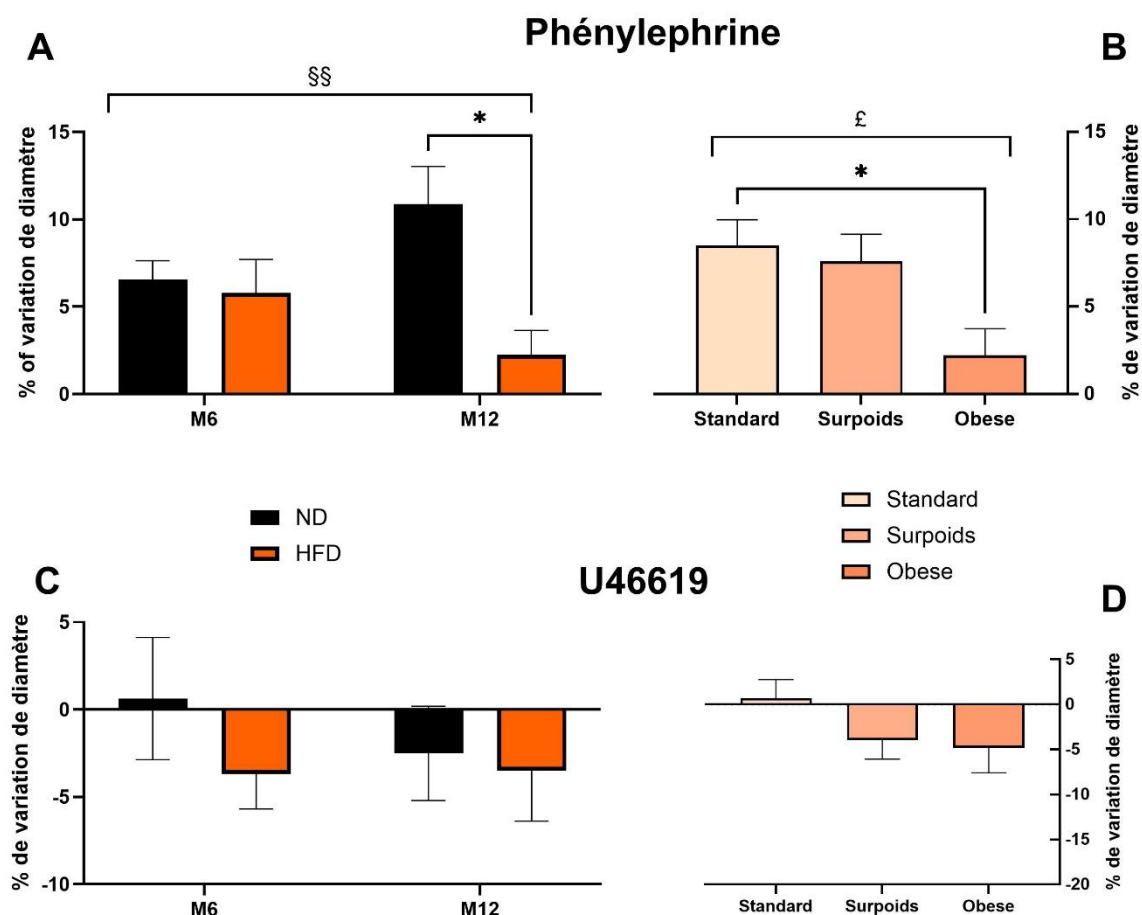


Figure 53 : Altération de l'effet vasodilatateur du glutamate par le HFD et la prise de poids. L'effet maximal du glutamate (100 μ M) a été mesuré à l'aide d'un modèle de tranches de cerveaux frais *ex vivo*, après une précontraction à la Phénylèphrine 100 μ M chez les souris sous ND et sous HFD à M6 $n_{ND} = 19$ et $n_{HFD} = 19$, ainsi qu'à M12, $n_{ND} = 19$ et $n_{HFD} = 11$ (**A**). Impact de la prise de poids sur l'effet maximal du glutamate dans ces conditions (**B**). L'effet maximal du glutamate a aussi été mesuré après une pré-contraction à l'U46619 2,5 μ M chez les souris ND et HFD à M6 $n_{ND} = 12$ et $n_{HFD} = 14$, ainsi qu'à M12, $n_{ND} = 13$ et $n_{HFD} = 17$ (**C**). Impact de la prise de poids sur l'effet maximal du glutamate dans ces conditions (**D**). Les valeurs sont présentées en moyenne $\pm$ SEM. L'analyse statistique a été faite en utilisant l'ANOVA à 2 facteurs, $\S\S p < 0,01$ pour l'effet du régime. Le test des comparaisons multiples de Šídák a été utilisé : * $p < 0,05$, pour la comparaison HFD vs. ND. Pour l'effet de la catégorie de poids,

l'ANOVA à 1 facteur a été utilisée : $\epsilon p < 0.05$. Le test des comparaisons multiples de Tukey a été utilisé afin de comparer les autres catégories de poids à la catégorie « Poids Standard » : $*p < 0,05$.

Une autre approche pour étudier l'effet du régime HFD et des troubles du métabolisme induits est de se placer dans un système où l'effet du glutamate était à l'équilibre avec la pré-contraction, dans des conditions contrôles. En pré-contractant avec de l'U46619 2,5 μ M, un analogue du thromboxane A2, 100 μ M de glutamate suffisaient à rééquilibrer le diamètre des vaisseaux chez les souris ND à M6 (ND_{M6} : $0,687 \pm 3,457$ %, **Figure 53C**), mais pas à M12 (ND_{M12} : $-2,507 \pm 2,703$ %). Dans le groupe HFD, une tendance à la diminution du diamètre intra-luminal des vaisseaux est observée après l'ajout de 100 μ M de glutamate, aux deux temps expérimentaux (HFD_{M6} : $-3,763 \pm 2,152$ % ; HFD_{M12} : $-3,512 \pm 2,872$ %). Chez les souris de poids standard, tous temps confondus, le glutamate a un effet légèrement vasodilatateur (Sw : $1,075 \pm 1,198$ %, **Figure 53D**). En revanche, chez les souris en surpoids et obèses, une diminution du diamètre artériolaire peut être observée, l'obésité ayant tendance à diminuer l'effet vasorelaxant du glutamate (Ob : $-5,323 \pm 0,770$ %, $p = 0,067$).

L'OBESITE ET LE HFD PROVOQUENT UN DESEQUILIBRE DANS LES VOIES VASODILATATRICES GLUTAMATERGIQUES.

Le glutamate induit une vasodilatation en agissant par deux voies intra-cellulaires : une voie astrocytaire, impliquant l'enzyme COX I et une voie neuronale, impliquant les enzymes COX II et la nNOS. Des inhibiteurs spécifiques de ces enzymes ont été utilisés dans les expériences suivantes : SC560 100 nM pour la COX I, NS398 25 μ M pour la COX II et L-NNA 10 μ M pour la nNOS. A travers ces inhibitions, l'activation potentielle de ces systèmes enzymatiques a été évaluée, dans chaque condition afin de voir leur contribution dans la réponse vasodilatatrice au glutamate. L'inhibition de COX I par le SC560 provoque une contraction intense des vaisseaux, dans tous les groupes et à chaque temps (**Figure 54A**). Cette constriction semble cependant réduite par la prise de poids (Sw : $13,59 \pm 2,652$ % .vs Ob : $8,147 \pm 2,428$ %, $F_{(2, 41)} = 1,138$, **Figure 54B**), soit une réduction de $5,443 \pm 0,224$ %. La constriction induite par l'inhibition de ce système enzymatique est la traduction de la capacité relaxante de la voie astrocytaire sous l'effet du glutamate.

L'inhibition de COX II par le NS398 provoque une contraction importante des vaisseaux dans le groupe ND (**Figure 54C**), ainsi que chez les souris de poids standard (**Figure 54D**). En revanche, la contraction semble moins importante chez les souris du groupe HFD, principalement à M12 (ND_{M12} : $-21,8 \pm 15,88$ % .vs HFD_{M12} : $2,547 \pm 4,735$ %), mais aussi chez les souris en surpoids et obèses (Ov : $-8,640 \pm 4,908$ % , .vs Sw : $-30,27 \pm 6,722$ % , $F_{(2, 13)} = 3,701$, $p = 0,059$).

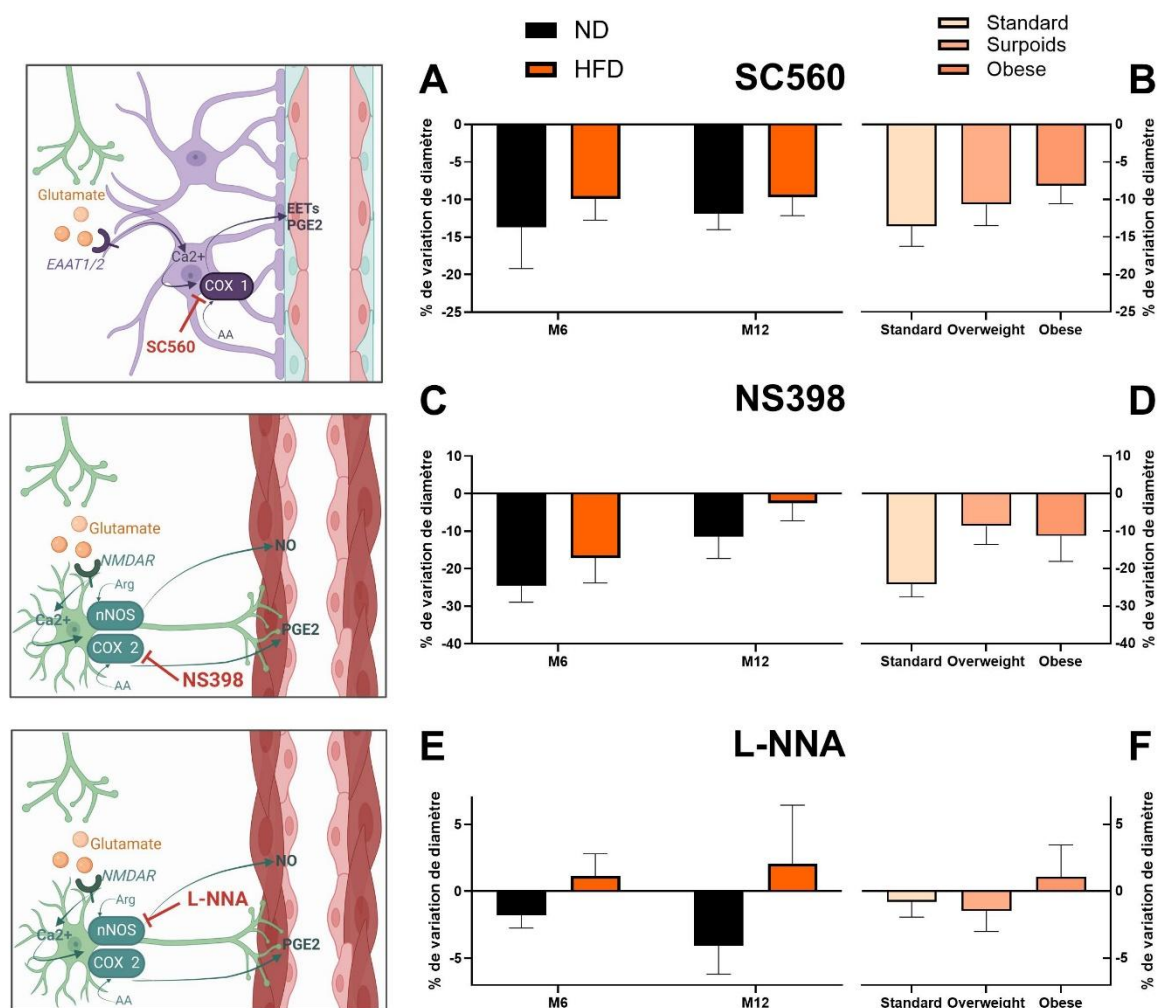


Figure 54 : Impact du régime HFD et de la prise de poids sur l'activité des enzymes des voies glutamatergiques. Des inhibitions spécifiques de COX I, COX II, et de la nNOS ont été réalisées en utilisant respectivement du SC560 100 nM, du NS398 25 μ M et du L-NNA 10 μ M, après une pré-contraction à l'U46619 2,5 μ M. Ces inhibitions ont été réalisées de façon isolée. Les résultats sont présentés pour les souris ND et les souris HFD à M6 et à M12, ainsi qu'en fonction de la catégorie de poids pour COX I (**A-B**), COX II (**C-D**) et nNOS (**E-F**). Les valeurs sont présentées en moyenne $\pm$ SEM.

Chez les souris du groupe ND, l'inhibition de la nNOS par le L-NNA ne provoque qu'une contraction modérée, par rapport aux autres inhibitions (**Figure 54E**). Ce phénomène est aussi observé chez les souris de poids standard et en surpoids (Sw : $-0,7980 \pm 1,135$ %, Ov : $-1,470 \pm 1,526$ %, **Figure 54F**). Cet effet semble être absent chez les souris HFD, chez lesquelles le pourcentage de variation du diamètre est même très légèrement positif à M12 (HFD_{M12} : $2,056 \pm 4,378$ %), de même que chez les souris obèses (Ob : $1,080 \pm 2,379$ %, $F_{(2, 26)} = 0,5795$).

Lorsque les inhibitions des enzymes impliquées dans les voies du glutamate sont réalisées consécutivement (**Figure 55**), l'inhibition de COX I induit une réduction importante du diamètre artériolaire dans les deux groupes, à chaque temps, mais aussi dans toutes les catégories de poids. Ensuite, l'inhibition de COX II n'induit une contraction que chez les souris HFD à M6 (ND_{M6} : $0,299 \pm 1,483$ % .vs HFD_{M6} : $9,462 \pm 2,531$ %, $p < 0,01$). Cet effet est fortement réduit à M12 (HFD_{M12} : $2,515 \pm 2,271$ %, $p = 0,0648$). Dans ce contexte, l'inhibition finale de la nNOS a un effet vasoconstricteur puissant sur les vaisseaux des deux groupes à M6 (ND_{M6} : $-18,45 \pm 7,742$ % .vs HFD_{M6} : $23,01 \pm 7,887$ %), mais qui est réduit à M12 (ND_{M12} : $-10,59 \pm 4,521$ % .vs HFD_{M12} : $14,58 \pm 4,163$ %).

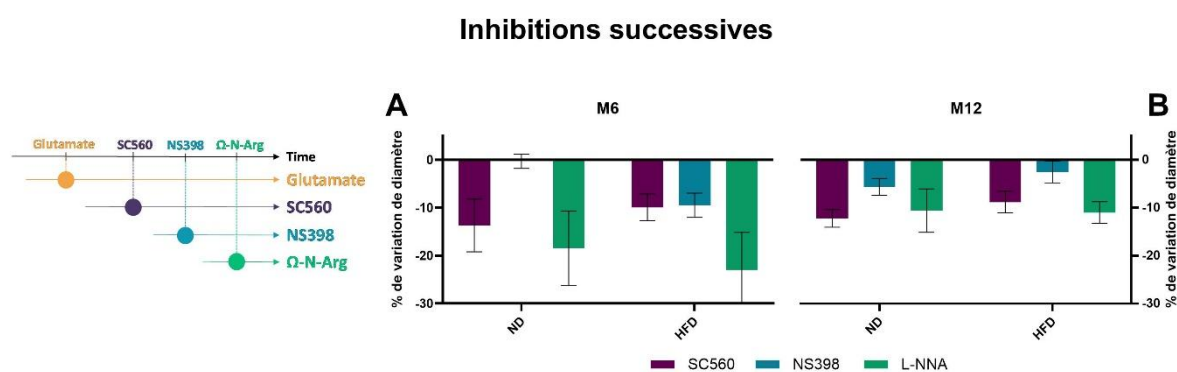


Figure 55 : Impact du régime HFD et de la prise de poids sur la balance d'activité des enzymes des voies glutamatergiques. Des inhibitions spécifiques et successives de COX I, COX II, et de la nNOS ont été réalisées en utilisant respectivement du SC560 100 nM, du NS398 25 μ M et du L-NNA 10 μ M, après une pré-contraction à l'U46619 2,5 μ M. Cette expérience a été réalisée à M6, $n_{ND} = 9$ and $n_{HFD} = 9$ (A) et à M12, $n_{ND} = 13$ and $n_{HFD} = 16$ (B). Les valeurs sont présentées en moyenne $\pm$ SEM.

LA REPONSE AU GLUTAMATE NE VARIE PAS EN FONCTION DU TYPE DE VAISSEAUX

Les vaisseaux peuvent être triés en trois catégories : les petites artérioles (diamètre moyen : $5,457 \pm 0,4554 \mu\text{m}$, $n = 10$), les artérioles moyennes (diamètre moyen : $9,018 \pm 0,2793 \mu\text{m}$, $n = 122$) et les grosses artérioles (diamètre moyen : $17,31 \pm 0,7344 \mu\text{m}$, $n = 29$). L'effet vasodilatateur du glutamate ne varie pas en fonction du type de vaisseau ($F_{(2, 65)} = 1,009$, $p = 0,370$, **Figure 56**).

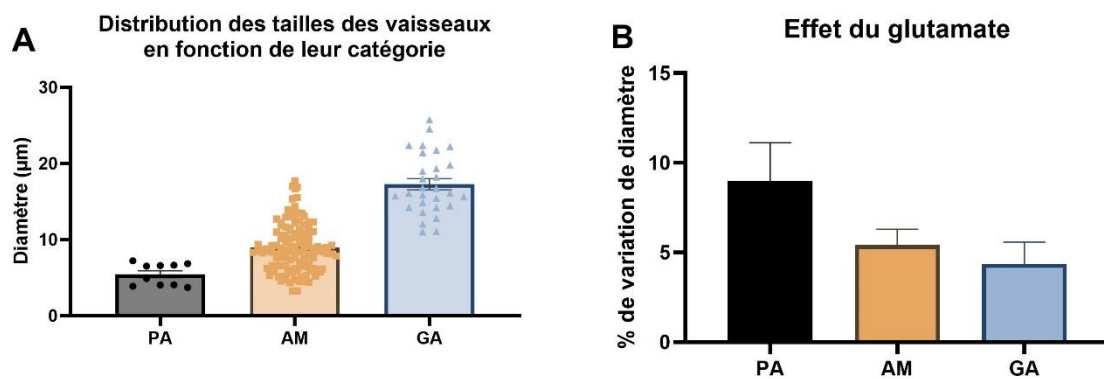


Figure 56 : Effet du diamètre initial du vaisseaux ne fait pas varier la réponse au glutamate.

Les artérioles intra-parenchymateuses observées pendant les expériences de vasomotricité sur tranches peuvent être classées en 3 catégories (**A**) : les petites artérioles (PA), les artérioles moyennes (AM) et les grandes artérioles (GA), en fonction de leur diamètre au repos (A). Effet maximal du glutamate en fonction du type d'artériole (**B**). Les valeurs sont présentées en moyenne $\pm$ SEM.

PROJET 2 : EXPRESSION DE COX2 DANS LE CORTEX PREFRONTAL

La tendance à la dérégulation de la voie glutamatergique neuronale et plus particulièrement de COX II nous a poussés à nous interroger sur l'effet du régime et de la prise de poids sur son niveau d'expression et sa localisation dans les différents compartiments de l'unité neuroglivovasculaire, au sein du cortex préfrontal. Une étude immunohistochimique a donc été menée, afin de mettre en évidence l'expression de COX II au sein des neurones (co-marquage avec NeuN), à proximité des astrocytes activés (co-marquage avec GFAP), de la microglie (co-marquage avec Iba-1) et des cellules endothéliales des vaisseaux intraparenchymateux (co-marquage avec CD31). Le nombre de cellules marquées a été déterminé à l'aide d'une macro sur Fiji Image J, en détectant la fluorescence présente autour des noyaux, marqués au DAPI.

FACTEURS DE NEUROINFLAMMATION

Cette approche immunohistochimique a permis de compter le nombre de cellules exprimant des facteurs intervenant dans la neuroinflammation, tels que GFAP, Iba-1 et COX II.

Le nombre total de cellules exprimant COX II (**Figures 57A-C**) augmente significativement en raison du régime HFD ($F_{(1, 561)} = 5,209$, $p < 0,05$), plus précisément à M6, où ce nombre double ($ND_{M6} : 8,3 \pm 0,614$.vs $HFD_{M6} : 17,937 \pm 2,026$, $p < 0,001$) et se maintient dans le temps jusqu'à M12. De façon intéressante, le nombre de cellules positives à COX II augmente lui aussi significativement dans le temps au sein du groupe ND ($ND_{M12} : 15,043 \pm 1,321$, $p < 0,001$), probablement du fait de la prise de poids. En effet, ce paramètre entraîne une augmentation du nombre de cellules exprimant COX II ($p < 0,01$), avec une augmentation significative entre les souris de poids standard et les souris en surpoids et obèses (Sw : $11,4 \pm 0,892$.vs Ov : $15,79 \pm 1,33$, $p < 0,05$ and .vs Ob : $17,21 \pm 1,881$, $p < 0,01$).

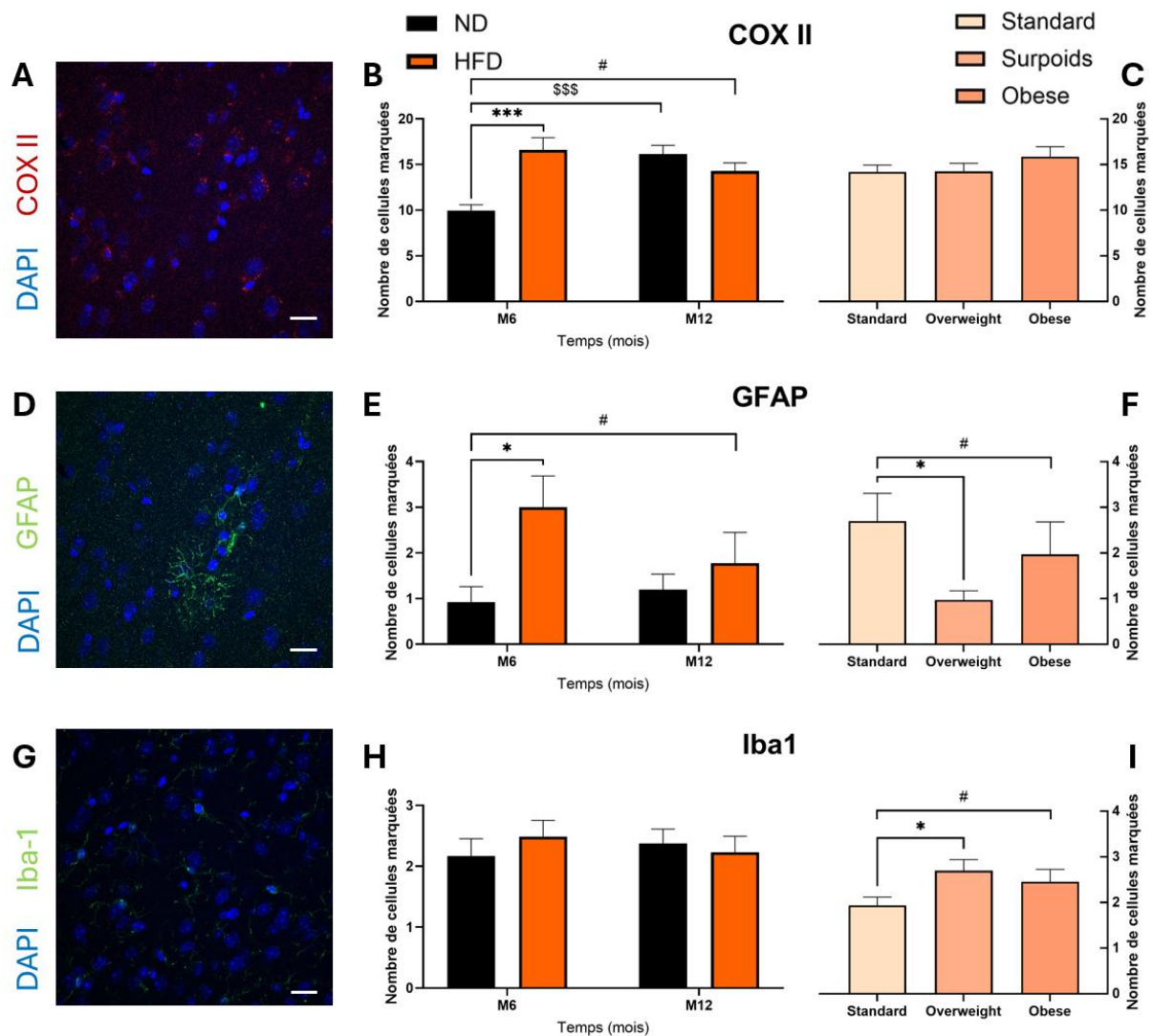


Figure 57 : Le HFD est corrélé à une augmentation du nombre de cellules exprimant des marqueurs de la neuroinflammation. L'expression de ces marqueurs a été mesurée en immunohistochimie, une méthode semi-quantitative. Le nombre moyen de cellules exprimant COX II augmente significativement après 6 mois de HFD, mais aussi avec le temps (A), alors que la prise de poids ne semble pas avoir d'effet sur l'expression de ce marqueur (B). Le nombre moyen d'astrocytes activés, qui expriment GFAP, augmente avec le HFD (C) mais tend à diminuer avec la prise de poids (D). Le nombre moyen de cellules microgliales, qui expriment Iba-1, ne semble pas être modifié par le régime (E), mais augmente avec la prise de poids (F). Les valeurs sont présentées en moyenne $\pm$ SEM. L'analyse statistique a été faite en utilisant l'ANOVA à 2 facteurs pour l'effet du régime : * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$. Le test des comparaisons multiples de S  d  k a été utilisé : * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$, pour la comparaison HFD vs. ND et ## $p < 0,01$ pour la comparaison ND_{M6} vs. ND_{M12}. Pour l'effet de la catégorie de poids, l'ANOVA à 1 facteur a été utilisée, § $p < 0,05$; §§ $p < 0,01$. Le test des comparaisons multiples de Tukey a été utilisé afin de comparer les autres catégories de poids à la catégorie « Poids Standard » : * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$.

Le nombre total de cellules exprimant GFAP (Figures 57D-F) augmente aussi significativement dans le groupe HFD ($F_{(1, 131)} = 6,073$, $p < 0,05$), en particulier à M6 (ND_{M6} : $0,92 \pm 0,341$.vs

HFD_{M6} : $3,0 \pm 0,685$, $p < 0,05$). La prise de poids ne semble pas avoir eu d'impact sur le nombre de cellules GFAP positives, avec même une diminution chez les souris en surpoids par rapport aux souris de poids standard (Sw : $2,7 \pm 0,605$.vs Ov : $0,9683 \pm 0,202$).

Le régime n'a pas d'incidence sur le nombre de cellules exprimant Iba-1 (**Figures 57G-I**), en revanche la prise de poids provoque une augmentation du nombre de cellules microgliales ($F_{(2, 182)} = 3,423$, $p < 0,05$). Les souris de poids standard présentent significativement moins de cellules Iba-1 positives que les souris en surpoids et obèses (Sw : $1,936 \pm 0,184$.vs Ov : $2,698 \pm 0,240$, $p < 0,05$ and .vs Ob : $2,455 \pm 0,271$).

CO-MARQUAGES

L'étude immunohistochimique a été réalisée de façon à pouvoir localiser COX II par rapport aux différents types cellulaires formant l'unité neuroglivovasculaire. COX II a donc été marquée en rouge (AlexaFluor 568), et les neurones (NeuN), astrocytes activés (GFAP), vaisseaux (cellules endothéliales – CD31) et la microglie (Iba-1) ont été marqués en vert (AlexaFluor 488). Nous nous sommes ainsi intéressés aux cellules où l'on pouvait détecter ces deux couleurs, reflétant l'expression de COX II dans ces cellules (dans le cas des neurones), ou bien dans leur proximité proche (suggérant une possible coopération).

CO-MARQUAGE COX II – NeuN

Le régime n'a pas d'effet sur le nombre de neurones exprimant COX II (**Figure 58B**), en revanche on retrouve une différence significative associée à la catégorie de poids (**Figure 58C** ; $F_{(2, 87)} = 8,629$, $p < 0,001$). Celle-ci est principalement due à la nette augmentation de cellules exprimant à la fois NeuN et COX II entre les souris en surpoids et les souris obèses (Ov : $8,465 \pm 0,921$ vs. Ob : $16,43 \pm 1,763$), sans que celle-ci soit significative ($p = 0,1123$, **Figure 58C**).

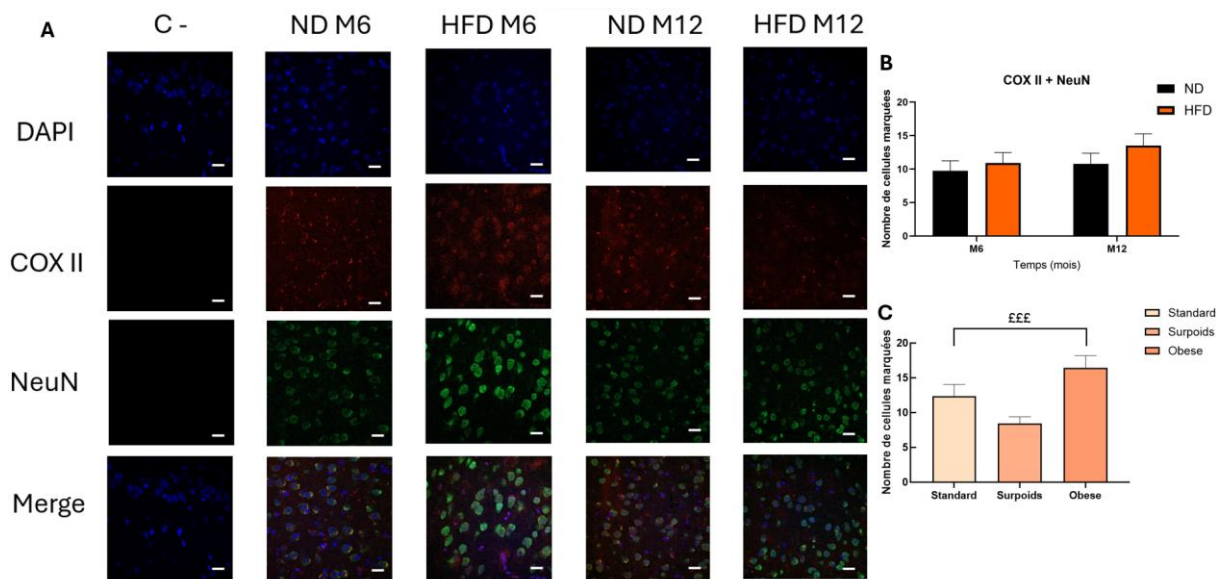


Figure 58 : Expression de COX II à proximité des cellules NeuN-positives. COX II est exprimée par les neurones, quel que soit le régime, l'âge ou la catégorie de poids (A). Le nombre moyen de cellules exprimant à la fois COX II et NeuN dans les deux groupes de régime (B) et dans toutes les catégories de poids (C). La barre sur les photos représente l'échelle (= 20 μ m). Les valeurs sont présentées en moyenne $\pm$ SEM. L'analyse statistique a été faite en utilisant l'ANOVA à 1 facteur : $*** p < 0,001$, pour les catégories de poids.

CO-MARQUAGE COX II - GFAP

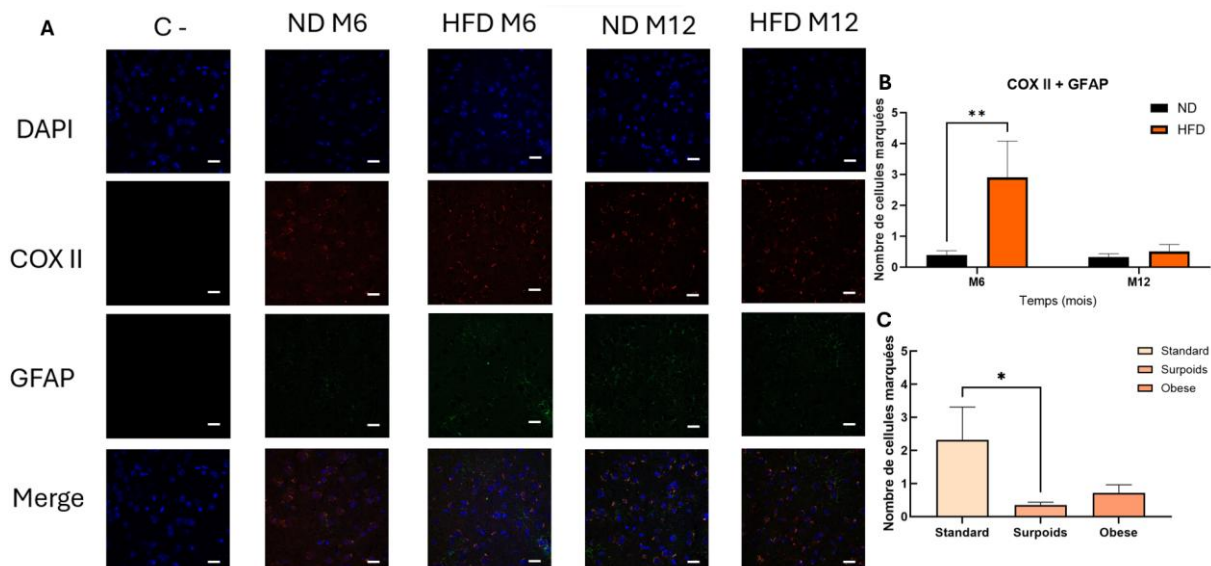


Figure 59 : Expression de COX II à proximité des cellules GFAP-positives. Peu d'astrocytes activés ont dans leur environnement proche des cellules exprimant COX II (A). Le nombre moyen de cellules exprimant à la fois COX II et GFAP est faible chez les souris contrôles, mais augmente transitoirement à M6 chez les souris HFD (B). Il semble diminuer avec la prise de poids (C). La barre sur les photos représente l'échelle (= 20 μ m). Les valeurs sont présentées en moyenne $\pm$ SEM. L'analyse statistique a été faite en utilisant le test des comparaisons

multiples de Šídák : ** $p < 0,01$, pour la comparaison HFD vs. ND. Pour l'effet de la catégorie de poids, l'ANOVA à 1 facteur a été utilisée. Le test des comparaisons multiples de Tukey a été utilisé afin de comparer les autres catégories de poids à la catégorie « Poids Standard » : * $p < 0,05$.

La mise sous régime HFD entraîne une augmentation significative du nombre de cellules exprimant COX II et GFAP dans leur environnement proche à M6 ($ND_{M6} = 0,4 \pm 0,141$ vs. $HFD_{M6} = 2,912 \pm 1,179$, $p < 0,01$, **Figure 59B**). Cet effet n'est pas retrouvé à M12 et ne semble pas associé à la prise de poids (**Figure 59C**).

CO-MARQUAGE COX II - IBA1

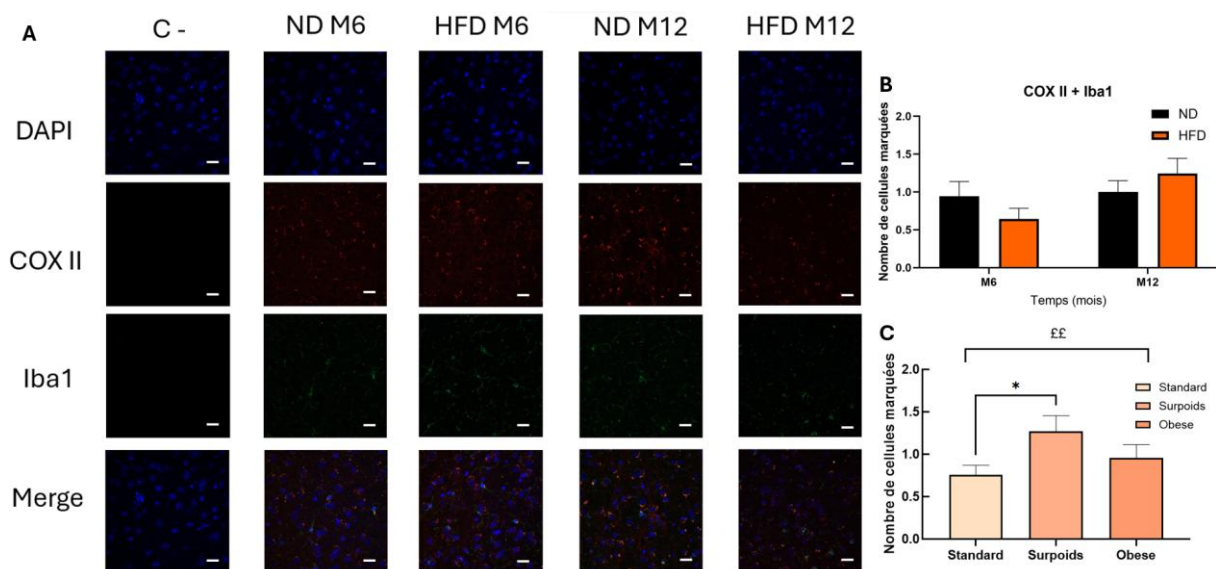


Figure 60 : Expression de COX II à proximité des cellules Iba-1-positives. Peu de cellules microgliales ont dans leur environnement proche des cellules exprimant COX II (**A**). Le nombre moyen de cellules exprimant à la fois COX II et Iba1 est stable dans les deux groupes de régime et dans le temps (**B**), mais il semble augmenter avec la prise de poids (**C**). La barre sur les photos représente l'échelle (= 20 μ m). Les valeurs sont présentées en moyenne $\pm$ SEM. L'analyse statistique a été faite en utilisant l'ANOVA à 1 facteur, FF $p < 0,01$, pour la catégorie de poids. Le test des comparaisons multiples de Tukey a été utilisé afin de comparer les autres catégories de poids à la catégorie « Poids Standard » : * $p < 0,05$.

Le régime ne semble pas avoir d'impact sur la localisation de l'expression de COX II par rapport aux cellules microgliales, même s'il semblerait que le nombre de cellules exprimant COX II et Iba-1 dans leur environnement proche augmente dans le temps chez les souris HFD ($HFD_{M6} = 0,644 \pm 0,139$ vs. $HFD_{M12} = 1,246 \pm 0,199$, $p < 0,05$, **Figure 60B**), alors qu'il est stable dans le temps chez les souris ND ($ND_{M6} = 0,943 \pm 0,196$ vs. $ND_{M12} = 1,00 \pm 0,149$). La prise de poids augmente elle aussi significativement ce nombre ($F_{(2, 182)} = 3,218$, $p < 0,05$, **Figure 60C**).

On retrouve plus particulièrement une augmentation significative entre les souris de poids standard et les souris en surpoids sur ce paramètre (Sw : $0,756 \pm 0,114$ vs. Ov : $1,27 \pm 0,186$, $p < 0,01$), même s'il reste très faible.

CO-MARQUAGE COX II - CD31

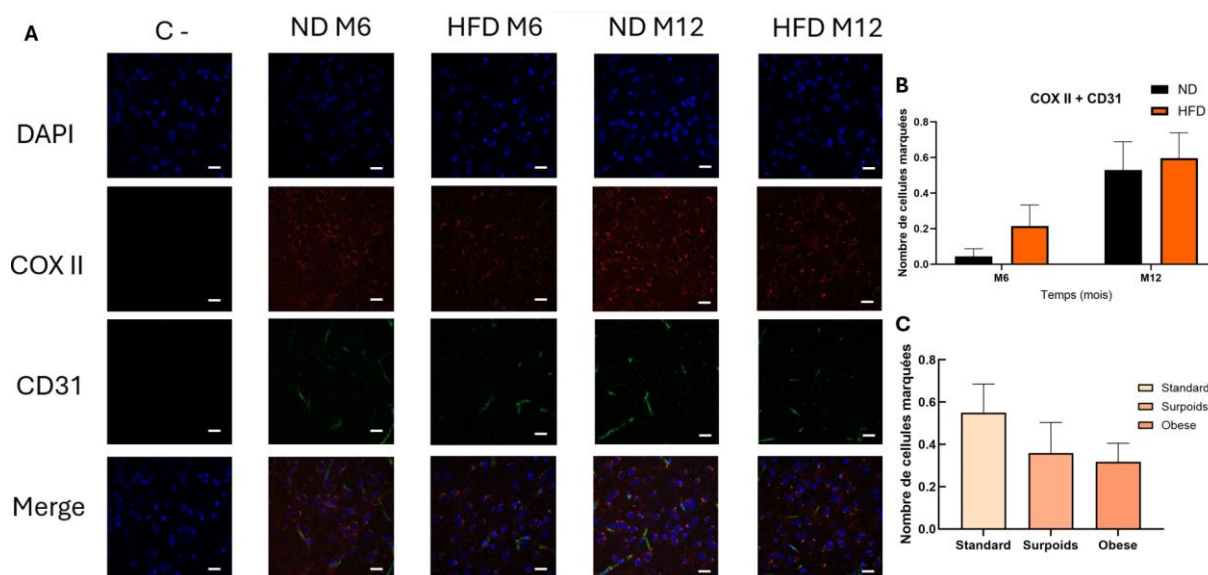


Figure 61 : Expression de COX II à proximité des cellules CD31-positives. Un très faible nombre de vaisseaux ont dans leur environnement proche des cellules exprimant COX II (A). Le nombre moyen de cellules exprimant à la fois COX II et CD31 augmente dans les deux groupes de régime avec le temps (B), mais il tend à diminuer avec la prise de poids (C). La barre sur les photos représente l'échelle (= 20 μ m). Les valeurs sont présentées en moyenne $\pm$ SEM.

Ni le régime ($F_{(1, 150)} = 0,5479$, $p = 0,46$, **Figure 61B**), ni la prise de poids ($F_{(2, 151)} = 0,9156$, $p = 0,40$, **Figure 61C**) ne semblent avoir d'impact sur le nombre de cellules exprimant CD31 et COX II dans leur environnement proche.

PROJET 3 : EXPLORATION ELECTROPHYSIOLOGIQUE DU MODELE

Suite à l'observation de l'existence d'un découplage neuroglivascular associé au glutamate chez les souris de notre modèle, nous nous sommes interrogés sur les répercussions de ce découplage sur la capacité de plasticité synaptique, après la consommation du HFD. Pour cela, nous avons choisi d'étudier l'électrophysiologie du cortex préfrontal, plus particulièrement du faisceau de fibres neuronales de la zone péri-limbique du cortex préfrontal, qui se projettent vers l'hippocampe. Deux protocoles ont été mis au point : un protocole de potentialisation à long-terme (LTP), processus cellulaire à la base de la plasticité synaptique, ainsi qu'un protocole de pulses appariés, qui pourrait donner des informations sur la plasticité de l'élément pré-synaptique.

LTP

Il a été possible d'induire une potentialisation à long-terme chez les souris de notre modèle (**Figure 62**), à nos différents temps d'intérêt et dans nos deux catégories de régime. Même si le nombre de répétitions est trop faible pour faire une étude quantitative, il est à noter que la LTP ne s'est pas maintenue 1 heure entière lorsque nous avons fait cette expérience à J0 (avant la mise sous régime ND ou HFD). De plus, la LTP était particulièrement instable chez les souris sous HFD à M12.

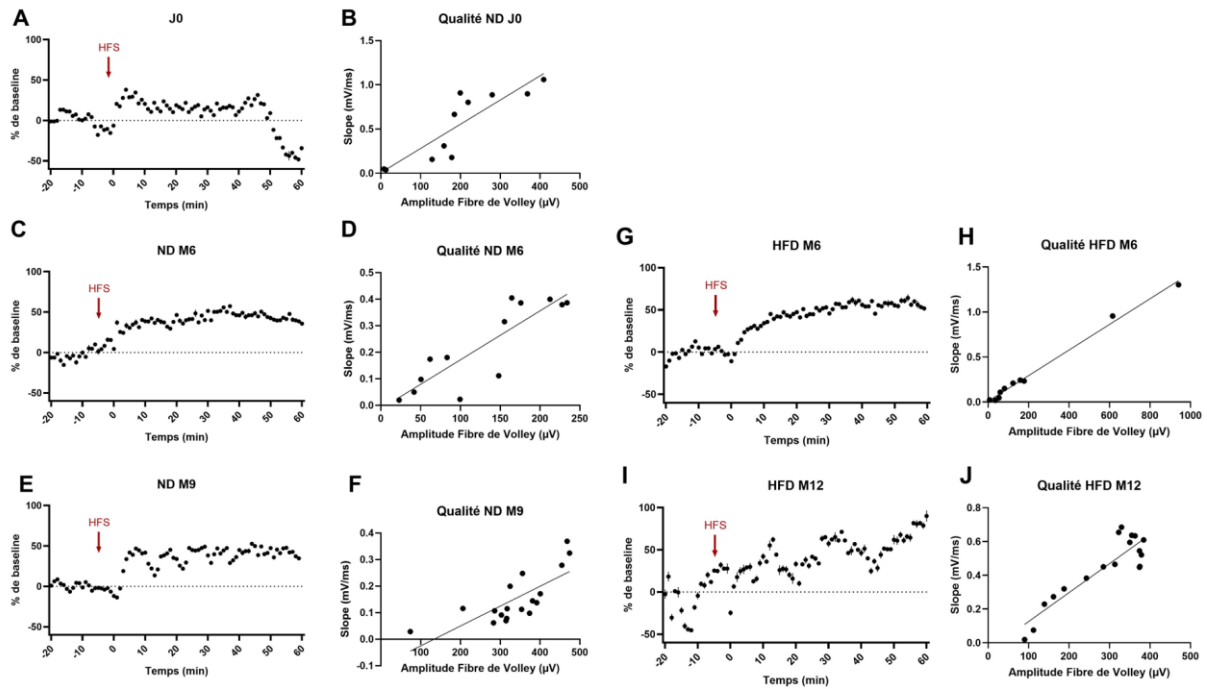


Figure 62 : Il est possible d'induire une potentialisation à long-terme dans le cortex préfrontal, même chez des souris adultes. Illustrations de tracés de LTP obtenus dans les deux groupes de régime et à plusieurs temps, associées à la courbe de contrôle qualité (amplitude de la fibre de Volley en fonction de la pente de la dépolarisation). Une LTP a ainsi pu être observée à J0 (**A-B**), à M6 chez une souris ND (**C-D**) et chez une souris HFD (**G-H**), à M9 chez une souris ND (**E-F**) et à M12 chez une souris HFD (**I-J**).

PULSES APPARIES

La facilitation pré-synaptique est un phénomène qui se produit lorsque deux stimuli arrivent rapidement de façon successive au neurone pré-synaptique. Il consiste en une réponse post-synaptique plus ample suite au second stimulus (P2) par rapport à la réponse au premier stimulus (P1). *Ex vivo*, la facilitation pré-synaptique peut être modélisée par l'envoi de pulses appariés, dont l'intervalle entre chaque stimulus (ISI) est connu et est mesurée par le rapport P1/P2.

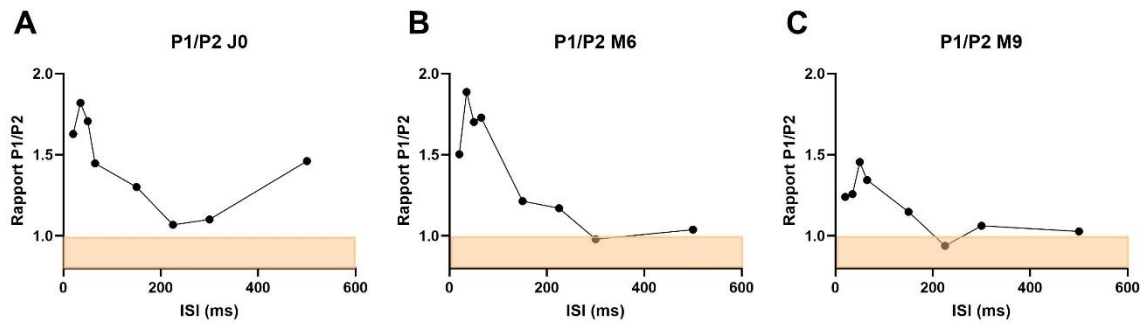


Figure 63 : Exemples de PPF dans notre modèle. Variations du rapport P1/P2 en fonction de l'intervalle inter-pulse (ISI) à J0 (A), M6 (B) et M9 (C).

La mise en place de cette expérience au laboratoire s'est faite parallèlement à celle de LTP (**Figure 63**). Le nombre de répétitions est donc lui aussi trop faible pour permettre ici une étude quantitative, néanmoins, il est intéressant de constater, d'après ces premiers résultats, que même si P1/P2 diminue quand l'ISI augmente, il augmente à nouveau drastiquement lors de la dernière série de stimulation (500 ms), alors qu'il reste très proche de 1 à M6 et M9.

DISCUSSION ET PERSPECTIVES

Mes travaux de thèse avaient pour but de reproduire le développement progressif de troubles du métabolisme, comme on peut l'observer chez l'homme, chez des souris ayant un accès illimité à un régime enrichi en graisses animales, sans exercice physique, jusqu'au milieu de vie. Dans ce contexte, le modèle utilisé est pertinent puisque les souris sous HFD ont pris plus de poids que les souris sous ND et qu'elles ont développé des troubles du métabolisme lipidique et glucidique. Les animaux ont été suivis longitudinalement sur une durée de 12 mois, ce qui a permis de mettre en relation tous les paramètres observés.

L'intérêt de baser l'étude sur le milieu de vie est qu'à ce stade, les changements métaboliques, cérébrovasculaires et cognitifs observés sont encore réversibles et que nous sommes encore à distance du développement des processus neurodégénératifs, ce qui nous assure que les effets observés sont bien liés à nos conditions de régime et aux troubles du métabolisme associés. Cette approche est originale, dans la mesure où nous nous sommes concentrés sur les conséquences du HFD, notamment concernant l'impact des troubles du métabolisme induits par le régime sur l'intégrité de l'unité neurogliovasculaire, de façon mécanistique. Cette cohorte a été observée à l'aide de deux repères : le régime et les catégories de poids. Ceci a permis de différencier les altérations liées au HFD en lui-même, des effets directement associés à une prise de poids et au développement de l'obésité, qui est très fortement corrélée aux autres troubles du métabolisme que présentaient les animaux.

Les résultats obtenus pendant ma thèse ont permis de mettre en évidence les changements fonctionnels cérébrovasculaires s'opérant sous l'effet d'un régime riche en graisses animales et de troubles du métabolisme associés, dans un modèle murin. Dans un premier temps, j'ai montré que malgré une perfusion sanguine globale du cortex préfrontal et de l'hippocampe qui restait inchangée à un âge moyen, le tonus myogénique de l'artère basilaire est fortement altéré par le régime et l'installation des troubles du métabolisme. A l'échelle des artérioles intra-parenchymateuses, j'ai aussi montré qu'il existe un dysfonctionnement de l'effet vasodilatateur du glutamate. Ce neurotransmetteur exciteur, libéré par les neurones du cortex préfrontal peut en effet induire une vasodilatation de ces vaisseaux en agissant soit par une voie neuronale, impliquant les enzymes nNOS et COX II, soit par une voie astrocytaire, sous l'action de COX I. Ces voies de vasodilatation glutamatergiques ont été étudiées à l'aide d'inhibitions spécifiques, ce qui a permis de montrer que le HFD et l'obésité sont responsables

d'un déséquilibre dans le fonctionnement de ces enzymes et plus particulièrement de la voie neuronale.

Ces résultats ont de plus permis d'envisager plusieurs perspectives. D'abord, COX II est l'une des enzymes dont l'équilibre de fonctionnement est perturbé par le HFD et la prise de poids. Une première approche visant à observer la répartition de COX II au sein du cortex préfrontal grâce à l'immunohistochimie a donc été mise en place, afin de déterminer si notre modèle pouvait engendrer des modifications de son niveau d'expression et de sa localisation. Cette étude semi-quantitative a permis de montrer qu'il existe une augmentation du nombre de cellules exprimant COX II dans le cortex préfrontal des souris sous HFD, mais aussi que le HFD et l'obésité peuvent augmenter son expression à proximité des autres cellules de l'unité neuroglivasculaire, ce qui pourrait expliquer les résultats de vasomotricité.

De plus, dans la mesure où la voie de vasodilatation glutamatergique neuronale est altérée dans notre modèle, on peut se demander si les neurones pyramidaux du cortex préfrontal voient eux aussi leur activité être modifiée par nos conditions de régime ou par l'obésité. Ainsi, en parallèle des projets de vasomotricité et d'immunohistochimie, une partie de mon travail a consisté à mettre en place un système d'électrophysiologie sur tranches de cerveau frais et à mettre au point un protocole permettant d'étudier la potentialisation à long-terme des circuits neuronaux du cortex préfrontal.

Ces résultats confirment qu'en milieu de vie, des habitudes de vie « non saines », comme une alimentation trop riche et la sédentarité vont provoquer le développement progressif de troubles du métabolisme, notamment de l'obésité. Cette dernière peut alors engendrer un découplage de l'unité neuroglivasculaire, pouvant conduire au déclin cognitif précédemment décrit.

CARACTERISATION DE LA COHORTE

La caractérisation de mon modèle d'étude a déjà été publiée (Pétrault *et al.*, 2019), cependant, il était important de vérifier que ma cohorte présentait bien les mêmes caractéristiques que celles décrites précédemment. Le suivi du profil métabolique, du comportement et de l'état cognitif des souris a donc été à la base de mon travail de thèse.

Sur le plan métabolique, les animaux HFD de ma cohorte ont développé les mêmes troubles du métabolisme progressivement tout au long du protocole, de la même façon que selon la caractérisation de 2019. Nous avons mis en évidence les troubles du métabolisme suivants : une prise de poids corporelle et des masses adipeuses viscérales importante, une stéatose hépatique, une intolérance au glucose, une intolérance à l'insuline, ainsi qu'une dyslipidémie. Ces animaux remplissent donc 3 des 5 critères du syndrome métabolique : l'adiposité viscérale, l'hyperglycémie et l'hypercholestérolémie ; ce qui suggère un phénotype proche d'un syndrome métabolique. Ainsi, comme détaillé dans l'introduction de ce manuscrit, en comparaison avec les différents modèles pré-cliniques induisant des troubles du métabolisme, notre modèle présente plusieurs avantages : il permet une induction progressive des troubles du métabolisme jusqu'à l'âge moyen, et se rapproche ainsi très fortement des présentations cliniques. De plus, il nous permet d'observer les effets synergiques de troubles du métabolisme multiples (même si nous ne retrouvons pas l'hypertension artérielle).

J'ai aussi pu implémenter de nouvelles méthodes exploratoires dans le suivi des animaux, notamment la SRM, qui m'a permis de doser les lipides cérébraux. Il n'y a pas de différences induites par le HFD, ni par l'obésité sur ce paramètre, malgré la consommation plus importante de graisses saturées présentes dans le HFD. Ce résultat est inattendu, dans la mesure où une dyslipidémie périphérique significative est observée chez ces animaux, on pourrait donc s'attendre à mesurer une augmentation globale des lipides cérébraux. De plus, il est bien connu que dans les modèles pré-cliniques avec alimentation enrichie, on retrouve une accumulation de lipides dans les cellules microgliales, similaire à ce qui peut se produire en périphérie dans les macrophages. En effet, dans un modèle de souris HFD, les cellules microgliales hippocampiques sont suractivées et présentent un nombre plus important de gouttelettes lipidiques (Yao *et al.*, 2024; Zhuang *et al.*, 2022).

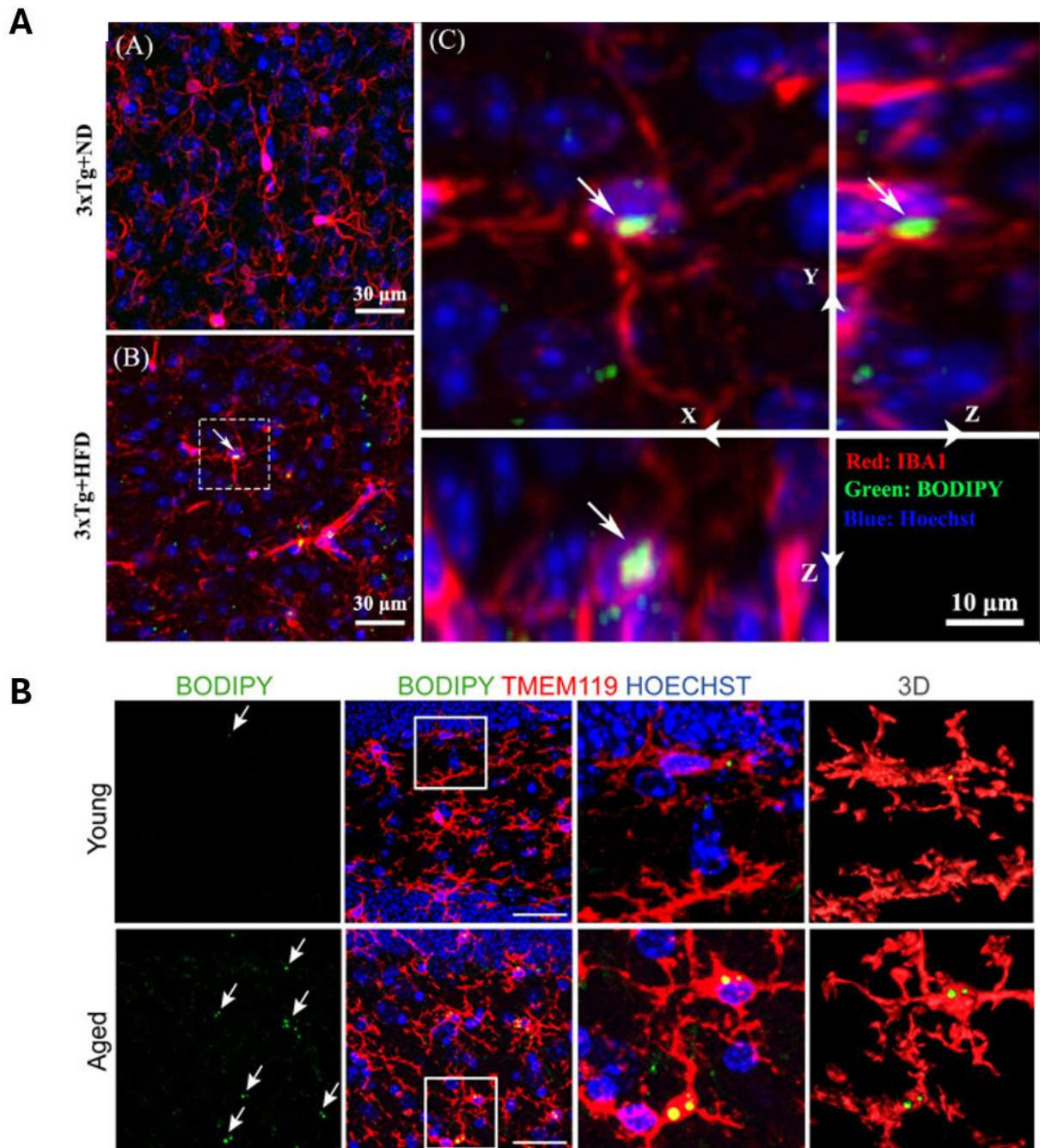


Figure 64 : Accumulation de gouttelettes lipidiques dans les cellules microgliales associée au HFD. Issu de *Liang et al., 2024 (A)* et de *Marschallinger et al., 2020 (B)*.

Liang et collaborateurs (**Figure 64**) ont même montré que chez des souris 3xTg-AD, 3 mois de HFD ont suffi au développement de gouttelettes lipidiques dans les cellules microgliales (Liang *et al.*, 2024). Ceci conduit à une modification de leur morphologie et de leur métabolisme des acides gras, promouvant une libération anormale de cytokines pro-inflammatoires et une infiltration de lymphocytes T, soit une neuroinflammation accrue. Le contenu de ces gouttelettes lipidiques peut varier selon les situations, cependant, elles contiendraient

majoritairement des lipides neutres comme les glycérolipides (Marschallinger *et al.*, 2020). Il n'y aurait donc pas d'impact direct sur le niveau de saturation des lipides cérébraux.

Le résultat obtenu pendant ma thèse est certainement lié à la méthode utilisée. La SRM, chez le petit animal, n'est pas assez sensible pour déterminer avec précision le rapport d'insaturation des lipides cérébraux. La microscopie SRS (Stimulated Raman Scattering, ou CARS) ou imagerie vibrationnelle est plus couramment utilisée pour cet usage (Li *et al.*, 2024; Marschallinger *et al.*, 2020), car elle est particulièrement performante pour repérer les chaînes carbonées des lipides. En ce sens, il serait également intéressant de réaliser un marquage au BODIPY sur des tranches de cerveau, associé à un marquage de la microglie (**Figure 64**) afin d'observer les gouttelettes lipidiques intra-parenchymateuses. Ceci pourrait en effet nous apporter des indications complémentaires sur le stockage des lipides au niveau cérébral dans notre modèle, ce qui irait dans le sens d'un état neuroinflammatoire lié à une surcharge métabolique.

Sur le plan comportemental, les souris de ma cohorte correspondent au profil décrit en 2019 (altération de la motricité spontanée, sans qu'il n'y ait d'atteinte de leur comportement anxieux). Sur le plan cognitif, il faut cependant noter que l'obésité a eu un impact majeur sur la motricité spontanée, ce qui a eu perturbé l'apprentissage dans le labyrinthe de Barnes. En effet, les souris obèses ne se déplaçaient pas pendant les sessions, ce qui a provoqué des positionnements aléatoires lors du test et a donc empêché une interprétation cohérente de leur mémoire spatiale à long-terme, mais aussi de leur flexibilité cognitive.

Les animaux ne présentent pas de signes d'une perte de la mémoire spatiale, évaluée à court-terme ici grâce au labyrinthe en Y. Il faut cependant noter que les animaux étaient soumis trois fois à ce test, à 3 mois d'intervalle : il est donc envisageable que la répétition puisse avoir faussé ce résultat aux temps d'étude plus avancés. La préservation de la mémoire spatiale était attendue, puisqu'elle rejoint les observations faites précédemment (Pétrault *et al.*, 2019), alors mesurées avec le labyrinthe de Barnes.

Les changements dans l'enrichissement opérés par l'animalerie au début de ma thèse (avec notamment l'incorporation de « sizzles », qui semblent provoquer une nidation plus importante des animaux lors de leur stabulation), pourraient donc être responsables du manque d'intérêt à l'exploration dont ont fait preuve les souris lors des différents tests

(Kentner *et al.*, 2021). Plus particulièrement, ceci s'est traduit par une diminution de l'index NOR chez les souris ND. Il est donc impossible de conclure à un quelconque effet du régime ou de la catégorie de poids sur la mémoire de reconnaissance visuelle dans ma cohorte. Cependant, il est encourageant de constater que si ces « sizzles » ne sont pas présentés aux animaux mais remplacés par un autre enrichissement (carrés de cellulose), on retrouve des index NOR similaires à ceux publiés en 2019.

Pour aller plus loin, l'analyse des taux de NAA et de créatine en SRM a montré qu'il n'y a pas de différence significative liée au HFD, ni à la prise de poids pour ces métabolites. Or, ils sont utilisés comme des marqueurs de l'activité et de l'intégrité neuronale. Ainsi, même s'il est rassurant de voir que ces paramètres sont restés stables dans notre modèle (pour l'étude électrophysiologique notamment), on peut tout de même noter une différence entre ce résultat et les observations courantes en clinique chez des patients atteints par un syndrome métabolique. En effet, chez ces derniers, le taux de NAA est augmenté par rapport à des contrôles (Haley *et al.*, 2010; Karczewska-Kupczewska *et al.*, 2013; Tiehuis *et al.*, 2010), souvent en corrélation avec la résistance à l'insuline. Il est cependant notable que l'augmentation du NAA n'est pas associé à un déclin cognitif plus prononcé chez ces patients.

Enfin, l'observation de la volumétrie du cortex préfrontal et de l'hippocampe a permis de montrer que le HFD et l'obésité n'induisent pas, en milieu de vie, de changements neuroanatomiques laissant supposer une neurodégénérescence, comme l'a montré la caractérisation de 2019.

On peut donc conclure que les animaux de ma cohorte présentent bien le même phénotype métabolique et comportemental qu'en 2019, sans que l'on n'ait pu mettre en évidence le déclin cognitif pourtant précédemment décrit dans ce modèle. Les résultats du test du NOR sur la mémoire de reconnaissance visuelle montrent que l'on retrouve une altération de cette fonction, après avoir remis les conditions d'enrichissement des animaux telles que précédemment, ce qui est encourageant pour la suite des expériences sur ce modèle.

PROJET 1 : EXPLORATION CÉREBROVASCULAIRE DU MODELE ET ETUDE DES VOIES GLUTAMATERGIQUES

Les animaux de notre modèle d'étude présentent donc des troubles du métabolisme multiples, et d'après la caractérisation de 2019, un déclin cognitif ainsi qu'une altération de la dilatation des artéioles intra-parenchymateuses (Pétrault *et al.*, 2019). L'altération de la performance vasculaire cérébrale et périphérique, à travers la dysfonction endothéliale des microvaisseaux, avait déjà été suggéré par les travaux de Brant et collaborateurs comme explication du lien entre le déclin cognitif et le syndrome métabolique (Brant *et al.*, 2018), cependant, cette étude clinique n'avait pas proposé de mécanismes pathologiques précis au sein de l'unité neuroglivovasculaire. Une exploration cérébrovasculaire complète du modèle a donc été menée lors de ma thèse.

Lors de la caractérisation de 2019, à l'aide du laser Doppler, une diminution du flux sanguin cérébral avait été mise en évidence dans le territoire Sylvien des souris HFD dès M6, sans qu'il y ait de modification de la perfusion cérébrale au repos (Pétrault *et al.*, 2019). Cette diminution du flux sanguin s'observait en parallèle de l'apparition des troubles du métabolisme, périphériques, et du déclin cognitif, central. On peut donc se demander si le compartiment vasculaire, et par extension l'unité neuroglivovasculaire, pourraient avoir une implication dans l'apparition concomitante de ces symptômes. Au cours de mon étude, j'ai aussi observé une perfusion cérébrale au repos stable entre les conditions de régime et les catégories de poids (PASL). Cependant, mes travaux ont mis en évidence une altération du tonus myogénique de l'artère basilaire chez les souris HFD et obèses, dès M6, et aggravée à M12. Ce résultat est soutenu par d'autres études, sur les artères mésentériques (Krüger *et al.*, 2020; Sweazea and Walker, 2012), où cette diminution est associée à un stress oxydatif causée par une dérégulation du métabolisme du NO. La diminution significative du tonus myogénique de l'artère basilaire pourrait avoir des implications majeures sur la santé cérébrale sur le long-terme, puisqu'il s'agit de l'accès principal du flux sanguin entrant dans le cerveau murin. Par exemple, elle pourrait être responsable de la diminution significative du flux sanguin cérébral observée précédemment dans notre modèle, mais aussi dans d'autres étude pré-cliniques (Fu *et al.*, 2017) et cliniques (Birdsill *et al.*, 2013). En revanche, alors qu'un déficit significatif de perfusion cérébrale sanguine est bien décrit dans la littérature chez les patients présentant

des troubles du métabolisme (de la Torre, 2012; Han *et al.*, 2023; Knight *et al.*, 2021; Vreeken *et al.*, 2023), ce n'est pas le cas dans notre modèle. Ceci suggère que les conséquences de la diminution du flux sanguin cérébral pourraient être liées aux dérégulations du couplage neurogliovasculaire, qui sont elles-mêmes associées au déclin cognitif (Tarantini *et al.*, 2015).

Pendant mon doctorat, l'étude du NGVC s'est concentrée sur le glutamate et ses voies de vasodilatation. La réponse vasodilatatrice induite par le glutamate est significativement réduite à M12 par le HFD et la prise de poids. Dans un système à l'équilibre, l'effet vasodilatateur du glutamate est altéré uniquement chez les souris en surpoids et obèses, à tous les temps de l'étude, ce qui va dans le sens de notre hypothèse. Une diminution de la réponse au carbachol (Pétrault *et al.*, 2019) et à l'acétyl choline (Dunn *et al.*, 2017; Lynch *et al.*, 2013; Phillips *et al.*, 2005), associée à des troubles du métabolisme avait déjà été mise en évidence (bien qu'il s'agisse ici d'un mécanisme uniquement endothélium-dépendant).

La réponse vasodilatatrice au glutamate est médiée par une voie astrocytaire, faisant intervenir COX I, et une voie neuronale, impliquant COX II et la nNOS (Cauli and Hamel, 2010). Au niveau astrocytaire, la libération de glutamate induit une augmentation de la concentration intra-cellulaire en calcium qui active COX I. Cette enzyme libère ensuite différents médiateurs vasodilatateurs, comme les acides époxyeicosatriénoïques (EETs) et les prostaglandines (Iadecola, 2017; Zonta *et al.*, 2003b). L'activation astrocytaire par le glutamate pourrait être le résultat de récepteurs métabotropiques (mGluR2/3) et/ou des transporteurs EAAT1 et EAAT2. Le lien entre la libération du glutamate et l'augmentation de la concentration en calcium n'est pas bien connu (Mishra *et al.*, 2024). En utilisant un inhibiteur spécifique, nous avons mis en évidence une réduction de la contribution de COX I à la vasodilatation glutamatergique dans le groupe HFD. Cette diminution de la contribution de la voie astrocytaire est surtout marquée avec la prise de poids, ce qui pose la question d'une éventuelle activation compensatoire des enzymes de la voie neuronale pour la vasodilatation résiduelle observée.

Concernant la composante neuronale de la dilatation glutamatergique, la liaison du glutamate aux récepteurs NMDA des neurones post-synaptiques permet de libérer du NO par la nNOS dépendante du calcium au niveau des cellules musculaires lisses vasculaires, favorisant ainsi une vasodilatation (Busija *et al.*, 2007). L'augmentation de la concentration intra-cellulaire de

calcium qui suit l'activation des NMDAR permet l'action de COX II, qui métabolise ensuite l'acide arachidonique (AA) en prostaglandine E2 (PGE2), permettant la vasodilatation en se fixant aux récepteurs EP2-4 (Lacroix *et al.*, 2015; Niwa *et al.*, 2000; Omori *et al.*, 2014). Ce travail a permis de montrer que, lors des inhibitions successives, le HFD augmente la contribution de la nNOS dans la vasodilatation induite par le glutamate, ainsi que celle de COX II, à M6. Cette réorganisation enzymatique permettrait dans un premier temps de compenser la voie astrocytaire, ainsi, on ne retrouve pas encore de perturbation de l'effet vasodilatateur maximal du glutamate dans ce groupe à M6. Cette compensation est limitée dans le temps, puisqu'à M12, on observe une diminution de l'activité potentielle de ces enzymes. Ce résultat suggère qu'il existe une dysfonction de la réponse de la voie glutamatergique neuronale dans notre modèle. La progression des troubles du métabolisme induits par le HFD avec le temps atteint un stade très avancé chez les souris obèses, qui sont majoritaires dans ce groupe, à M12. Les troubles du métabolisme induits par le régime, jusqu'à l'obésité, seraient donc responsables de l'altération de cette réponse.

L'hétérogénéité des réponses obtenues au sein des différents groupes de régime ne permettant pas de dégager de différences significatives, nous avons par la suite choisi de représenter les données en ne prenant plus en compte les catégories de poids indépendamment des groupes de régime, mais de créer un groupe contrôle ne comprenant que les souris ND de poids standard. De cette façon, nous avons pu mettre en évidence une différence significative entre ce groupe de souris contrôles, et les souris du groupe HFD, qui présentent une hétérogénéité dans leur prise de poids bien décrite (Burcelin *et al.*, 2002), tant pour montrer la diminution de la contribution de COX I chez les souris HFD, dès M6 et jusqu'à M12, que pour confirmer la compensation par les enzymes de la voie neuronale à M6, qui ne se maintient pas dans le temps.

NEUROVASCULAR CHANGES INDUCED BY METABOLIC DISORDERS

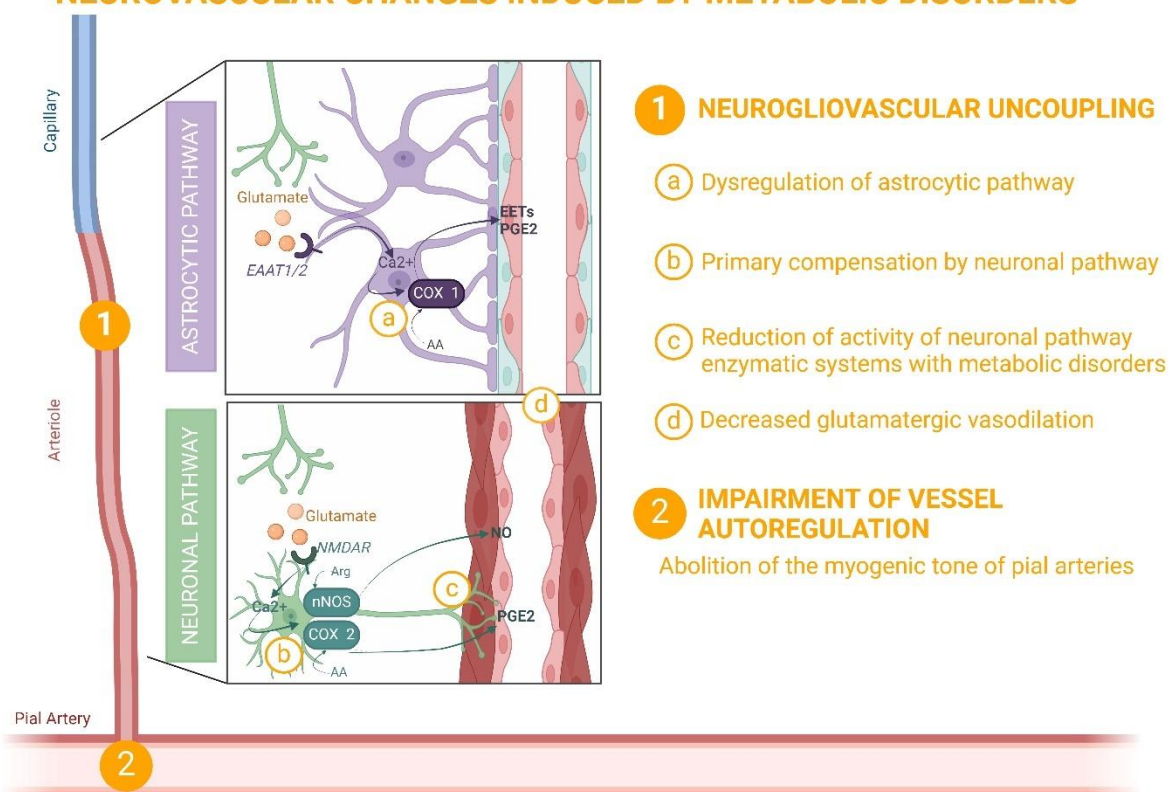


Figure 65 : Altérations neurovasculaires causées par les troubles du métabolisme induits par le HFD dans notre modèle. Figure utilisée comme *Graphical Abstract* dans notre publication.

Enfin, même si ce travail s'est principalement concentré sur des artérioles intra-parenchymateuses de taille moyenne ($9,018 \pm 0,279 \mu\text{m}$, $n = 122$), nous avons aussi mené quelques expériences de vasomotricité sur tranches en observant des artérioles plus petites ($n = 10$) et plus grosses ($n = 29$). Il est intéressant de noter que l'effet du glutamate n'a pas été significativement modifié par le type de vaisseaux, dans cette étude. Cela signifie que la diminution de la vasodilatation observée chez les souris HFD est bien spécifiquement associée au régime et à la prise de poids, et non due à une différence de diamètre des vaisseaux.

Ces résultats (**Figure 65**) montrent pour la première fois que l'administration d'un HFD peut, sur le long-terme, conduire à un découplage neuroglivascular, le glutamate étant un effecteur de l'activité neuronale ayant un effet direct sur la vasodilatation cérébrale. Toutes les altérations ici décrites sous-entendent une détérioration importante de la fonction cérébrovasculaire lorsque l'on prend en compte la loi de Poiseuille, qui, prédit qu'avec la diminution de près de 10 % de la capacité vasodilatatrice glutamate-dépendante observée

dans cette étude, il y aurait une privation potentielle de près de la moitié du flux sanguin au niveau local. Ces changements peuvent donc être à l'origine du déclin cognitif induit chez les souris d'âge moyen soumises à un HFD.

Nos résultats ont montré qu'il n'y avait pas d'impact du régime ou de la catégorie de poids sur la quantité de glutamate disponible, ce qui confirme que les altérations sont liées à une dysfonction des voies du glutamate et non pas à sa disponibilité. Il est cependant intéressant de constater que plusieurs études ont montré que le déclin cognitif associé à la maladie d'Alzheimer est associé à une augmentation du taux de glutamate quantifié en SRM dans le cortex préfrontal de patients (Haley *et al.*, 2010; Karczewska-Kupczewska *et al.*, 2013). Cette observation peut suggérer que nous nous trouvons bien en amont de troubles neurodégénératifs plus prononcés que ceux induits à l'âge moyen dans notre modèle.

L'astrocyte sert de carrefour métabolique entre le sang circulant et les neurones (Beard *et al.*, 2021; Bélanger *et al.*, 2011). La diminution de la contribution de la voie astrocytaire mise en évidence pendant nos travaux pourrait laisser penser que la surcharge métabolique induite par le HFD et le syndrome métabolique qu'il provoque cause un dysfonctionnement astrocytaire. Dans de prochains travaux, l'étude des vagues calciques, pourraient nous permettre de vérifier ce postulat. Cela pourrait aussi nous permettre d'observer si le HFD et les troubles du métabolisme induits ont un effet sur le VNC, à travers la modulation de l'activité des canaux TRPV4.

PROJET 2 : EXPRESSION DE COX2 DANS LE CORTEX PREFRONTAL

Mes travaux de thèse ont permis de montrer que la contribution de la COX II dans la vasodilatation glutamatergique augmente dans un premier temps, puis diminue drastiquement, en lien avec l'installation et l'aggravation des troubles du métabolisme. Dans ce contexte, il semble nécessaire de préciser que cette enzyme, même si elle est exprimée constitutivement par les neurones pyramidaux, est associée à de l'inflammation en périphérie et peut aussi voir son expression augmenter dans un contexte de neuroinflammation (Minghetti, 2007; Yamagata *et al.*, 1993). Or, la neuroinflammation est un autre facteur mentionné lorsque l'on cherche à faire le lien entre les troubles du métabolisme, périphériques et le déclin cognitif (Guillemot-Legris *et al.*, 2016; Pistell *et al.*, 2010). En effet l'obésité, notamment, est responsable d'une inflammation de bas grade continue (Butler *et al.*, 2025; Fuentes *et al.*, 2023). Or, les cytokines et autres molécules inflammatoires secrétées par les macrophages résidents du tissu adipeux blanc sont libérées dans la circulation sanguine et peuvent ensuite passer la BHE et induire de la neuroinflammation (Gómez-Apo *et al.*, 2021).

Dans cette étude, trois marqueurs de neuroinflammation ont été mesurés : COX II, GFAP (marqueur des astrocytes activés) et Iba-1 (marqueur des cellules microgliales), grâce à une approche d'immunohistochimie, considérée comme semi-quantitative. L'expression de COX II est augmentée significativement par le HFD dès M6 dans le cortex préfrontal, de même que l'expression de GFAP. Ce résultat indique une hyperactivation astrocytaire dans notre modèle, qui pourrait être causée par une surcharge métabolique induite par le HFD (Naveed *et al.*, 2025). La modification du statut lipidique impliquant les acides gras saturés est connue pour détériorer le métabolisme énergétique cérébral, ce qui peut avoir des conséquences pathologiques, puisque les astrocytes servent de réserve métabolique pour les neurones.

Ici, on peut poser l'hypothèse que cette hyperactivation astrocytaire soit liée à la contribution de COX I au NGVC. De plus, l'augmentation de l'expression de COX II pourrait conduire à une production dysfonctionnelle de métabolites vasoactifs et contribuer probablement au découplage neuroglivovasculaire. Enfin, on sait que le NO est très sensible au stress oxydant. La perte de la compensation de la vasodilatation glutamatergique par la nNOS pourrait donc

être due au stress oxydant causé par le contexte neuroinflammatoire. La validation de cette hypothèse nécessite cependant d'explorer plus précisément l'expression de ces facteurs, mais aussi de suivre la production des métabolites vasoactifs.

Cette étude a aussi montré une augmentation de l'expression d'Iba-1, le marqueur des cellules microgliales, associée à la prise de poids. Or, comme cela a été mentionné plus tôt, le syndrome métabolique est à l'origine d'une augmentation du taux d'acides gras dans le cerveau, stockés sous la forme de gouttelettes lipidiques dans les cellules microgliales. Ces dernières vont elles aussi induire de la neuroinflammation, à travers l'activation du neuroinflammasome NLRP3 (Cuicui Wang *et al.*, 2023), qui est lui aussi activé lors de l'inflammation de bas grade (Litwiniuk *et al.*, 2021). Ce résultat supporte l'hypothèse de l'induction d'une neuroinflammation par nos conditions de régime et les multiples troubles du métabolisme associés.

Dans la littérature, il est également suggéré que COX II puisse être exprimée dans d'autres types cellulaires, dans un contexte neuroinflammatoire tel que le syndrome métabolique (Hirst *et al.*, 1999; López and Ballaz, 2020). Les co-marquages de COX II avec les types cellulaires de l'unité neurogliovasculaire montrent que l'augmentation de l'expression de COX II, associée au régime et à la prise de poids se fait bien dans les neurones pyramidaux du cortex préfrontal, mais aussi à proximité de cellules microgliales et des cellules endothéliales vasculaires. Les résultats de ce co-marquage avec les astrocytes activés sont plus difficiles à interpréter, puisqu'on observe une forte augmentation du nombre de cellules exprimant COX II et GFAP dans leur environnement proche à M6, sans que cela ne se maintienne à M12 et sans relation apparente à la prise de poids. Cette étude pourrait être complétée par le marquage d'astrocytes non activés (avec le marqueur S100 β , par exemple), afin de préciser ce dernier résultat.

Cette analyse est aussi limitée par son caractère semi-quantitatif. Une quantification plus poussée, de protéomique ou de transcriptomique, par exemple, pourrait apporter des informations plus précises. Dans cette optique, il a déjà été prévu de faire une analyse par RNA-seq des marqueurs de neuroinflammation et de COX II dans le cortex préfrontal de nos souris. Mais cette analyse pourrait aller plus loin afin d'analyser plus largement le métabolisme de l'acide arachidonique, ce qui pourrait aussi nous donner des informations sur

les mécanismes moléculaires plus fins mis en œuvre dans le découplage neurogliovasculaire de notre modèle.

PROJET 3 : EXPLORATION ELECTROPHYSIOLOGIQUE DU MODELE

La dynamique de compensation puis de diminution de la contribution à la vasodilatation glutamatergique des enzymes de la voie neuronale soulève la question suivante : quelles sont les conséquences du HFD et des troubles du métabolisme associés sur le fonctionnement des neurones glutamatergiques du cortex préfrontal ? Puisque l'exploration cérébrovasculaire menée pendant ma thèse nous a donné des informations sur son statut de neurotransmetteur chimique, il semblait nécessaire de s'intéresser en parallèle à ses propriétés excitatrices. Il a donc été prévu de mettre au point, au cours de mon doctorat, plusieurs protocoles d'électrophysiologie :

- Un protocole de potentialisation à long-terme (LTP)
- L'étude de la facilitation pré-synaptique (PPF)
- L'étude de la balance inhibition/excitation

La mise en place de ces protocoles a nécessité beaucoup d'ajustements, de notre poste de travail, dans un premier temps, puis de tous les paramètres qui nous permettent aujourd'hui d'avoir des protocoles précis et fixes d'électrophysiologie : le façonnage des micro-pipettes, les zones à stimuler/à enregistrer, le type de stimulation haute fréquence pour l'induction de la LTP, la caractérisation des réponses (amplitudes à obtenir, analyse de la pente...). Il a également été nécessaire d'ajuster les protocoles décrits dans la littérature aux les souris de notre modèle, qui sont bien plus âgées que dans la plupart des études de référence (3 semaines contre M6 à M12 dans notre étude). Le choix d'étudier les réseaux synaptiques du cortex pré-frontal, plutôt que les réseaux hippocampiques, bien mieux décrits, n'a pas simplifié cette tâche. Ce projet a donc pris beaucoup plus de temps que prévu initialement.

Cependant, au terme de mon doctorat, nous avons pu mettre au point le protocole de LTP ainsi que le protocole des pulses appariés, maintenant poursuivis pour un projet de Master 2, ce qui pourra donner lieu à une étude quantitative sur l'effet du HFD sur ces paramètres à M6 et à M12. Dans la mesure où COX II a été reconnue comme un régulateur de la formation des ligands aux récepteurs cannabinoïdes (CB1), et que ces récepteurs peuvent ainsi diminuer la neurotransmission hippocampique excitatrice (Slanina & Schweitzer, 2005), il pourrait être

pertinent d'analyser l'impact de la modulation de l'activité de COX II sur la LTP et la facilitation pré-synaptique.

En conclusion, les résultats de mes travaux de thèse prouvent l'existence d'un découplage neurogliovasculaire, mais aussi d'altérations neurovasculaires après 12 mois de HFD chez un modèle de souris présentant un déclin cognitif induit par les troubles du métabolisme. Cette étude décrit aussi les mécanismes neurovasculaires impliqués, mettant en jeu une altération de la composante glutamatergique astrocytaire, associée à une compensation neuronale qui est perdue dans le temps en lien avec l'aggravation des troubles du métabolisme induits par le régime. L'étude immunohistochimique suggère un contexte neuroinflammatoire qui pourrait être associé aux dysfonctions astrocytaires et neuronales observées. La mise en place de méthodes quantitatives plus précises, pour la détection des lipides, mais aussi des marqueurs du fonctionnement des enzymes impliquées dans les voies glutamatergiques sont nécessaires à la confirmation de cette hypothèse. Le développement de l'exploration électrophysiologique est en cours au laboratoire et permettra de continuer à obtenir des résultats originaux et de mettre en évidence d'autres mécanismes associant les troubles du métabolisme au déclin cognitif observés dans notre modèle.

BIBLIOGRAPHIE

- Agarwal, S., Sair, H.I., Pillai, J.J., 2021. The Problem of Neurovascular Uncoupling. *Neuroimaging Clinics of North America*, fMRI in the Pre-Operative Brain Tumor Setting 31, 53–67. <https://doi.org/10.1016/j.nic.2020.09.003>
- Altintas, M.M., Azad, A., Nayer, B., Contreras, G., Zaia, J., Faul, C., Reiser, J., Nayer, A., 2011. Mast cells, macrophages, and crown-like structures distinguish subcutaneous from visceral fat in mice. *Journal of Lipid Research* 52, 480–488. <https://doi.org/10.1194/jlr.M011338>
- Angus, J.A., Jennings, G.L., Sudhir, K., 1992. Enhanced contraction to noradrenaline, serotonin and nerve stimulation but normal endothelium-derived relaxing factor response in skin small arteries in human primary hypertension. *Clin Exp Pharmacol Physiol Suppl* 19, 39–47. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1681.1992.tb02809.x>
- Araque, A., Sanzgiri, R.P., Parpura, V., Haydon, P.G., 1999. Astrocyte-induced modulation of synaptic transmission. *Can J Physiol Pharmacol* 77, 699–706.
- Ascherio, A., Schwarzschild, M.A., 2016. The epidemiology of Parkinson’s disease: risk factors and prevention. *The Lancet Neurology* 15, 1257–1272. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(16\)30230-7](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(16)30230-7)
- Attwell, D., Buchan, A.M., Charpak, S., Lauritzen, M., Macvicar, B.A., Newman, E.A., 2010. Glial and neuronal control of brain blood flow. *Nature* 468, 232–243. <https://doi.org/10.1038/nature09613>
- Attwell, D., Mishra, A., Hall, C.N., O’Farrell, F.M., Dalkara, T., 2016. What is a pericyte? *J Cereb Blood Flow Metab* 36, 451–455. <https://doi.org/10.1177/0271678X15610340>
- Au, R., Massaro, J.M., Wolf, P.A., Young, M.E., Beiser, A., Seshadri, S., D’Agostino, R.B., DeCarli, C., 2006. Association of white matter hyperintensity volume with decreased cognitive functioning: the Framingham Heart Study. *Arch Neurol* 63, 246–250. <https://doi.org/10.1001/archneur.63.2.246>
- Bahrami, K., Shi, F., Reiki, I., Gao, Y., Shen, D., 2017. 7T-guided super-resolution of 3T MRI. *Med Phys* 44, 1661–1677. <https://doi.org/10.1002/mp.12132>
- Barloese, M.C.J., Bauer, C., Petersen, E.T., Hansen, C.S., Madsbad, S., Siebner, H.R., 2022. Neurovascular Coupling in Type 2 Diabetes With Cognitive Decline. A Narrative Review of Neuroimaging Findings and Their Pathophysiological Implications. *Front Endocrinol (Lausanne)* 13, 874007. <https://doi.org/10.3389/fendo.2022.874007>
- Baughman, R.W., Gilbert, C.D., 1981. Aspartate and glutamate as possible neurotransmitters in the visual cortex. *J Neurosci* 1, 427–439. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.01-04-00427.1981>
- Beard, E., Lengacher, S., Dias, S., Magistretti, P.J., Finsterwald, C., 2021. Astrocytes as Key Regulators of Brain Energy Metabolism: New Therapeutic Perspectives. *Front Physiol* 12, 825816. <https://doi.org/10.3389/fphys.2021.825816>
- Beilharz, J.E., Maniam, J., Morris, M.J., 2015. Diet-Induced Cognitive Deficits: The Role of Fat and Sugar, Potential Mechanisms and Nutritional Interventions. *Nutrients* 7, 6719–6738. <https://doi.org/10.3390/nu7085307>
- Bekaert, S., De Meyer, T., Van Oostveldt, P., 2005. Telomere attrition as ageing biomarker. *Anticancer Res* 25, 3011–3021.

- Bélanger, M., Allaman, I., Magistretti, P.J., 2011. Brain energy metabolism: focus on astrocyte-neuron metabolic cooperation. *Cell Metab* 14, 724–738. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2011.08.016>
- Bernier, M., Cunnane, S.C., Whittingstall, K., 2018. The morphology of the human cerebrovascular system. *Hum Brain Mapp* 39, 4962–4975. <https://doi.org/10.1002/hbm.24337>
- Bertoux, M., Cassagnaud, P., Lebouvier, T., Lebert, F., Sarazin, M., Le Ber, I., Dubois, B., NeuroCEB Brain Bank, Auriacombe, S., Hannequin, D., Wallon, D., Ceccaldi, M., Maurage, C.-A., Deramecourt, V., Pasquier, F., 2020. Does amnesia specifically predict Alzheimer's pathology? A neuropathological study. *Neurobiol Aging* 95, 123–130. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2020.07.011>
- Bethlehem, R. a. I., Seidlitz, J., White, S.R., Vogel, J.W., Anderson, K.M., Adamson, C., Adler, S., Alexopoulos, G.S., Anagnostou, E., Areces-Gonzalez, A., Astle, D.E., Auyeung, B., Ayub, M., Bae, J., Ball, G., Baron-Cohen, S., Beare, R., Bedford, S.A., Benegal, V., Beyer, F., Blangero, J., Blesa Cábez, M., Boardman, J.P., Borzage, M., Bosch-Bayard, J.F., Bourke, N., Calhoun, V.D., Chakravarty, M.M., Chen, C., Chertavian, C., Chetelat, G., Chong, Y.S., Cole, J.H., Corvin, A., Costantino, M., Courchesne, E., Crivello, F., Cropley, V.L., Crosbie, J., Crossley, N., Delarue, M., Delorme, R., Desrivieres, S., Devenyi, G.A., Di Biase, M.A., Dolan, R., Donald, K.A., Donohoe, G., Dunlop, K., Edwards, A.D., Elison, J.T., Ellis, C.T., Elman, J.A., Eyler, L., Fair, D.A., Feczko, E., Fletcher, P.C., Fonagy, P., Franz, C.E., Galan-Garcia, L., Gholipour, A., Giedd, J., Gilmore, J.H., Glahn, D.C., Goodyer, I.M., Grant, P.E., Groenewold, N.A., Gunning, F.M., Gur, R.E., Gur, R.C., Hammill, C.F., Hansson, O., Hedden, T., Heinz, A., Henson, R.N., Heuer, K., Hoare, J., Holla, B., Holmes, A.J., Holt, R., Huang, H., Im, K., Ipser, J., Jack, C.R., Jackowski, A.P., Jia, T., Johnson, K.A., Jones, P.B., Jones, D.T., Kahn, R.S., Karlsson, H., Karlsson, L., Kawashima, R., Kelley, E.A., Kern, S., Kim, K.W., Kitzbichler, M.G., Kremen, W.S., Lalonde, F., Landeau, B., Lee, S., Lerch, J., Lewis, J.D., Li, J., Liao, W., Liston, C., Lombardo, M.V., Lv, J., Lynch, C., Mallard, T.T., Marcelis, M., Markello, R.D., Mathias, S.R., Mazoyer, B., McGuire, P., Meaney, M.J., Mechelli, A., Medic, N., Misic, B., Morgan, S.E., Mothersill, D., Nigg, J., Ong, M.Q.W., Ortinau, C., Ossenkoppele, R., Ouyang, M., Palaniyappan, L., Paly, L., Pan, P.M., Pantelis, C., Park, M.M., Paus, T., Pausova, Z., Paz-Linares, D., Pichet Binette, A., Pierce, K., Qian, X., Qiu, J., Qiu, A., Raznahan, A., Rittman, T., Rodrigue, A., Rollins, C.K., Romero-Garcia, R., Ronan, L., Rosenberg, M.D., Rowitch, D.H., Salum, G.A., Satterthwaite, T.D., Schaare, H.L., Schachar, R.J., Schultz, A.P., Schumann, G., Schöll, M., Sharp, D., Shinohara, R.T., Skoog, I., Smyser, C.D., Sperling, R.A., Stein, D.J., Stolicyn, A., Suckling, J., Sullivan, G., Taki, Y., Thyreau, B., Toro, R., Traut, N., Tsvetanov, K.A., Turk-Browne, N.B., Tuulari, J.J., Tzourio, C., Vachon-Presseau, É., Valdes-Sosa, M.J., Valdes-Sosa, P.A., Valk, S.L., van Amelsvoort, T., Vandekar, S.N., Vasung, L., Victoria, L.W., Villeneuve, S., Villringer, A., Vértes, P.E., Wagstyl, K., Wang, Y.S., Warfield, S.K., Warrior, V., Westman, E., Westwater, M.L., Whalley, H.C., Witte, A.V., Yang, N., Yeo, B., Yun, H., Zalesky, A., Zar, H.J., Zettergren, A., Zhou, J.H., Ziauddeen, H., Zugman, A., Zuo, X.N., Bullmore, E.T., Alexander-Bloch, A.F., 2022. Brain charts for the human lifespan. *Nature* 604, 525–533. <https://doi.org/10.1038/s41586-022-04554-y>
- Birdsill, A.C., Carlsson, C.M., Willette, A.A., Okonkwo, O.C., Johnson, S.C., Xu, G., Oh, J.M., Gallagher, C.L., Kosciak, R.L., Jonaitis, E.M., Hermann, B.P., LaRue, A., Rowley, H.A., Asthana, S., Sager, M.A., Bendlin, B.B., 2013. Low cerebral blood flow is associated with

- lower memory function in metabolic syndrome. *Obesity* (Silver Spring) 21, 1313–1320. <https://doi.org/10.1002/oby.20170>
- Bonda, D.J., Stone, J.G., Torres, S.L., Siedlak, S.L., Perry, G., Kryscio, R., Jicha, G., Casadesus, G., Smith, M.A., Zhu, X., Lee, H.-G., 2014. Dysregulation of leptin signaling in Alzheimer disease: evidence for neuronal leptin resistance. *J Neurochem* 128, 162–172. <https://doi.org/10.1111/jnc.12380>
- Bowie, D., 2008. Ionotropic Glutamate Receptors & CNS Disorders. *CNS Neurol Disord Drug Targets* 7, 129–143.
- Braak, H., Braak, E., 1998. Evolution of neuronal changes in the course of Alzheimer's disease. *J Neural Transm Suppl* 53, 127–140. https://doi.org/10.1007/978-3-7091-6467-9_11
- Brainin, M., Tuomilehto, J., Heiss, W.-D., Bornstein, N.M., Bath, P.M.W., Teuschl, Y., Richard, E., Guekht, A., Quinn, T., Group, the P.S.C.S., 2015. Post-stroke cognitive decline: an update and perspectives for clinical research. *European Journal of Neurology* 22, 229–e16. <https://doi.org/10.1111/ene.12626>
- Brant, L., Bos, D., Araujo, L.F., Ikram, M.A., Ribeiro, A.L., Barreto, S.M., 2018. Microvascular endothelial function and cognitive performance: The ELSA-Brasil cohort study. *Vasc Med* 23, 212–218. <https://doi.org/10.1177/1358863X18755004>
- Breder, C.D., Saper, C.B., 1996. Expression of inducible cyclooxygenase mRNA in the mouse brain after systemic administration of bacterial lipopolysaccharide. *Brain Res* 713, 64–69. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(95\)01474-8](https://doi.org/10.1016/0006-8993(95)01474-8)
- Bredt, D.S., Snyder, S.H., 1990. Isolation of nitric oxide synthetase, a calmodulin-requiring enzyme. *Proc Natl Acad Sci U S A* 87, 682–685. <https://doi.org/10.1073/pnas.87.2.682>
- Brok, M.H. den, Raaijmakers, T.K., Collado-Camps, E., Adema, G.J., 2018. Lipid Droplets as Immune Modulators in Myeloid Cells. *Trends in Immunology* 39, 380–392. <https://doi.org/10.1016/j.it.2018.01.012>
- Burcelin, R., Crivelli, V., Dacosta, A., Roy-Tirelli, A., Thorens, B., 2002. Heterogeneous metabolic adaptation of C57BL/6J mice to high-fat diet. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 282, E834–842. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00332.2001>
- Busija, D.W., Bari, F., Domoki, F., Louis, T., 2007. Mechanisms involved in the cerebrovascular dilator effects of N-methyl-D-aspartate in cerebral cortex. *Brain Research Reviews* 56, 89–100. <https://doi.org/10.1016/j.brainresrev.2007.05.011>
- Butler, M.J., Muscat, S.M., Caetano-Silva, M.E., Shrestha, A., Olmo, B.M.G., Mackey-Alfonso, S.E., Massa, N., Alvarez, B.D., Blackwell, J.A., Bettles, M.N., DeMarsh, J.W., McCusker, R.H., Allen, J.M., Barrientos, R.M., 2025. Obesity-associated memory impairment and neuroinflammation precede widespread peripheral perturbations in aged rats. *Immunity & Ageing* 22, 2. <https://doi.org/10.1186/s12979-024-00496-3>
- Buxton, R.B., Frank, L.R., 1997. A model for the coupling between cerebral blood flow and oxygen metabolism during neural stimulation. *J Cereb Blood Flow Metab* 17, 64–72. <https://doi.org/10.1097/00004647-199701000-00009>
- Caesar, K., Hashemi, P., Douhou, A., Bonvento, G., Boutelle, M.G., Walls, A.B., Lauritzen, M., 2008. Glutamate receptor-dependent increments in lactate, glucose and oxygen metabolism evoked in rat cerebellum in vivo. *J Physiol* 586, 1337–1349. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2007.144154>

- Calcinaghi, N., Jolivet, R., Wyss, M.T., Ametamey, S.M., Gasparini, F., Buck, A., Weber, B., 2011. Metabotropic glutamate receptor mGluR5 is not involved in the early hemodynamic response. *J Cereb Blood Flow Metab* 31, e1–e10. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.2011.96>
- Carare, R.O., Hawkes, C.A., Jeffrey, M., Kalaria, R.N., Weller, R.O., 2013. Review: Cerebral amyloid angiopathy, prion angiopathy, CADASIL and the spectrum of protein elimination failure angiopathies (PEFA) in neurodegenerative disease with a focus on therapy. *Neuropathology and Applied Neurobiology* 39, 593–611. <https://doi.org/10.1111/nan.12042>
- Carles, A., Freysson, A., Perin-Dureau, F., Rubinstenn, G., Maurice, T., 2024. Targeting N-Methyl-d-Aspartate Receptors in Neurodegenerative Diseases. *Int J Mol Sci* 25, 3733. <https://doi.org/10.3390/ijms25073733>
- Carlson, M.C., Hasher, L., Connelly, S.L., Zacks, R.T., 1995. Aging, distraction, and the benefits of predictable location. *Psychology and Aging* 10, 427–436. <https://doi.org/10.1037/0882-7974.10.3.427>
- Case, N.F., Charlton, A., Zwiers, A., Batool, S., McCreary, C.R., Hogan, D.B., Ismail, Z., Zerna, C., Coutts, S.B., Frayne, R., Goodyear, B., Haffenden, A., Smith, E.E., 2016. Cerebral Amyloid Angiopathy Is Associated With Executive Dysfunction and Mild Cognitive Impairment. *Stroke* 47, 2010–2016. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.116.012999>
- Cassot, F., Lauwers, F., Fouard, C., Prohaska, S., Lauwers-Cances, V., 2006. A Novel Three-Dimensional Computer-Assisted Method for a Quantitative Study of Microvascular Networks of the Human Cerebral Cortex. *Microcirculation* 13, 1–18. <https://doi.org/10.1080/10739680500383407>
- Catchlove, S.J., Pipingas, A., Hughes, M.E., Macpherson, H., 2018. Magnetic resonance imaging for assessment of cerebrovascular reactivity and its relationship to cognition: a systematic review. *BMC Neuroscience* 19, 21. <https://doi.org/10.1186/s12868-018-0421-4>
- Cauli, B., Hamel, E., 2018. Brain Perfusion and Astrocytes. *Trends in Neurosciences* 41, 409–413. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2018.04.010>
- Cauli, B., Hamel, E., 2010. Revisiting the role of neurons in neurovascular coupling. *Front Neuroenergetics* 2, 9. <https://doi.org/10.3389/fnene.2010.00009>
- Cauli, B., Tong, X.-K., Rancillac, A., Serluca, N., Lambolez, B., Rossier, J., Hamel, E., 2004. Cortical GABA interneurons in neurovascular coupling: relays for subcortical vasoactive pathways. *J Neurosci* 24, 8940–8949. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3065-04.2004>
- Chan, S.-L., Nelson, M.T., Cipolla, M.J., 2019. Transient receptor potential vanilloid-4 channels are involved in diminished myogenic tone in brain parenchymal arterioles in response to chronic hypoperfusion in mice. *Acta Physiol (Oxf)* 225, e13181. <https://doi.org/10.1111/apha.13181>
- Chao, L.L., Buckley, S.T., Kornak, J., Schuff, N., Madison, C., Yaffe, K., Miller, B.L., Kramer, J.H., Weiner, M.W., 2010. ASL perfusion MRI predicts cognitive decline and conversion from MCI to dementia. *Alzheimer Dis Assoc Disord* 24, 19–27. <https://doi.org/10.1097/WAD.0b013e3181b4f736>

- Cipolla, M.J., Smith, J., Kohlmeyer, M.M., Godfrey, J.A., 2009. SKCa and IKCa Channels, myogenic tone, and vasodilator responses in middle cerebral arteries and parenchymal arterioles: effect of ischemia and reperfusion. *Stroke* 40, 1451–1457. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.108.535435>
- Clyne, A.M., 2021. Endothelial response to glucose: dysfunction, metabolism, and transport. *Biochem Soc Trans* 49, 313–325. <https://doi.org/10.1042/BST20200611>
- Coupé, P., Manjón, J.V., Robles, M., Collins, D.L., 2012. Adaptive multiresolution non-local means filter for three-dimensional magnetic resonance image denoising. *IET Image Processing* 6, 558–568. <https://doi.org/10.1049/iet-ipr.2011.0161>
- Császár, E., Lénárt, N., Cserép, C., Környei, Z., Fekete, R., Pósai, B., Balázsfi, D., Hangya, B., Schwarcz, A.D., Szabadits, E., Szöllősi, D., Szigeti, K., Máthé, D., West, B.L., Sviatkó, K., Brás, A.R., Mariani, J.-C., Kliewer, A., Lenkei, Z., Hricisák, L., Benyó, Z., Baranyi, M., Sperlág, B., Menyhárt, Á., Farkas, E., Dénes, Á., 2022. Microglia modulate blood flow, neurovascular coupling, and hypoperfusion via purinergic actions. *J Exp Med* 219, e20211071. <https://doi.org/10.1084/jem.20211071>
- Cullinane, P.W., de Pablo Fernandez, E., König, A., Outeiro, T.F., Jaunmuktane, Z., Warner, T.T., 2023. Type 2 Diabetes and Parkinson’s Disease: A Focused Review of Current Concepts. *Movement Disorders* 38, 162–177. <https://doi.org/10.1002/mds.29298>
- Czapski, G.A., Strosznajder, J.B., 2021. Glutamate and GABA in Microglia-Neuron Cross-Talk in Alzheimer’s Disease. *Int J Mol Sci* 22, 11677. <https://doi.org/10.3390/ijms222111677>
- Dabertrand, F., Hannah, R.M., Pearson, J.M., Hill-Eubanks, D.C., Brayden, J.E., Nelson, M.T., 2013. Prostaglandin E2, a postulated astrocyte-derived neurovascular coupling agent, constricts rather than dilates parenchymal arterioles. *J Cereb Blood Flow Metab* 33, 479–482. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.2013.9>
- Davis, S., Butcher, S.P., Morris, R.G., 1992. The NMDA receptor antagonist D-2-amino-5-phosphonopentanoate (D-AP5) impairs spatial learning and LTP in vivo at intracerebral concentrations comparable to those that block LTP in vitro. *J Neurosci* 12, 21–34. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.12-01-00021.1992>
- de la Torre, J.C., 2012. Cardiovascular risk factors promote brain hypoperfusion leading to cognitive decline and dementia. *Cardiovasc Psychiatry Neurol* 2012, 367516. <https://doi.org/10.1155/2012/367516>
- de Leeuw, F.E., de Groot, J.C., Achten, E., Oudkerk, M., Ramos, L.M., Heijboer, R., Hofman, A., Jolles, J., van Gijn, J., Breteler, M.M., 2001. Prevalence of cerebral white matter lesions in elderly people: a population based magnetic resonance imaging study. The Rotterdam Scan Study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 70, 9–14. <https://doi.org/10.1136/jnnp.70.1.9>
- de Montgolfier, O., Thorin-Trescases, N., Thorin, E., 2020. Pathological Continuum From the Rise in Pulse Pressure to Impaired Neurovascular Coupling and Cognitive Decline. *Am J Hypertens* 33, 375–390. <https://doi.org/10.1093/ajh/hpaa001>
- De Reuck, J., Deramecourt, V., Auger, F., Durieux, N., Cordonnier, C., Devos, D., Defebvre, L., Moreau, C., Caparros-Lefebvre, D., Bordet, R., Maurage, C.A., Pasquier, F., Leys, D., 2014. Post-mortem 7.0-tesla magnetic resonance study of cortical microinfarcts in neurodegenerative diseases and vascular dementia with neuropathological correlates.

- Journal of the Neurological Sciences 346, 85–89.
<https://doi.org/10.1016/j.jns.2014.07.061>
- Debanne, D., Inglebert, Y., Russier, M., 2019. Plasticity of intrinsic neuronal excitability. *Current Opinion in Neurobiology, Neurobiology of Learning and Plasticity* 54, 73–82.
<https://doi.org/10.1016/j.conb.2018.09.001>
- Debette, S., 2013. Vascular risk factors and cognitive disorders. *Rev. Neurol. (Paris)* 169, 757–764. <https://doi.org/10.1016/j.neurol.2013.07.022>
- Del Franco, A.P., Chiang, P.-P., Newman, E.A., 2022. Dilation of cortical capillaries is not related to astrocyte calcium signaling. *Glia* 70, 508–521. <https://doi.org/10.1002/glia.24119>
- Deramecourt, V., 2013. Vascular neuropathology and cognitive decline. *Revue Neurologique, Démences : nouveaux concepts, nouveaux enjeux / Dementia: new concepts, new goals* 169, 765–771. <https://doi.org/10.1016/j.neurol.2013.07.008>
- Devonshire, I.M., Papadakis, N.G., Port, M., Berwick, J., Kennerley, A.J., Mayhew, J.E.W., Overton, P.G., 2012. Neurovascular coupling is brain region-dependent. *Neuroimage* 59, 1997–2006. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2011.09.050>
- Diabète [WWW Document], n.d. URL <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/diabetes> (accessed 4.11.25).
- Dichgans, M., Leys, D., 2017. Vascular Cognitive Impairment. *Circ Res* 120, 573–591. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.116.308426>
- Dik, M.G., Jonker, C., Comijs, H.C., Deeg, D.J.H., Kok, A., Yaffe, K., Penninx, B.W., 2007. Contribution of Metabolic Syndrome Components to Cognition in Older Individuals. *Diabetes Care* 30, 2655–2660. <https://doi.org/10.2337/dc06-1190>
- Drew, P.J., 2022. Neurovascular coupling: motive unknown. *Trends Neurosci* 45, 809–819. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2022.08.004>
- Dugger, B.N., Dickson, D.W., 2017. Pathology of Neurodegenerative Diseases. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 9, a028035. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a028035>
- Dunn, K.M., Nelson, M.T., 2010. Potassium channels and neurovascular coupling. *Circ J* 74, 608–616. <https://doi.org/10.1253/circj.cj-10-0174>
- Dunn, S.M., Hilgers, R., Das, K.C., 2017. Decreased EDHF-mediated relaxation is a major mechanism in endothelial dysfunction in resistance arteries in aged mice on prolonged high-fat sucrose diet. *Physiol Rep* 5, e13502. <https://doi.org/10.14814/phy2.13502>
- Dw, B., Dd, H., 1984. Factors involved in the physiological regulation of the cerebral circulation. *Reviews of physiology, biochemistry and pharmacology* 101. <https://doi.org/10.1007/BFb0027696>
- El-Lebedy, D., Raslan, H.M., Mohammed, A.M., 2016. Apolipoprotein E gene polymorphism and risk of type 2 diabetes and cardiovascular disease. *Cardiovasc Diabetol* 15, 12. <https://doi.org/10.1186/s12933-016-0329-1>
- Erickson, J.C., Hollopeter, G., Palmiter, R.D., 1996. Attenuation of the obesity syndrome of ob/ob mice by the loss of neuropeptide Y. *Science* 274, 1704–1707. <https://doi.org/10.1126/science.274.5293.1704>
- Escartin, C., Galea, E., Lakatos, A., O’Callaghan, J.P., Petzold, G.C., Serrano-Pozo, A., Steinhäuser, C., Volterra, A., Carmignoto, G., Agarwal, A., Allen, N.J., Araque, A.,

- Barbeito, L., Barzilai, A., Bergles, D.E., Bonvento, G., Butt, A.M., Chen, W.-T., Cohen-Salmon, M., Cunningham, C., Deneen, B., De Strooper, B., Díaz-Castro, B., Farina, C., Freeman, M., Gallo, V., Goldman, J.E., Goldman, S.A., Götz, M., Gutiérrez, A., Haydon, P.G., Heiland, D.H., Hol, E.M., Holt, M.G., Iino, M., Kastanenka, K.V., Kettenmann, H., Khakh, B.S., Koizumi, S., Lee, C.J., Liddelow, S.A., MacVicar, B.A., Magistretti, P., Messing, A., Mishra, A., Molofsky, A.V., Murai, K.K., Norris, C.M., Okada, S., Oliet, S.H.R., Oliveira, J.F., Panatier, A., Parpura, V., Pekna, M., Pekny, M., Pellerin, L., Perea, G., Pérez-Nievas, B.G., Pfrieger, F.W., Poskanzer, K.E., Quintana, F.J., Ransohoff, R.M., Riquelme-Perez, M., Robel, S., Rose, C.R., Rothstein, J.D., Rouach, N., Rowitch, D.H., Semyanov, A., Sirko, S., Sontheimer, H., Swanson, R.A., Vitorica, J., Wanner, I.-B., Wood, L.B., Wu, J., Zheng, B., Zimmer, E.R., Zorec, R., Sofroniew, M.V., Verkhratsky, A., 2021. Reactive astrocyte nomenclature, definitions, and future directions. *Nat Neurosci* 24, 312–325. <https://doi.org/10.1038/s41593-020-00783-4>
- Fan, G., Liu, M., Liu, J., Huang, Y., 2023. The initiator of neuroexcitotoxicity and ferroptosis in ischemic stroke: Glutamate accumulation. *Front Mol Neurosci* 16, 1113081. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2023.1113081>
- Farooqui, A.A., Farooqui, T., Panza, F., Frisardi, V., 2012. Metabolic syndrome as a risk factor for neurological disorders. *Cell. Mol. Life Sci.* 69, 741–762. <https://doi.org/10.1007/s00018-011-0840-1>
- Fearnley, J.M., Lees, A.J., 1991. Ageing and Parkinson's disease: substantia nigra regional selectivity. *Brain* 114 (Pt 5), 2283–2301. <https://doi.org/10.1093/brain/114.5.2283>
- Feng, L., Gao, L., 2024. The role of neurovascular coupling dysfunction in cognitive decline of diabetes patients. *Front Neurosci* 18, 1375908. <https://doi.org/10.3389/fnins.2024.1375908>
- Figueroa, D.S., Kemeny, S.F., Clyne, A.M., 2014. Glycated Collagen Decreased Endothelial Cell Fibronectin Alignment in Response to Cyclic Stretch Via Interruption of Actin Alignment. *Journal of Biomechanical Engineering* 136. <https://doi.org/10.1115/1.4028037>
- Filosa, J.A., Bonev, A.D., Straub, S.V., Meredith, A.L., Wilkerson, M.K., Aldrich, R.W., Nelson, M.T., 2006. Local potassium signaling couples neuronal activity to vasodilation in the brain. *Nat Neurosci* 9, 1397–1403. <https://doi.org/10.1038/nn1779>
- Filosa, J.A., Iddings, J.A., 2013. Astrocyte regulation of cerebral vascular tone. *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology* 305, H609. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00359.2013>
- Filosa, J.A., Yao, X., Rath, G., 2013. TRPV4 and the regulation of vascular tone. *J Cardiovasc Pharmacol* 61, 113–119. <https://doi.org/10.1097/FJC.0b013e318279ba42>
- Fitzpatrick, A.L., Kuller, L.H., Ives, D.G., Lopez, O.L., Jagust, W., Breitner, J.C.S., Jones, B., Lyketsos, C., Dulberg, C., 2004. Incidence and prevalence of dementia in the Cardiovascular Health Study. *J Am Geriatr Soc* 52, 195–204. <https://doi.org/10.1111/j.1532-5415.2004.52058.x>
- Fouard, C., Malandain, G., Prohaska, S., Westerhoff, M., 2006. Blockwise processing applied to brain microvascular network study. *IEEE Transactions on Medical Imaging* 25, 1319–1328. <https://doi.org/10.1109/TMI.2006.880670>

- Fournier, A.P., Morvan, M.I., Martinez de Lizarrondo, S., Gauberti, M., 2024. Immuno-MRI for Stroke Diagnosis and Prognosis. *Neuroscience* 550, 53–61. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2023.12.007>
- Francis, H., Stevenson, R., 2013. The longer-term impacts of Western diet on human cognition and the brain. *Appetite* 63, 119–128. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2012.12.018>
- Fratini, M., Bukreeva, I., Campi, G., Brun, F., Tromba, G., Modregger, P., Bucci, D., Battaglia, G., Spanò, R., Mastrogiacomo, M., Requardt, H., Giove, F., Bravin, A., Cedola, A., 2015. Simultaneous submicrometric 3D imaging of the micro-vascular network and the neuronal system in a mouse spinal cord. *Sci Rep* 5, 8514. <https://doi.org/10.1038/srep08514>
- Fu, Z., Wu, J., Nesil, T., Li, M.D., Aylor, K.W., Liu, Z., 2017. Long-term high-fat diet induces hippocampal microvascular insulin resistance and cognitive dysfunction. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 312, E89–E97. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00297.2016>
- Fuentes, E., Venegas, B., Muñoz-Arenas, G., Moran, C., Vazquez-Roque, R.A., Flores, G., Treviño, S., Diaz, A., Guevara, J., 2023. High-carbohydrate and fat diet consumption causes metabolic deterioration, neuronal damage, and loss of recognition memory in rats. *Journal of Chemical Neuroanatomy* 129, 102237. <https://doi.org/10.1016/j.jchemneu.2023.102237>
- Gallou-Kabani, C., Vigé, A., Gross, M.-S., Rabès, J.-P., Boileau, C., Larue-Achagiotis, C., Tomé, D., Jais, J.-P., Junien, C., 2007. C57BL/6J and A/J mice fed a high-fat diet delineate components of metabolic syndrome. *Obesity (Silver Spring)* 15, 1996–2005. <https://doi.org/10.1038/oby.2007.238>
- Gash, M.C., Kandle, P.F., Murray, I.V., Varacallo, M., 2024. Physiology, Muscle Contraction, in: *StatPearls*. StatPearls Publishing, Treasure Island (FL).
- Gautam, G., Moradikar, N., 2025. Cardiovascular influence on cognitive decline: The heart's role in neurodegenerative disorders. *Prog Brain Res* 294, 33–46. <https://doi.org/10.1016/bs.pbr.2025.04.006>
- Gebremedhin, D., Gopalakrishnan, S., Harder, D.R., 2014. Endogenous events modulating myogenic regulation of cerebrovascular function. *Curr Vasc Pharmacol* 12, 810–817. <https://doi.org/10.2174/15701611113116660153>
- Giardino, I., Edelstein, D., Brownlee, M., 1994. Nonenzymatic glycosylation in vitro and in bovine endothelial cells alters basic fibroblast growth factor activity. A model for intracellular glycosylation in diabetes. *J Clin Invest* 94, 110–117. <https://doi.org/10.1172/JCI117296>
- Girouard, H., Iadecola, C., 2006. Neurovascular coupling in the normal brain and in hypertension, stroke, and Alzheimer disease. *J Appl Physiol* (1985) 100, 328–335. <https://doi.org/10.1152/japplphysiol.00966.2005>
- Glodzik, L., Rusinek, H., Butler, T., Li, Y., Storey, P., Sweeney, E., Osorio, R.S., Biskaduros, A., Tanzi, E., Harvey, P., Woldstad, C., Maloney, T., de Leon, M.J., 2022. Higher body mass index is associated with worse hippocampal vasoreactivity to carbon dioxide. *Front Aging Neurosci* 14, 948470. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2022.948470>

- Gómez-Apo, E., Mondragón-Maya, A., Ferrari-Díaz, M., Silva-Pereyra, J., 2021. Structural Brain Changes Associated with Overweight and Obesity. *J Obes* 2021, 6613385. <https://doi.org/10.1155/2021/6613385>
- Gommel, G., Jeanjean-Dormegny, L., de Crespín de Billy, C., Mainberger, O., Moreau, A., Obrecht, A., Vernet, R., Humbert, I., Schorr, B., Müller, C., Demuynck, C., de Sousa, P.L., Blanc, F., Foucher, J., 2024. Right anterior insula ASL hypoperfusion as a diagnostic biomarker of prodromal and mild dementia with Lewy bodies: preliminary evidence using a Bayesian approach. *Geroscience*. <https://doi.org/10.1007/s11357-024-01288-9>
- Gonçalves, J.S., Seíça, R.M., Laranjinha, J., Lourenço, C.F., 2022. Impairment of neurovascular coupling in the hippocampus due to decreased nitric oxide bioavailability supports early cognitive dysfunction in type 2 diabetic rats. *Free Radic Biol Med* 193, 669–675. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2022.11.009>
- Gordon, G.R.J., Choi, H.B., Ellis-Davies, G.C.R., MacVicar, B.A., 2008. Brain metabolic state dictates the polarity of astrocyte control over the cerebrovasculature. *Nature* 456, 745–749. <https://doi.org/10.1038/nature07525>
- Gordon, G.R.J., Howarth, C., MacVicar, B.A., 2011. Bidirectional control of arteriole diameter by astrocytes. *Experimental Physiology* 96, 393–399. <https://doi.org/10.1113/expphysiol.2010.053132>
- Gosalia, J., Spicuzza, J.M.D., Bowlus, C.K., Pawelczyk, J.A., Proctor, D.N., 2024. Linking metabolic syndrome, cerebral small vessel disease, and cognitive health: insights from a subclinical population study using TriNetX. *Geroscience*. <https://doi.org/10.1007/s11357-024-01456-x>
- Grosu, S., Rospleszcz, S., Hartmann, F., Habes, M., Bamberg, F., Schlett, C.L., Galie, F., Lorbeer, R., Auweter, S., Selder, S., Buelow, R., Heier, M., Rathmann, W., Mueller-Peltzer, K., Ladwig, K.-H., Grabe, H.J., Peters, A., Ertl-Wagner, B.B., Stoecklein, S., 2021. Associated factors of white matter hyperintensity volume: a machine-learning approach. *Sci Rep* 11, 2325. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-81883-4>
- Guerrero, B.L., Sicotte, N.L., 2020. Microglia in Multiple Sclerosis: Friend or Foe? *Front Immunol* 11, 374. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.00374>
- Guillemot-Legrís, O., Masquelier, J., Everard, A., Cani, P.D., Alhouayek, M., Muccioli, G.G., 2016. High-fat diet feeding differentially affects the development of inflammation in the central nervous system. *J Neuroinflammation* 13, 206. <https://doi.org/10.1186/s12974-016-0666-8>
- Guo, J., Huang, X., Dou, L., Yan, M., Shen, T., Tang, W., Li, J., 2022. Aging and aging-related diseases: from molecular mechanisms to interventions and treatments. *Signal Transduct Target Ther* 7, 391. <https://doi.org/10.1038/s41392-022-01251-0>
- Guttmann, C.R., Jolesz, F.A., Kikinis, R., Killiany, R.J., Moss, M.B., Sandor, T., Albert, M.S., 1998. White matter changes with normal aging. *Neurology* 50, 972–978. <https://doi.org/10.1212/wnl.50.4.972>
- Halade, G.V., Rahman, M.M., Williams, P.J., Fernandes, G., 2010. High fat diet-induced animal model of age-associated obesity and osteoporosis. *J Nutr Biochem* 21, 1162–1169. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2009.10.002>

- Haley, A.P., Gonzales, M.M., Tarumi, T., Miles, S.C., Goudarzi, K., Tanaka, H., 2010. Elevated cerebral glutamate and myo-inositol levels in cognitively normal middle-aged adults with metabolic syndrome. *Metab Brain Dis* 25, 397–405. <https://doi.org/10.1007/s11011-010-9221-y>
- Han, X.D., Li, Y.J., Wang, P., Han, X.L., Zhao, M.Q., Wang, J.F., Li, C.Y., Tian, N., Han, X.J., Hou, T.T., Wang, Y.X., Song, L., Du, Y.F., Qiu, C.X., 2023. Insulin Resistance-Varying Associations of Adiposity Indices with Cerebral Perfusion in Older Adults: A Population-Based Study. *J Nutr Health Aging* 27, 219–227. <https://doi.org/10.1007/s12603-023-1894-2>
- Hanisch, U.-K., Kettenmann, H., 2007. Microglia: active sensor and versatile effector cells in the normal and pathologic brain. *Nat Neurosci* 10, 1387–1394. <https://doi.org/10.1038/nn1997>
- Harada, C.N., Love, M.C.N., Triebel, K., 2013. Normal Cognitive Aging. *Clinics in geriatric medicine* 29, 737. <https://doi.org/10.1016/j.cger.2013.07.002>
- Harder, D.R., Narayanan, J., Birks, E.K., Liard, J.F., Imig, J.D., Lombard, J.H., Lange, A.R., Roman, R.J., 1996. Identification of a putative microvascular oxygen sensor. *Circ Res* 79, 54–61. <https://doi.org/10.1161/01.res.79.1.54>
- Hartmann, D.A., Coelho-Santos, V., Shih, A.Y., 2022. Pericyte Control of Blood Flow Across Microvascular Zones in the Central Nervous System. *Annu Rev Physiol* 84, 331–354. <https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-061121-040127>
- Haydon, P.G., Carmignoto, G., 2006. Astrocyte control of synaptic transmission and neurovascular coupling. *Physiol Rev* 86, 1009–1031. <https://doi.org/10.1152/physrev.00049.2005>
- Hayes, M.T., 2019. Parkinson's Disease and Parkinsonism. *Am J Med* 132, 802–807. <https://doi.org/10.1016/j.amjmed.2019.03.001>
- Heng, S., Betin, M., Limon, I., 2022. Obésité et résistance centrale à la leptine - Impact sur la maladie d'Alzheimer. *Med Sci (Paris)* 38, 746–748. <https://doi.org/10.1051/medsci/2022116>
- Herculano-Houzel, S., 2014. The glia/neuron ratio: how it varies uniformly across brain structures and species and what that means for brain physiology and evolution. *Glia* 62, 1377–1391. <https://doi.org/10.1002/glia.22683>
- Hermans, L., Leunissen, I., Pauwels, L., Cuypers, K., Peeters, R., Puts, N.A.J., Edden, R.A.E., Swinnen, S.P., 2018. Brain GABA Levels Are Associated with Inhibitory Control Deficits in Older Adults. *J. Neurosci.* 38, 7844–7851. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0760-18.2018>
- Hill-Eubanks, D.C., Gonzales, A.L., Sonkusare, S.K., Nelson, M.T., 2014. Vascular TRP channels: performing under pressure and going with the flow. *Physiology (Bethesda)* 29, 343–360. <https://doi.org/10.1152/physiol.00009.2014>
- Hirst, W.D., Young, K.A., Newton, R., Allport, V.C., Marriott, D.R., Wilkin, G.P., 1999. Expression of COX-2 by normal and reactive astrocytes in the adult rat central nervous system. *Mol Cell Neurosci* 13, 57–68. <https://doi.org/10.1006/mcne.1998.0731>
- Hotamisligil, G.S., 2006. Inflammation and metabolic disorders. *Nature* 444, 860–867. <https://doi.org/10.1038/nature05485>

- Hou, Y., Dan, X., Babbar, M., Wei, Y., Hasselbalch, S.G., Croteau, D.L., Bohr, V.A., 2019. Ageing as a risk factor for neurodegenerative disease. *Nat Rev Neurol* 15, 565–581. <https://doi.org/10.1038/s41582-019-0244-7>
- Huang, W., Xia, Q., Zheng, F., Zhao, X., Ge, F., Xiao, J., Liu, Z., Shen, Y., Ye, K., Wang, D., Li, Y., 2023. Microglia-Mediated Neurovascular Unit Dysfunction in Alzheimer's Disease. *J Alzheimers Dis*. <https://doi.org/10.3233/JAD-221064>
- Hypertension artérielle (HTA) · Inserm, La science pour la santé [WWW Document], n.d. . Inserm. URL <https://www.inserm.fr/dossier/hypertension-arterielle-hta/> (accessed 1.18.25).
- Iadecola, C., 2017. The Neurovascular Unit Coming of Age: A Journey through Neurovascular Coupling in Health and Disease. *Neuron* 96, 17–42. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2017.07.030>
- Iadecola, C., Gottesman, R.F., 2019. Neurovascular and Cognitive Dysfunction in Hypertension. *Circ Res* 124, 1025–1044. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.118.313260>
- Ishii, R., Canuet, L., Aoki, Y., Hata, M., Iwase, M., Ikeda, S., Nishida, K., Ikeda, M., 2018. Healthy and Pathological Brain Aging: From the Perspective of Oscillations, Functional Connectivity, and Signal Complexity. *Neuropsychobiology* 75, 151–161. <https://doi.org/10.1159/000486870>
- Isingrini, M., Taconnat, L., 2008. [Episodic memory, frontal functioning, and aging]. *Rev Neurol (Paris)* 164 Suppl 3, S91-95. [https://doi.org/10.1016/S0035-3787\(08\)73297-1](https://doi.org/10.1016/S0035-3787(08)73297-1)
- Itakura, T., Yokote, H., Okuno, T., Naka, Y., Nakakita, K., Kamei, I., Nakai, K., Imai, H., Komai, N., 1987. Regulation of rCBF by intracortical vasoactive intestinal polypeptide-containing neurons. Immunohistochemical and hydrogen clearance study in rats. *J Neurosurg* 67, 93–96. <https://doi.org/10.3171/jns.1987.67.1.0093>
- Jain, A., Polotsky, A.J., Rochester, D., Berga, S.L., Loucks, T., Zeitlian, G., Gibbs, K., Polotsky, H.N., Feng, S., Isaac, B., Santoro, N., 2007. Pulsatile Luteinizing Hormone Amplitude and Progesterone Metabolite Excretion Are Reduced in Obese Women. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 92, 2468–2473. <https://doi.org/10.1210/jc.2006-2274>
- Jansen, I.E., Savage, J.E., Watanabe, K., Bryois, J., Williams, D.M., Steinberg, S., Sealock, J., Karlsson, I.K., Hägg, S., Athanasiu, L., Voyle, N., Proitsi, P., Witoelar, A., Stringer, S., Aarsland, D., Almdahl, I.S., Andersen, F., Bergh, S., Bettella, F., Bjornsson, S., Brækhus, A., Bråthen, G., de Leeuw, C., Desikan, R.S., Djurovic, S., Dumitrescu, L., Fladby, T., Hohman, T.J., Jonsson, P.V., Kiddle, S.J., Rongve, A., Saltvedt, I., Sando, S.B., Selbæk, G., Shoai, M., Skene, N.G., Snaedal, J., Stordal, E., Ulstein, I.D., Wang, Y., White, L.R., Hardy, J., Hjerling-Leffler, J., Sullivan, P.F., van der Flier, W.M., Dobson, R., Davis, L.K., Stefansson, H., Stefansson, K., Pedersen, N.L., Ripke, S., Andreassen, O.A., Posthuma, D., 2019. Genome-wide meta-analysis identifies new loci and functional pathways influencing Alzheimer's disease risk. *Nat Genet* 51, 404–413. <https://doi.org/10.1038/s41588-018-0311-9>
- Jellinger, K.A., Attems, J., 2007. Neuropathological evaluation of mixed dementia. *J Neurol Sci* 257, 80–87. <https://doi.org/10.1016/j.jns.2007.01.045>

- Johnson, L.A., Torres, E.R.S., Impey, S., Stevens, J.F., Raber, J., 2017. Apolipoprotein E4 and Insulin Resistance Interact to Impair Cognition and Alter the Epigenome and Metabolome. *Sci Rep* 7, 43701. <https://doi.org/10.1038/srep43701>
- Jones, N.S., Rebeck, G.W., 2018. The Synergistic Effects of APOE Genotype and Obesity on Alzheimer's Disease Risk. *Int J Mol Sci* 20, 63. <https://doi.org/10.3390/ijms20010063>
- Kalia, L.V., Lang, A.E., 2015. Parkinson's disease. *The Lancet* 386, 896–912. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(14\)61393-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(14)61393-3)
- Kamtchum-Tatuene, J., Jickling, G.C., 2019. Blood Biomarkers for Stroke Diagnosis and Management. *Neuromolecular Med* 21, 344–368. <https://doi.org/10.1007/s12017-019-08530-0>
- Kaplan, L., Chow, B.W., Gu, C., 2020. Neuronal regulation of the blood-brain barrier and neurovascular coupling. *Nat Rev Neurosci* 21, 416–432. <https://doi.org/10.1038/s41583-020-0322-2>
- Karczewska-Kupczewska, M., Tarasów, E., Nikolajuk, A., Stefanowicz, M., Matulewicz, N., Oziomek, E., Górski, M., Strackowski, M., Kowalska, I., 2013. The effect of insulin infusion on the metabolites in cerebral tissues assessed with proton magnetic resonance spectroscopy in young healthy subjects with high and low insulin sensitivity. *Diabetes Care* 36, 2787–2793. <https://doi.org/10.2337/dc12-1437>
- Kaufmann, W.E., Worley, P.F., Pegg, J., Bremer, M., Isakson, P., 1996. COX-2, a synaptically induced enzyme, is expressed by excitatory neurons at postsynaptic sites in rat cerebral cortex. *Proc Natl Acad Sci U S A* 93, 2317–2321.
- Kawai, T., Autieri, M.V., Scalia, R., 2021. Adipose tissue inflammation and metabolic dysfunction in obesity. *Am J Physiol Cell Physiol* 320, C375–C391. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00379.2020>
- Kentner, A.C., Speno, A.V., Doucette, J., Roderick, R.C., 2021. The Contribution of Environmental Enrichment to Phenotypic Variation in Mice and Rats. *eNeuro* 8. <https://doi.org/10.1523/ENEURO.0539-20.2021>
- Kettenmann, H., Hanisch, U.-K., Noda, M., Verkhratsky, A., 2011. Physiology of microglia. *Physiol Rev* 91, 461–553. <https://doi.org/10.1152/physrev.00011.2010>
- Khalifa, J., Tensaouti, F., Chaltiel, L., Lotterie, J.-A., Catalaa, I., Sunyach, M.P., Ibarrola, D., Noël, G., Truc, G., Walker, P., Magné, N., Charissoux, M., Ken, S., Peran, P., Berry, I., Moyal, E.C.-J., Laprie, A., 2016. Identification of a candidate biomarker from perfusion MRI to anticipate glioblastoma progression after chemoradiation. *Eur Radiol* 26, 4194–4203. <https://doi.org/10.1007/s00330-016-4234-5>
- Kim, D., Hughes, T.M., Lipford, M.E., Craft, S., Baker, L.D., Lockhart, S.N., Whitlow, C.T., Okonmah-Obazee, S.E., Hugenschmidt, C.E., Bobinski, M., Jung, Y., 2021. Relationship Between Cerebrovascular Reactivity and Cognition Among People With Risk of Cognitive Decline. *Front. Physiol.* 12. <https://doi.org/10.3389/fphys.2021.645342>
- Kim, K.J., Diaz, J.R., Presa, J.L., Muller, P.R., Brands, M.W., Khan, M.B., Hess, D.C., Althammer, F., Stern, J.E., Filosa, J.A., 2021. Decreased parenchymal arteriolar tone uncouples vessel-to-neuronal communication in a mouse model of vascular cognitive impairment. *Geroscience* 43, 1405–1422. <https://doi.org/10.1007/s11357-020-00305-x>

- Kim, K.J., Iddings, J.A., Stern, J.E., Blanco, V.M., Croom, D., Kirov, S.A., Filosa, J.A., 2015. Astrocyte Contributions to Flow/Pressure-Evoked Parenchymal Arteriole Vasoconstriction. *J Neurosci* 35, 8245–8257. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4486-14.2015>
- Kim, K.J., Ramiro Diaz, J., Iddings, J.A., Filosa, J.A., 2016. Vasculo-Neuronal Coupling: Retrograde Vascular Communication to Brain Neurons. *J Neurosci* 36, 12624–12639. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1300-16.2016>
- Kirst, C., Skriabine, S., Vieites-Prado, A., Topilko, T., Bertin, P., Gerschenfeld, G., Verny, F., Topilko, P., Michalski, N., Tessier-Lavigne, M., Renier, N., 2020. Mapping the Fine-Scale Organization and Plasticity of the Brain Vasculature. *Cell* 180, 780-795.e25. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.01.028>
- Kivipelto, M., Ngandu, T., Laatikainen, T., Winblad, B., Soininen, H., Tuomilehto, J., 2006. Risk score for the prediction of dementia risk in 20 years among middle aged people: a longitudinal, population-based study. *The Lancet Neurology* 5, 735–741. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(06\)70537-3](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(06)70537-3)
- Knight, S.P., Laird, E., Williamson, W., O'Connor, J., Newman, L., Carey, D., De Looze, C., Fagan, A.J., Chappell, M.A., Meaney, J.F., Kenny, R.A., 2021. Obesity is associated with reduced cerebral blood flow - modified by physical activity. *Neurobiol Aging* 105, 35–47. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2021.04.008>
- Koehler, R.C., Roman, R.J., Harder, D.R., 2009. Astrocytes and the regulation of cerebral blood flow. *Trends Neurosci* 32, 160–169. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2008.11.005>
- Kofuji, P., Newman, E.A., 2004. Potassium buffering in the central nervous system. *Neuroscience* 129, 1045–1056. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2004.06.008>
- Krnjević, K., Phillis, J.W., 1963a. Actions of certain amines on cerebral cortical neurones. *Br J Pharmacol Chemother* 20, 471–490.
- Krnjević, K., Phillis, J.W., 1963b. Ionophoretic studies of neurones in the mammalian cerebral cortex. *J Physiol* 165, 274–304.
- Krüger, N., Biwer, L.A., Good, M.E., Ruddiman, C.A., Wolpe, A.G., DeLalio, L.J., Murphy, S., Macal, E.H., Ragolia, L., Serbulea, V., Best, A.K., Leitinger, N., Harris, T.E., Sonkusare, S.K., Gödecke, A., Isakson, B.E., 2020. Loss of Endothelial FTO Antagonizes Obesity-Induced Metabolic and Vascular Dysfunction. *Circ Res* 126, 232–242. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.119.315531>
- La démence [WWW Document], n.d. URL <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/dementia> (accessed 12.5.24).
- Lacroix, A., Toussay, X., Anenberg, E., Lecrux, C., Ferreirós, N., Karagiannis, A., Plaisier, F., Chausson, P., Jarlier, F., Burgess, S.A., Hillman, E.M.C., Tegeder, I., Murphy, T.H., Hamel, E., Cauli, B., 2015. COX-2-Derived Prostaglandin E2 Produced by Pyramidal Neurons Contributes to Neurovascular Coupling in the Rodent Cerebral Cortex. *J Neurosci* 35, 11791–11810. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0651-15.2015>
- Lancelot, S., Roche, R., Slimen, A., Bouillot, C., Levigoureux, E., Langlois, J.-B., Zimmer, L., Costes, N., 2014. A Multi-Atlas Based Method for Automated Anatomical Rat Brain MRI Segmentation and Extraction of PET Activity. *PLOS ONE* 9, e109113. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0109113>

- Lansdell, T.A., Chambers, L.C., Dorrance, A.M., 2022. Endothelial Cells and the Cerebral Circulation. *Compr Physiol* 12, 3449–3508. <https://doi.org/10.1002/cphy.c210015>
- Lawrence, J.M., Schardien, K., Wigdahl, B., Nonnemacher, M.R., 2023. Roles of neuropathology-associated reactive astrocytes: a systematic review. *Acta Neuropathol Commun* 11, 42. <https://doi.org/10.1186/s40478-023-01526-9>
- Lecrux, C., Toussay, X., Kocharyan, A., Fernandes, P., Neupane, S., Lévesque, M., Plaisier, F., Shmuel, A., Cauli, B., Hamel, E., 2011. Pyramidal Neurons Are “Neurogenic Hubs” in the Neurovascular Coupling Response to Whisker Stimulation. *The Journal of Neuroscience* 31, 9836. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4943-10.2011>
- Lee, K.-P., Chen, J.-S., Wang, C.-Y., 2023. Association between diabetes mellitus and post-stroke cognitive impairment. *J Diabetes Investig* 14, 6–11. <https://doi.org/10.1111/jdi.13914>
- Legendre, P., Le Corronc, H., 2014. [Microglial cells and development of the embryonic central nervous system]. *Med Sci (Paris)* 30, 147–152. <https://doi.org/10.1051/medsci/20143002011>
- Leoni, V., Solomon, A., Kivipelto, M., 2010. Links between ApoE, brain cholesterol metabolism, tau and amyloid beta-peptide in patients with cognitive impairment. *Biochem Soc Trans* 38, 1021–1025. <https://doi.org/10.1042/BST0381021>
- Lezak, M.D., 2004. *Neuropsychological Assessment*. Oxford University Press.
- Lezmy, J., Harris, J.J., Attwell, D., 2021. Optimising the energetic cost of the glutamatergic synapse. *Neuropharmacology* 197, 108727. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2021.108727>
- Li, H., Ke, X., Feng, B., Tian, H., Cai, Z., Zhang, A., Man, Q., 2025. Research progress on the mechanism and markers of metabolic disorders in the occurrence and development of cognitive dysfunction after ischemic stroke. *Front Endocrinol (Lausanne)* 16, 1500650. <https://doi.org/10.3389/fendo.2025.1500650>
- Li, J., Daly, E., Campioli, E., Wabitsch, M., Papadopoulos, V., 2014. De Novo Synthesis of Steroids and Oxysterols in Adipocytes *. *Journal of Biological Chemistry* 289, 747–764. <https://doi.org/10.1074/jbc.M113.534172>
- Li, W., Prakash, R., Chawla, D., Du, W., Didion, S.P., Filosa, J.A., Zhang, Q., Brann, D.W., Lima, V.V., Tostes, R.C., Ergul, A., 2013. Early effects of high-fat diet on neurovascular function and focal ischemic brain injury. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 304, R1001–R1008. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00523.2012>
- Li, Xuelong, Li, Xianliang, Fang, F., Fu, X., Lin, H., Gao, Q., 2017. Is Metabolic Syndrome Associated with the Risk of Recurrent Stroke: A Meta-Analysis of Cohort Studies. *J Stroke Cerebrovasc Dis* 26, 2700–2705. <https://doi.org/10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2017.03.014>
- Li, Y., Munoz-Mayorga, D., Nie, Y., Kang, N., Tao, Y., Lagerwall, J., Pernaci, C., Curtin, G., Coufal, N.G., Mertens, J., Shi, L., Chen, X., 2024. Microglial lipid droplet accumulation in tauopathy brain is regulated by neuronal AMPK. *Cell Metab* 36, 1351-1370.e8. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2024.03.014>

- Lia, A., Di Spiezio, A., Speggiorin, M., Zonta, M., 2023. Two decades of astrocytes in neurovascular coupling. *Front Netw Physiol* 3, 1162757. <https://doi.org/10.3389/fnetp.2023.1162757>
- Lia, A., Zonta, M., Reque, L.M., Carmignoto, G., 2019. Dynamic interactions between GABAergic and astrocytic networks. *Neurosci Lett* 689, 14–20. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2018.06.026>
- Liang, Z., Gong, X., Zhao, Yang, Zhao, Yanna, Yu, J., Huang, T., Yang, C., Wu, L., Huang, M., Wang, X., Shu, X., Bao, J., 2024. Long-Term High-Fat Diet Consumption Aggravates β -Amyloid Deposition and Tau Pathology Accompanied by Microglial Activation in an Alzheimer's Disease Model. *Mol Nutr Food Res* 68, e2300669. <https://doi.org/10.1002/mnfr.202300669>
- Lin, A.-L., Fox, P.T., Hardies, J., Duong, T.Q., Gao, J.-H., 2010. Nonlinear coupling between cerebral blood flow, oxygen consumption, and ATP production in human visual cortex. *Proc Natl Acad Sci U S A* 107, 8446–8451. <https://doi.org/10.1073/pnas.0909711107>
- Lind, B.L., Brazhe, A.R., Jessen, S.B., Tan, F.C.C., Lauritzen, M.J., 2013. Rapid stimulus-evoked astrocyte Ca^{2+} elevations and hemodynamic responses in mouse somatosensory cortex in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A* 110, E4678–4687. <https://doi.org/10.1073/pnas.1310065110>
- Lind, B.L., Jessen, S.B., Lønstrup, M., Joséphine, C., Bonvento, G., Lauritzen, M., 2018. Fast Ca^{2+} responses in astrocyte end-feet and neurovascular coupling in mice. *Glia* 66, 348–358. <https://doi.org/10.1002/glia.23246>
- Litwiniuk, A., Bik, W., Kalisz, M., Baranowska-Bik, A., 2021. Inflammasome NLRP3 Potentially Links Obesity-Associated Low-Grade Systemic Inflammation and Insulin Resistance with Alzheimer's Disease. *Int J Mol Sci* 22, 5603. <https://doi.org/10.3390/ijms22115603>
- Liu, C.-Y., Yang, Y., Ju, W.-N., Wang, X., Zhang, H.-L., 2018. Emerging Roles of Astrocytes in Neuro-Vascular Unit and the Tripartite Synapse With Emphasis on Reactive Gliosis in the Context of Alzheimer's Disease. *Front Cell Neurosci* 12, 193. <https://doi.org/10.3389/fncel.2018.00193>
- Livingston, G., Huntley, J., Liu, K.Y., Costafreda, S.G., Selbæk, G., Alladi, S., Ames, D., Banerjee, S., Burns, A., Brayne, C., Fox, N.C., Ferri, C.P., Gitlin, L.N., Howard, R., Kales, H.C., Kivimäki, M., Larson, E.B., Nakasujja, N., Rockwood, K., Samus, Q., Shirai, K., Singh-Manoux, A., Schneider, L.S., Walsh, S., Yao, Y., Sommerlad, A., Mukadam, N., 2024. Dementia prevention, intervention, and care: 2024 report of the Lancet standing Commission. *The Lancet* 404, 572–628. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(24\)01296-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(24)01296-0)
- Lloret, A., Monllor, P., Esteve, D., Cervera-Ferri, A., Lloret, M.-A., 2019. Obesity as a Risk Factor for Alzheimer's Disease: Implication of Leptin and Glutamate. *Front Neurosci* 13, 508. <https://doi.org/10.3389/fnins.2019.00508>
- Loeffler, D.A., 2021. Modifiable, Non-Modifiable, and Clinical Factors Associated with Progression of Alzheimer's Disease. *J Alzheimers Dis* 80, 1–27. <https://doi.org/10.3233/JAD-201182>

- Long, J.M., Holtzman, D.M., 2019. Alzheimer Disease: An Update on Pathobiology and Treatment Strategies. *Cell* 179, 312–339. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2019.09.001>
- López, D.E., Ballaz, S.J., 2020. The Role of Brain Cyclooxygenase-2 (Cox-2) Beyond Neuroinflammation: Neuronal Homeostasis in Memory and Anxiety. *Mol Neurobiol* 57, 5167–5176. <https://doi.org/10.1007/s12035-020-02087-x>
- López-Otín, C., Blasco, M.A., Partridge, L., Serrano, M., Kroemer, G., 2013. The Hallmarks of Aging. *Cell* 153, 1194–1217. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.05.039>
- Lourenço, C.F., Ledo, A., Barbosa, R.M., Laranjinha, J., 2017. Neurovascular-neuroenergetic coupling axis in the brain: master regulation by nitric oxide and consequences in aging and neurodegeneration. *Free Radical Biology and Medicine* 108, 668–682. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2017.04.026>
- Lövdén, M., Schmiedek, F., Kennedy, K.M., Rodrigue, K.M., Lindenberger, U., Raz, N., 2013. Does variability in cognitive performance correlate with frontal brain volume? *NeuroImage* 64, 209–215. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2012.09.039>
- Lu, D., Kassab, G.S., 2011. Role of shear stress and stretch in vascular mechanobiology. *J R Soc Interface* 8, 1379–1385. <https://doi.org/10.1098/rsif.2011.0177>
- Lynch, C.M., Kinzenbaw, D.A., Chen, X., Zhan, S., Mezzetti, E., Filosa, J., Ergul, A., Faulkner, J.L., Faraci, F.M., Didion, S.P., 2013. Nox2-derived superoxide contributes to cerebral vascular dysfunction in diet-induced obesity. *Stroke* 44, 3195–3201. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.113.001366>
- Ma, J., Ayata, C., Huang, P.L., Fishman, M.C., Moskowitz, M.A., 1996. Regional cerebral blood flow response to vibrissal stimulation in mice lacking type I NOS gene expression. *Am J Physiol* 270, H1085–H1090. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.1996.270.3.H1085>
- Ma, S., Kwon, H.J., Huang, Z., 2012. A Functional Requirement for Astroglia in Promoting Blood Vessel Development in the Early Postnatal Brain. *PLOS ONE* 7, e48001. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0048001>
- Ma, Y., Ajnakina, O., Steptoe, A., Cadar, D., 2020. Higher risk of dementia in English older individuals who are overweight or obese. *Int J Epidemiol* 49, 1353–1365. <https://doi.org/10.1093/ije/dyaa099>
- Madsen, P.L., Cruz, N.F., Sokoloff, L., Dienel, G.A., 1999. Cerebral oxygen/glucose ratio is low during sensory stimulation and rises above normal during recovery: excess glucose consumption during stimulation is not accounted for by lactate efflux from or accumulation in brain tissue. *J Cereb Blood Flow Metab* 19, 393–400. <https://doi.org/10.1097/00004647-199904000-00005>
- Mahmoud, A.A.A., Elshazly, S.M., 2014. Ursodeoxycholic acid ameliorates fructose-induced metabolic syndrome in rats. *PLoS One* 9, e106993. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0106993>
- Mahoney-Sanchez, L., Bouchaoui, H., Boussaad, I., Jonneaux, A., Timmerman, K., Berdeaux, O., Ayton, S., Krüger, R., Duce, J.A., Devos, D., Devedjian, J.-C., 2022. Alpha synuclein determines ferroptosis sensitivity in dopaminergic neurons via modulation of ether-phospholipid membrane composition. *Cell Rep* 40, 111231. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2022.111231>

- Mahringer, A., Fricker, G., 2016. ABC transporters at the blood-brain barrier. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 12, 499–508. <https://doi.org/10.1517/17425255.2016.1168804>
- Marín-Padilla, M., 2012. The human brain intracerebral microvascular system: development and structure. *Front Neuroanat* 6, 38. <https://doi.org/10.3389/fnana.2012.00038>
- Marschallinger, J., Iram, T., Zardeneta, M., Lee, S.E., Lehallier, B., Haney, M.S., Pluvinaige, J.V., Mathur, V., Hahn, O., Morgens, D.W., Kim, J., Tevini, J., Felder, T.K., Wolinski, H., Bertozzi, C.R., Bassik, M.C., Aigner, L., Wyss-Coray, T., 2020. Lipid-droplet-accumulating microglia represent a dysfunctional and proinflammatory state in the aging brain. *Nat Neurosci* 23, 194–208. <https://doi.org/10.1038/s41593-019-0566-1>
- Martin, A., Komada, M.R., Sane, D.C., 2003. Abnormal angiogenesis in diabetes mellitus. *Medicinal Research Reviews* 23, 117–145. <https://doi.org/10.1002/med.10024>
- Matić, T.B., Toncev, G., Gavrilović, A., Aleksić, D., 2019. Suffering from Cerebral Small Vessel Disease with and without Metabolic Syndrome. *Open Med (Wars)* 14, 479–484. <https://doi.org/10.1515/med-2019-0051>
- McKercher, S.R., Torbett, B.E., Anderson, K.L., Henkel, G.W., Vestal, D.J., Baribault, H., Klemsz, M., Feeney, A.J., Wu, G.E., Paige, C.J., Maki, R.A., 1996. Targeted disruption of the PU.1 gene results in multiple hematopoietic abnormalities. *EMBO J* 15, 5647–5658.
- Meletis, K., Barnabé-Heider, F., Carlén, M., Evergren, E., Tomilin, N., Shupliakov, O., Frisén, J., 2008. Spinal cord injury reveals multilineage differentiation of ependymal cells. *PLoS Biol* 6, e182. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0060182>
- Messina, E.J., Rodenburg, J., Kaley, G., 1989. Microvascular effects of endothelin-1. *Microcirc Endothelium Lymphatics* 5, 505–518.
- Metea, M.R., Newman, E.A., 2006. Glial cells dilate and constrict blood vessels: a mechanism of neurovascular coupling. *J Neurosci* 26, 2862–2870. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4048-05.2006>
- Mikulis, D.J., 2013. Chronic Neurovascular Uncoupling Syndrome. *Stroke* 44, S55–S57. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.113.001081>
- Minghetti, L., 2007. Role of COX-2 in inflammatory and degenerative brain diseases. *Subcell Biochem* 42, 127–141. https://doi.org/10.1007/1-4020-5688-5_5
- Mintun, M.A., Lundstrom, B.N., Snyder, A.Z., Vlassenko, A.G., Shulman, G.L., Raichle, M.E., 2001. Blood flow and oxygen delivery to human brain during functional activity: Theoretical modeling and experimental data. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98, 6859–6864. <https://doi.org/10.1073/pnas.111164398>
- Mishra, A., Gordon, G.R., MacVicar, B.A., Newman, E.A., 2024. Astrocyte Regulation of Cerebral Blood Flow in Health and Disease. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 16, a041354. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a041354>
- Mishra, A., Reynolds, J.P., Chen, Y., Gourine, A.V., Rusakov, D.A., Attwell, D., 2016. Astrocytes mediate neurovascular signaling to capillary pericytes but not to arterioles. *Nature Neuroscience* 19, 1619–1627. <https://doi.org/10.1038/nn.4428>
- MI, C., Jh, L., Jc, L.-G., Cc, N., M, N., 2000. ATP-mediated glia signaling. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience* 20. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.20-08-02835.2000>

- Moghadam-Ahmadi, A., Soltani, N., Ayoobi, F., Jamali, Z., Sadeghi, T., Jalali, N., Vakilian, A., Lotfi, M.A., Khalili, P., 2023. Association between metabolic syndrome and stroke: a population based cohort study. *BMC Endocr Disord* 23, 131. <https://doi.org/10.1186/s12902-023-01383-6>
- Mogi, M., Horiuchi, M., 2011. Neurovascular coupling in cognitive impairment associated with diabetes mellitus. *Circ J* 75, 1042–1048. <https://doi.org/10.1253/circj.cj-11-0121>
- Molyneaux, B.J., Arlotta, P., Menezes, J.R.L., Macklis, J.D., 2007. Neuronal subtype specification in the cerebral cortex. *Nat Rev Neurosci* 8, 427–437. <https://doi.org/10.1038/nrn2151>
- Moore, K.J., Sheedy, F.J., Fisher, E.A., 2013. Macrophages in atherosclerosis: a dynamic balance. *Nat Rev Immunol* 13, 709–721. <https://doi.org/10.1038/nri3520>
- Morris, R.G., Anderson, E., Lynch, G.S., Baudry, M., 1986. Selective impairment of learning and blockade of long-term potentiation by an N-methyl-D-aspartate receptor antagonist, AP5. *Nature* 319, 774–776. <https://doi.org/10.1038/319774a0>
- Mosso, A. (Angelo), Royal College of Surgeons of England, 1880. Sulla circolazione del sangue nel cervello dell'uomo : ricerche sfigmografiche. Roma : Coi tipi del Salviucci.
- Navakkode, S., Kennedy, B.K., 2024. Neural ageing and synaptic plasticity: prioritizing brain health in healthy longevity. *Front. Aging Neurosci.* 16. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2024.1428244>
- Naveed, M., Smedlund, K., Zhou, Q.-G., Cai, W., Hill, J.W., 2025. Astrocyte involvement in metabolic regulation and disease. *Trends Endocrinol Metab* 36, 219–234. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2024.08.001>
- Nichols, E., Vos, T., 2021. The estimation of the global prevalence of dementia from 1990-2019 and forecasted prevalence through 2050: An analysis for the Global Burden of Disease (GBD) study 2019. *Alzheimer's & Dementia* 17, e051496. <https://doi.org/10.1002/alz.051496>
- Nicolakakis, N., Aboukassim, T., Ongali, B., Lecrux, C., Fernandes, P., Rosa-Neto, P., Tong, X.-K., Hamel, E., 2008. Complete Rescue of Cerebrovascular Function in Aged Alzheimer's Disease Transgenic Mice by Antioxidants and Pioglitazone, a Peroxisome Proliferator-Activated Receptor γ Agonist. *J. Neurosci.* 28, 9287–9296. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3348-08.2008>
- Nimmerjahn, A., Kirchhoff, F., Helmchen, F., 2005. Resting microglial cells are highly dynamic surveillants of brain parenchyma in vivo. *Science* 308, 1314–1318. <https://doi.org/10.1126/science.1110647>
- Niwa, K., Araki, E., Morham, S.G., Ross, M.E., Iadecola, C., 2000. Cyclooxygenase-2 Contributes to Functional Hyperemia in Whisker-Barrel Cortex. *The Journal of Neuroscience* 20, 763. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.20-02-00763.2000>
- Nizar, K., Uhlirova, H., Tian, P., Saisan, P.A., Cheng, Q., Reznichenko, L., Weldy, K.L., Steed, T.C., Sridhar, V.B., MacDonald, C.L., Cui, J., Gratiy, S.L., Sakadžić, S., Boas, D.A., Beka, T.I., Einevoll, G.T., Chen, J., Masliah, E., Dale, A.M., Silva, G.A., Devor, A., 2013. In vivo Stimulus-Induced Vasodilation Occurs without IP3 Receptor Activation and May Precede Astrocytic Calcium Increase. *J Neurosci* 33, 8411–8422. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3285-12.2013>

- Noriega-Prieto, J.A., Araque, A., 2021. Sensing and Regulating Synaptic Activity by Astrocytes at Tripartite Synapse. *Neurochem Res* 46, 2580–2585. <https://doi.org/10.1007/s11064-021-03317-x>
- Northington, F.J., Matherne, G.P., Berne, R.M., 1992. Competitive inhibition of nitric oxide synthase prevents the cortical hyperemia associated with peripheral nerve stimulation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 89, 6649–6652. <https://doi.org/10.1073/pnas.89.14.6649>
- Nowell, J., Blunt, E., Gupta, D., Edison, P., 2023. Antidiabetic agents as a novel treatment for Alzheimer's and Parkinson's disease. *Ageing Res Rev* 89, 101979. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2023.101979>
- Obésité et surpoids [WWW Document], n.d. URL <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight> (accessed 4.11.25).
- Okubo, Y., Kanemaru, K., Suzuki, J., Kobayashi, K., Hirose, K., Iino, M., 2019. Inositol 1,4,5-trisphosphate receptor type 2-independent Ca^{2+} release from the endoplasmic reticulum in astrocytes. *Glia* 67, 113–124. <https://doi.org/10.1002/glia.23531>
- Olgasi, C., Assanelli, S., Cucci, A., Follenzi, A., 2024. Hemostasis and endothelial functionality: the double face of coagulation factors. *Haematologica* 109, 2041–2048. <https://doi.org/10.3324/haematol.2022.282272>
- Oliveros, E., Somers, V.K., Sochor, O., Goel, K., Lopez-Jimenez, F., 2014. The Concept of Normal Weight Obesity. *Progress in Cardiovascular Diseases, Obesity and Obesity Paradox in Cardiovascular Diseases* 56, 426–433. <https://doi.org/10.1016/j.pcad.2013.10.003>
- Omori, K., Kida, T., Hori, M., Ozaki, H., Murata, T., 2014. Multiple roles of the PGE2 -EP receptor signal in vascular permeability. *Br J Pharmacol* 171, 4879–4889. <https://doi.org/10.1111/bph.12815>
- O'Sullivan, M.L., Puñal, V.M., Kerstein, P.C., Brzezinski, J.A., Glaser, T., Wright, K.M., Kay, J.N., 2017. Astrocytes follow ganglion cell axons to establish an angiogenic template during retinal development. *Glia* 65, 1697–1716. <https://doi.org/10.1002/glia.23189>
- Otsu, Y., Couchman, K., Lyons, D.G., Collot, M., Agarwal, A., Mallet, J.-M., Pfrieger, F.W., Bergles, D.E., Chrapak, S., 2015. Calcium dynamics in astrocyte processes during neurovascular coupling. *Nat Neurosci* 18, 210–218. <https://doi.org/10.1038/nn.3906>
- Panatier, A., Robitaille, R., 2016. Astrocytic mGluR5 and the tripartite synapse. *Neuroscience* 323, 29–34. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2015.03.063>
- Park, D.C., Lautenschlager, G., Hedden, T., Davidson, N.S., Smith, A.D., Smith, P.K., 2002. Models of visuospatial and verbal memory across the adult life span. *Psychol Aging* 17, 299–320.
- Parsons, M.P., Raymond, L.A., 2014. Extrasynaptic NMDA Receptor Involvement in Central Nervous System Disorders. *Neuron* 82, 279–293. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2014.03.030>
- Pascual, O., Ben Achour, S., Rostaing, P., Triller, A., Bessis, A., 2012. Microglia activation triggers astrocyte-mediated modulation of excitatory neurotransmission. *Proc Natl Acad Sci U S A* 109, E197–205. <https://doi.org/10.1073/pnas.1111098109>

- Pellerin, L., Magistretti, P.J., 1994. Glutamate uptake into astrocytes stimulates aerobic glycolysis: a mechanism coupling neuronal activity to glucose utilization. *Proc Natl Acad Sci U S A* 91, 10625–10629. <https://doi.org/10.1073/pnas.91.22.10625>
- Pelligrino, D.A., Vetri, F., Xu, H.-L., 2011. Purinergic mechanisms in gliovascular coupling. *Semin Cell Dev Biol* 22, 229–236. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2011.02.010>
- Peng, S.-L., Chen, X., Li, Y., Rodrigue, K.M., Park, D.C., Lu, H., 2018. Age-related changes in cerebrovascular reactivity and their relationship to cognition: A four-year longitudinal study. *NeuroImage* 174, 257–262. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2018.03.033>
- Perea, G., Navarrete, M., Araque, A., 2009. Tripartite synapses: astrocytes process and control synaptic information. *Trends Neurosci* 32, 421–431. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2009.05.001>
- Pérez-Alvarez, A., Araque, A., 2013. Astrocyte-neuron interaction at tripartite synapses. *Curr Drug Targets* 14, 1220–1224. <https://doi.org/10.2174/13894501113149990203>
- Pétrault, O., Ouk, T., Gautier, S., Laprais, M., Gelé, P., Bastide, M., Bordet, R., 2005. Pharmacological neutropenia prevents endothelial dysfunction but not smooth muscle functions impairment induced by middle cerebral artery occlusion. *Br J Pharmacol* 144, 1051–1058. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0706124>
- Pétrault, O., Pétrault, M., Ouk, T., Bordet, R., Bérézowski, V., Bastide, M., 2019. Visceral adiposity links cerebrovascular dysfunction to cognitive impairment in middle-aged mice. *Neurobiology of Disease* 130, 104536. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2019.104536>
- Phillips, S.A., Sylvester, F.A., Frisbee, J.C., 2005. Oxidant stress and constrictor reactivity impair cerebral artery dilation in obese Zucker rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 288, R522–530. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00655.2004>
- Pistell, P.J., Morrison, C.D., Gupta, S., Knight, A.G., Keller, J.N., Ingram, D.K., Bruce-Keller, A.J., 2010. Cognitive Impairment Following High Fat Diet Consumption is Associated with Brain Inflammation. *J Neuroimmunol* 219, 25–32. <https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2009.11.010>
- Poulot-Becq-Giraudon, Y., Carrillo-de Sauvage, M.-A., Escartin, C., 2022. [Reactive astrocytes in brain diseases: Therapeutic targets and biomarkers]. *Med Sci (Paris)* 38, 786–794. <https://doi.org/10.1051/medsci/2022104>
- Powers, W.J., Hirsch, I.B., Cryer, P.E., 1996. Effect of stepped hypoglycemia on regional cerebral blood flow response to physiological brain activation. *Am J Physiol* 270, H554–559. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.1996.270.2.H554>
- Presa, J.L., Saravia, F., Bagi, Z., Filosa, J.A., 2020. Vasculo-Neuronal Coupling and Neurovascular Coupling at the Neurovascular Unit: Impact of Hypertension. *Front Physiol* 11, 584135. <https://doi.org/10.3389/fphys.2020.584135>
- Puy, L., Leboullenger, C., Auger, F., Bordet, R., Cordonnier, C., Bérézowski, V., 2022. Intracerebral Hemorrhage-Induced Cognitive Impairment in Rats Is Associated With Brain Atrophy, Hypometabolism, and Network Dysconnectivity. *Front Neurosci* 16, 882996. <https://doi.org/10.3389/fnins.2022.882996>
- Radulescu, C.I., Doostdar, N., Zabouri, N., Melgosa-Ecenarro, L., Wang, X., Sadeh, S., Pavlidi, P., Airey, J., Kopanitsa, M., Clopath, C., Barnes, S.J., 2023. Age-related dysregulation of

- homeostatic control in neuronal microcircuits. *Nat Neurosci* 26, 2158–2170. <https://doi.org/10.1038/s41593-023-01451-z>
- Raffaitin, C., Féart, C., Le Goff, M., Amieva, H., Helmer, C., Akbaraly, T.N., Tzourio, C., Gin, H., Barberger-Gateau, P., 2011. Metabolic syndrome and cognitive decline in French elders. *Neurology* 76, 518–525. <https://doi.org/10.1212/WNL.0b013e31820b7656>
- Rather, M.A., Khan, A., Jahan, S., Siddiqui, A.J., Wang, L., 2024. Influence of Tau on Neurotoxicity and Cerebral Vasculature Impairment Associated with Alzheimer's Disease. *Neuroscience* 552, 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2024.05.042>
- Risacher, S.L., Saykin, A.J., 2013. Neuroimaging biomarkers of neurodegenerative diseases and dementia. *Semin Neurol* 33, 386–416. <https://doi.org/10.1055/s-0033-1359312>
- Ritthausen, H., 1866. Ueber die Glutaminsäure. *Journal für Praktische Chemie* 99, 454–462. <https://doi.org/10.1002/prac.18660990156>
- Robinson, M.B., Jackson, J.G., 2016. Astroglial glutamate transporters coordinate excitatory signaling and brain energetics. *Neurochem Int* 98, 56–71. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2016.03.014>
- Rodier, F., Campisi, J., 2011. Four faces of cellular senescence. *Journal of Cell Biology* 192, 547–556. <https://doi.org/10.1083/jcb.201009094>
- Rönnlund, M., Nyberg, L., Bäckman, L., Nilsson, L.-G., 2005. Stability, growth, and decline in adult life span development of declarative memory: cross-sectional and longitudinal data from a population-based study. *Psychol Aging* 20, 3–18. <https://doi.org/10.1037/0882-7974.20.1.3>
- Roriz-Cruz, M., Rosset, I., Wada, T., Sakagami, T., Ishine, M., De Sá Roriz-Filho, J., Cruz, T.R.S., Hosseinkhani, M., Rodrigues, R.P., Sudoh, S., Arai, H., Wakatsuki, Y., Souza, A.C., Nakagawa, M., Kita, T., Matsubayashi, K., 2007. Cognitive impairment and frontal-subcortical geriatric syndrome are associated with metabolic syndrome in a stroke-free population. *Neurobiology of Aging* 28, 1723–1736. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2006.07.013>
- Rossi, D.J., Oshima, T., Attwell, D., 2000. Glutamate release in severe brain ischaemia is mainly by reversed uptake. *Nature* 403, 316–321. <https://doi.org/10.1038/35002090>
- Roy, C.S., Sherrington, C.S., 1890. On the Regulation of the Blood-supply of the Brain. *J Physiol* 11, 85–158.17.
- Roy, R.K., Althammer, F., Seymour, A.J., Du, W., Biancardi, V.C., Hamm, J.P., Filosa, J.A., Brown, C.H., Stern, J.E., 2021. Inverse neurovascular coupling contributes to positive feedback excitation of vasopressin neurons during a systemic homeostatic challenge. *Cell Rep* 37, 109925. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2021.109925>
- Rundek, T., Tolea, M., Ariko, T., Fagerli, E.A., Camargo, C.J., 2022. Vascular Cognitive Impairment (VCI). *Neurotherapeutics* 19, 68–88. <https://doi.org/10.1007/s13311-021-01170-y>
- Salim, S., 2017. Oxidative Stress and the Central Nervous System. *J Pharmacol Exp Ther* 360, 201–205. <https://doi.org/10.1124/jpet.116.237503>

- Salthouse, T.A., 2010. Selective review of cognitive aging. *Journal of the International Neuropsychological Society* 16, 754–760. <https://doi.org/10.1017/S1355617710000706>
- Salthouse, T.A., Fristoe, N.M., Lineweaver, T.T., Coon, V.E., 1995. Aging of attention: Does the ability to divide decline? *Memory & Cognition* 23, 59–71. <https://doi.org/10.3758/BF03210557>
- Salthouse, T.A., Mitchell, D.R., Skovronek, E., Babcock, R.L., 1989. Effects of adult age and working memory on reasoning and spatial abilities. *J Exp Psychol Learn Mem Cogn* 15, 507–516. <https://doi.org/10.1037//0278-7393.15.3.507>
- Santisteban, M.M., Iadecola, C., 2025. The pathobiology of neurovascular aging. *Neuron* 113, 49–70. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2024.12.014>
- Santisteban, M.M., Iadecola, C., Carnevale, D., 2023. Hypertension, Neurovascular Dysfunction, and Cognitive Impairment. *Hypertension* 80, 22–34. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.122.18085>
- Satake, S., Inoue, T., Imoto, K., 2012. Paired-pulse facilitation of multivesicular release and intersynaptic spillover of glutamate at rat cerebellar granule cell–interneurone synapses. *J Physiol* 590, 5653–5675. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2012.234070>
- Schaeffer, S., Iadecola, C., 2021. Revisiting the neurovascular unit. *Nat Neurosci* 24, 1198–1209. <https://doi.org/10.1038/s41593-021-00904-7>
- Scheen, A.J., Fève, B., 2022. Diabète pharmaco-induits : quatre classes médicamenteuses au cœur de notre pratique clinique. *Médecine des Maladies Métaboliques, Les régimes céto-gènes* 16, 627–641. <https://doi.org/10.1016/j.mmm.2022.06.004>
- Schölvinck, M.L., Howarth, C., Attwell, D., 2008. The cortical energy needed for conscious perception. *Neuroimage* 40, 1460–1468. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2008.01.032>
- Scofield, M.D., 2018. Exploring the Role of Astroglial Glutamate Release and Association With Synapses in Neuronal Function and Behavior. *Biol Psychiatry* 84, 778–786. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2017.10.029>
- Secomb, T.W., 2008. Theoretical models for regulation of blood flow. *Microcirculation* 15, 765–775. <https://doi.org/10.1080/10739680802350112>
- Sezgin, M., Bilgic, B., Tinaz, S., Emre, M., 2019. Parkinson’s Disease Dementia and Lewy Body Disease. *Semin Neurol* 39, 274–282. <https://doi.org/10.1055/s-0039-1678579>
- Sharma, S., 2021. High fat diet and its effects on cognitive health: alterations of neuronal and vascular components of brain. *Physiol Behav* 240, 113528. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2021.113528>
- Shen, Z., Xiang, M., Chen, C., Ding, F., Wang, Y., Shang, C., Xin, L., Zhang, Y., Cui, X., 2022. Glutamate excitotoxicity: Potential therapeutic target for ischemic stroke. *Biomed Pharmacother* 151, 113125. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.113125>
- Shi Y., Vanhoutte P.M., 2017. Macro- and microvascular endothelial dysfunction in diabetes. *Journal of Diabetes* 9, 434–449. <https://doi.org/10.1111/1753-0407.12521>
- Shih, Y.-Y.I., Wey, H.-Y., De La Garza, B.H., Duong, T.Q., 2011. Striatal and cortical BOLD, blood flow, blood volume, oxygen consumption, and glucose consumption changes in

- noxious forepaw electrical stimulation. *J Cereb Blood Flow Metab* 31, 832–841. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.2010.173>
- Shim, Y., Yoon, B., Shim, D.S., Kim, W., An, J.-Y., Yang, D.-W., 2015. Cognitive Correlates of Cerebral Vasoreactivity on Transcranial Doppler in Older Adults. *Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases* 24, 1262–1269. <https://doi.org/10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2015.01.031>
- Shiota, M., Printz, R.L., 2012. Diabetes in Zucker diabetic fatty rat. *Methods Mol Biol* 933, 103–123. https://doi.org/10.1007/978-1-62703-068-7_8
- Silvestrini, M., Pasqualetti, P., Baruffaldi, R., Bartolini, M., Handouk, Y., Matteis, M., Moffa, F., Provinciali, L., Vernieri, F., 2006. Cerebrovascular Reactivity and Cognitive Decline in Patients With Alzheimer Disease. *Stroke* 37, 1010–1015. <https://doi.org/10.1161/01.STR.0000206439.62025.97>
- Sloper, J.J., 1973. An electron microscopic study of the neurons of the primate motor and somatic sensory cortices. *J Neurocytol* 2, 351–359. <https://doi.org/10.1007/BF01103793>
- Sonawane, S.K., Ahmad, A., Chinnathambi, S., 2019. Protein-Capped Metal Nanoparticles Inhibit Tau Aggregation in Alzheimer's Disease. *ACS Omega* 4, 12833–12840. <https://doi.org/10.1021/acsomega.9b01411>
- Souza, A.P. da S., Barros, W.M.A., Silva, J.M.L., Silva, M.R.M., Silva, A.B.J., Fernandes, M.S. de S., Santos, M.E.R.A.D., Silva, M.L. da, Carmo, T.S. do, Silva, R.K.P., Silva, K.G. da, Souza, S.L. de, Souza, V. de O.N., 2021. Effect of Metabolic Syndrome on Parkinson's Disease: A Systematic Review. *Clinics (Sao Paulo)* 76, e3379. <https://doi.org/10.6061/clinics/2021/e3379>
- Spruston, N., 2008. Pyramidal neurons: dendritic structure and synaptic integration. *Nat Rev Neurosci* 9, 206–221. <https://doi.org/10.1038/nrn2286>
- Srinivasan, R., Huang, B.S., Venugopal, S., Johnston, A.D., Chai, H., Zeng, H., Golshani, P., Khakh, B.S., 2015. Ca(2+) signaling in astrocytes from *Ip3r2(-/-)* mice in brain slices and during startle responses in vivo. *Nat Neurosci* 18, 708–717. <https://doi.org/10.1038/nn.4001>
- Stuehr, D.J., Santolini, J., Wang, Z.-Q., Wei, C.-C., Adak, S., 2004. Update on mechanism and catalytic regulation in the NO synthases. *J Biol Chem* 279, 36167–36170. <https://doi.org/10.1074/jbc.R400017200>
- Suh, J.H., Heo, S.-J., Kim, Y.W., Lee, S.C., Yoon, S.Y., 2025. Association of waist circumference with all cause mortality in Parkinson's disease. *Sci Rep* 15, 9251. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-92624-2>
- Sukumar, N., Sabesan, P., Anazodo, U., Palaniyappan, L., 2020. Neurovascular Uncoupling in Schizophrenia: A Bimodal Meta-Analysis of Brain Perfusion and Glucose Metabolism. *Front Psychiatry* 11, 754. <https://doi.org/10.3389/fpsy.2020.00754>
- Sun, W., McConnell, E., Pare, J.-F., Xu, Q., Chen, M., Peng, W., Lovatt, D., Han, X., Smith, Y., Nedergaard, M., 2013. Glutamate-dependent neuroglial calcium signaling differs between young and adult brain. *Science* 339, 197–200. <https://doi.org/10.1126/science.1226740>

- Suriano, F., Vieira-Silva, S., Falony, G., Roumain, M., Paquot, A., Pelicaen, R., Régnier, M., Delzenne, N.M., Raes, J., Muccioli, G.G., Van Hul, M., Cani, P.D., 2021. Novel insights into the genetically obese (ob/ob) and diabetic (db/db) mice: two sides of the same coin. *Microbiome* 9, 147. <https://doi.org/10.1186/s40168-021-01097-8>
- Sweazea, K.L., Walker, B.R., 2012. Impaired myogenic tone in mesenteric arteries from overweight rats. *Nutr Metab (Lond)* 9, 18. <https://doi.org/10.1186/1743-7075-9-18>
- Takano, T., Tian, G.-F., Peng, W., Lou, N., Libionka, W., Han, X., Nedergaard, M., 2006. Astrocyte-mediated control of cerebral blood flow. *Nat Neurosci* 9, 260–267. <https://doi.org/10.1038/nn1623>
- Takata, N., Nagai, T., Ozawa, K., Oe, Y., Mikoshiba, K., Hirase, H., 2013. Cerebral Blood Flow Modulation by Basal Forebrain or Whisker Stimulation Can Occur Independently of Large Cytosolic Ca²⁺ Signaling in Astrocytes. *PLoS One* 8, e66525. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0066525>
- Tapiero, H., Mathé, G., Couvreur, P., Tew, K.D., 2002. II. Glutamine and glutamate. *Biomed Pharmacother* 56, 446–457. [https://doi.org/10.1016/s0753-3322\(02\)00285-8](https://doi.org/10.1016/s0753-3322(02)00285-8)
- Tarantini, S., Hertelendy, P., Tucsek, Z., Valcarcel-Ares, M.N., Smith, N., Menyhart, A., Farkas, E., Hodges, E.L., Towner, R., Deak, F., Sonntag, W.E., Csiszar, A., Ungvari, Z., Toth, P., 2015. Pharmacologically-induced neurovascular uncoupling is associated with cognitive impairment in mice. *J Cereb Blood Flow Metab* 35, 1871–1881. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.2015.162>
- Tarantini, S., Tran, C.H.T., Gordon, G.R., Ungvari, Z., Csiszar, A., 2017. Impaired neurovascular coupling in aging and Alzheimer's disease: contribution of astrocyte dysfunction and endothelial impairment to cognitive decline. *Exp Gerontol* 94, 52–58. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2016.11.004>
- Tarasoff-Conway, J.M., Carare, R.O., Osorio, R.S., Glodzik, L., Butler, T., Fieremans, E., Axel, L., Rusinek, H., Nicholson, C., Zlokovic, B.V., Frangione, B., Blennow, K., Ménard, J., Zetterberg, H., Wisniewski, T., de Leon, M.J., 2015. Clearance systems in the brain—implications for Alzheimer disease. *Nat Rev Neurol* 11, 457–470. <https://doi.org/10.1038/nrneurol.2015.119>
- Tidwell, T.R., Søreide, K., Hagland, H.R., 2017. Aging, Metabolism, and Cancer Development: from Peto's Paradox to the Warburg Effect. *Aging and disease* 8, 662–676. <https://doi.org/10.14336/AD.2017.0713>
- Tiehuis, A., van der Meer, F., Mali, W., Pleizier, M., Biessels, G.J., Kappelle, J., Luijten, P., 2010. MR spectroscopy of cerebral white matter in type 2 diabetes; no association with clinical variables and cognitive performance. *Neuroradiology* 52, 155–161. <https://doi.org/10.1007/s00234-009-0598-4>
- Töpperwien, M., van der Meer, F., Stadelmann, C., Salditt, T., 2020. Correlative x-ray phase-contrast tomography and histology of human brain tissue affected by Alzheimer's disease. *Neuroimage* 210, 116523. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2020.116523>
- Torres-Perez, E., Ledesma, M., Garcia-Sobreviela, M.P., Leon-Latre, M., Arbones-Mainar, J.M., 2016. Apolipoprotein E4 association with metabolic syndrome depends on body

- fatness. *Atherosclerosis* 245, 35–42.
<https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2015.11.029>
- Tremblay, M.-È., Lowery, R.L., Majewska, A.K., 2010. Microglial interactions with synapses are modulated by visual experience. *PLoS Biol* 8, e1000527.
<https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1000527>
- Tustison, N.J., Avants, B.B., Cook, P.A., Zheng, Y., Egan, A., Yushkevich, P.A., Gee, J.C., 2010. N4ITK: Improved N3 Bias Correction. *IEEE Transactions on Medical Imaging* 29, 1310–1320. <https://doi.org/10.1109/TMI.2010.2046908>
- Valladolid-Acebes, I., Merino, B., Principato, A., Fole, A., Barbas, C., Lorenzo, M.P., García, A., Del Olmo, N., Ruiz-Gayo, M., Cano, V., 2012. High-fat diets induce changes in hippocampal glutamate metabolism and neurotransmission. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 302, E396–402. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00343.2011>
- van der Lee, S.J., Wolters, F.J., Ikram, M.K., Hofman, A., Ikram, M.A., Amin, N., van Duijn, C.M., 2018. The effect of APOE and other common genetic variants on the onset of Alzheimer’s disease and dementia: a community-based cohort study. *Lancet Neurol* 17, 434–444. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(18\)30053-X](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(18)30053-X)
- Viswanathan, A., Gschwendtner, A., Guichard, J.-P., Buffon, F., Cumurciuc, R., O’Sullivan, M., Holtmannspötter, M., Pachai, C., Boussier, M.-G., Dichgans, M., Chabriat, H., 2007. Lacunar lesions are independently associated with disability and cognitive impairment in CADASIL. *Neurology* 69, 172–179.
<https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000265221.05610.70>
- Vittani, M., Herlo, R., Wang, X., Christensen, M.D.B., Vo, C.T., Mishima, T., Kusk, P., Konno, A., Hirai, H., Tsuboi, T., Kitaguchi, T., Kjaerby, C., Asiminas, A., Yokoyama, T., Sakamoto, M., Nedergaard, M., Hirase, H., 2025. Cerebral blood flow is modulated by astrocytic cAMP elevation independently of IP3R2-mediated Ca²⁺ signaling in mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 122, e2422069122.
<https://doi.org/10.1073/pnas.2422069122>
- Vreeken, D., Seidel, F., de La Roij, G., Vening, W., den Hengst, W.A., Verschuren, L., Özsezen, S., Kessels, R.P.C., Duering, M., Mutsaerts, H.J.M.M., Kleemann, R., Wiesmann, M., Hazebroek, E.J., Kiliaan, A.J., 2023. Impact of White Adipose Tissue on Brain Structure, Perfusion, and Cognitive Function in Patients With Severe Obesity: The BARICO Study. *Neurology* 100, e703–e718. <https://doi.org/10.1212/WNL.000000000000201538>
- 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>
- Wallenius, V., Wallenius, K., Ahrén, B., Rudling, M., Carlsten, H., Dickson, S.L., Ohlsson, C., Jansson, J.-O., 2002. Interleukin-6-deficient mice develop mature-onset obesity. *Nat Med* 8, 75–79. <https://doi.org/10.1038/nm0102-75>
- Wang, Congxiyu, Reid, G., Mackay, C.E., Hayes, G., Bulte, D.P., Suri, S., 2023. A systematic review of the association between dementia risk factors and cerebrovascular reactivity. *Neurosci Biobehav Rev* 148, 105140.
<https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2023.105140>

- Wang, Cuicui, Zong, S., Cui, X., Wang, X., Wu, S., Wang, L., Liu, Y., Lu, Z., 2023. The effects of microglia-associated neuroinflammation on Alzheimer's disease. *Front Immunol* 14, 1117172. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1117172>
- Wang, J., Alexanian, A., Ying, R., Kizhakekuttu, T.J., Dharmashankar, K., Vasquez-Vivar, J., Gutterman, D.D., Widlansky, M.E., 2012. Acute Exposure to Low Glucose Rapidly Induces Endothelial Dysfunction and Mitochondrial Oxidative Stress. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 32, 712–720. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.111.227389>
- Wei, H.S., Kang, H., Rasheed, I.-Y.D., Zhou, S., Lou, N., Gershteyn, A., McConnell, E.D., Wang, Y., Richardson, K.E., Palmer, A.F., Xu, C., Wan, J., Nedergaard, M., 2016. Erythrocytes are oxygen-sensing regulators of the cerebral microcirculation. *Neuron* 91, 851–862. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2016.07.016>
- Welsh, D.G., Ledoux, J., 2015. Feed the brain: insights into the study of neurovascular coupling. *Microcirculation* 22, 157–158. <https://doi.org/10.1111/micc.12199>
- Wen, W., Sachdev, P.S., Li, J.J., Chen, X., Anstey, K.J., 2009. White matter hyperintensities in the forties: their prevalence and topography in an epidemiological sample aged 44–48. *Hum Brain Mapp* 30, 1155–1167. <https://doi.org/10.1002/hbm.20586>
- Whitmer, R.A., Sidney, S., Selby, J., Johnston, S.C., Yaffe, K., 2005. Midlife cardiovascular risk factors and risk of dementia in late life. *Neurology* 64, 277–281. <https://doi.org/10.1212/01.WNL.0000149519.47454.F2>
- Wong, S.K., Chin, K.-Y., Suhaimi, F.H., Fairus, A., Ima-Nirwana, S., 2016. Animal models of metabolic syndrome: a review. *Nutr Metab (Lond)* 13, 65. <https://doi.org/10.1186/s12986-016-0123-9>
- Wright, C.B., Festa, J.R., Paik, M.C., Schmiedigen, A., Brown, T.R., Yoshita, M., DeCarli, C., Sacco, R., Stern, Y., 2008. White matter hyperintensities and subclinical infarction: associations with psychomotor speed and cognitive flexibility. *Stroke* 39, 800–805. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.107.484147>
- Wroge, C.M., Hogins, J., Eisenman, L., Mennerick, S., 2012. Synaptic NMDA receptors mediate hypoxic excitotoxic death. *J Neurosci* 32, 6732–6742. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.6371-11.2012>
- Wu, J., Yan, L.-J., 2015. Streptozotocin-induced type 1 diabetes in rodents as a model for studying mitochondrial mechanisms of diabetic β cell glucotoxicity. *Diabetes Metab Syndr Obes* 8, 181–188. <https://doi.org/10.2147/DMSO.S82272>
- Wyss-Coray, T., 2016. Ageing, neurodegeneration and brain rejuvenation. *Nature* 539, 180–186. <https://doi.org/10.1038/nature20411>
- Yaffe, K., Vittinghoff, E., Hoang, T., Matthews, K., Golden, S.H., Zeki Al Hazzouri, A., 2021. Cardiovascular Risk Factors Across the Life Course and Cognitive Decline. *Neurology* 96, e2212–e2219. <https://doi.org/10.1212/WNL.00000000000011747>
- Yamagata, K., Andreasson, K.I., Kaufmann, W.E., Barnes, C.A., Worley, P.F., 1993. Expression of a mitogen-inducible cyclooxygenase in brain neurons: Regulation by synaptic activity and glucocorticoids. *Neuron* 11, 371–386. [https://doi.org/10.1016/0896-6273\(93\)90192-T](https://doi.org/10.1016/0896-6273(93)90192-T)

- Yang, J.-H., Hayano, M., Griffin, P.T., Amorim, J.A., Bonkowski, M.S., Apostolides, J.K., Salfati, E.L., Blanchette, M., Munding, E.M., Bhakta, M., Chew, Y.C., Guo, W., Yang, X., Maybury-Lewis, S., Tian, X., Ross, J.M., Coppotelli, G., Meer, M.V., Rogers-Hammond, R., Vera, D.L., Lu, Y.R., Pippin, J.W., Creswell, M.L., Dou, Z., Xu, C., Mitchell, S.J., Das, A., O'Connell, B.L., Thakur, S., Kane, A.E., Su, Q., Mohri, Y., Nishimura, E.K., Schaevitz, L., Garg, N., Balta, A.-M., Rego, M.A., Gregory-Ksander, M., Jakobs, T.C., Zhong, L., Wakimoto, H., El Andari, J., Grimm, D., Mostoslavsky, R., Wagers, A.J., Tsubota, K., Bonasera, S.J., Palmeira, C.M., Seidman, J.G., Seidman, C.E., Wolf, N.S., Kreiling, J.A., Sedivy, J.M., Murphy, G.F., Green, R.E., Garcia, B.A., Berger, S.L., Oberdoerffer, P., Shankland, S.J., Gladyshev, V.N., Ksander, B.R., Pfenning, A.R., Rajman, L.A., Sinclair, D.A., 2023. Loss of epigenetic information as a cause of mammalian aging. *Cell* 186, 305-326.e27. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2022.12.027>
- Yao, X., Yang, C., Jia, X., Yu, Z., Wang, C., Zhao, J., Chen, Y., Xie, B., Zhuang, H., Sun, C., Li, Q., Kang, X., Xiao, Y., Liu, L., 2024. High-fat diet consumption promotes adolescent neurobehavioral abnormalities and hippocampal structural alterations via microglial overactivation accompanied by an elevated serum free fatty acid concentration. *Brain Behav Immun* 119, 236–250. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2024.04.005>
- Yousefzadeh, M., Henpita, C., Vyas, R., Soto-Palma, C., Robbins, P., Niedernhofer, L., 2021. DNA damage-how and why we age? *Elife* 10, e62852. <https://doi.org/10.7554/eLife.62852>
- Zacharopoulos, G., Sella, F., Kadosh, K.C., Hartwright, C., Emir, U., Kadosh, R.C., 2021. Predicting learning and achievement using GABA and glutamate concentrations in human development. *PLOS Biology* 19, e3001325. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3001325>
- Zade, D., Beiser, A., McGlinchey, R., Au, R., Seshadri, S., Palumbo, C., Wolf, P.A., DeCarli, C., Milberg, W., 2013. Apolipoprotein Epsilon 4 Allele Modifies Waist-to-Hip Ratio Effects on Cognition and Brain Structure. *Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases* 22, 119–125. <https://doi.org/10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2011.06.020>
- Zago, S., Ferrucci, R., Marceglia, S., Priori, A., 2009. The Mosso method for recording brain pulsation: The forerunner of functional neuroimaging. *NeuroImage* 48, 652–656. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2009.05.062>
- Zeron, M.M., Hansson, O., Chen, N., Wellington, C.L., Leavitt, B.R., Brundin, P., Hayden, M.R., Raymond, L.A., 2002. Increased sensitivity to N-methyl-D-aspartate receptor-mediated excitotoxicity in a mouse model of Huntington's disease. *Neuron* 33, 849–860. [https://doi.org/10.1016/s0896-6273\(02\)00615-3](https://doi.org/10.1016/s0896-6273(02)00615-3)
- Zhang, X., Su, J., Gao, C., Ni, W., Gao, X., Li, Y., Zhang, J., Lei, Y., Gu, Y., 2019. Progression in Vascular Cognitive Impairment: Pathogenesis, Neuroimaging Evaluation, and Treatment. *Cell Transplant* 28, 18–25. <https://doi.org/10.1177/0963689718815820>
- Zhao, Z., Nelson, A.R., Betsholtz, C., Zlokovic, B.V., 2015. Establishment and Dysfunction of the Blood-Brain Barrier. *Cell* 163, 1064–1078. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.10.067>
- Zhu, M., Ackerman, J.J.H., Sukstanskii, A.L., Yablonskiy, D.A., 2006. How the body controls brain temperature: the temperature shielding effect of cerebral blood flow. *J Appl Physiol* (1985) 101, 1481–1488. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00319.2006>

- Zhuang, H., Yao, X., Li, H., Li, Q., Yang, C., Wang, C., Xu, D., Xiao, Y., Gao, Y., Gao, J., Bi, M., Liu, R., Teng, G., Liu, L., 2022. Long-term high-fat diet consumption by mice throughout adulthood induces neurobehavioral alterations and hippocampal neuronal remodeling accompanied by augmented microglial lipid accumulation. *Brain Behav Immun* 100, 155–171. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2021.11.018>
- Zimmermann, H., 1994. Signalling via ATP in the nervous system. *Trends Neurosci* 17, 420–426. [https://doi.org/10.1016/0166-2236\(94\)90016-7](https://doi.org/10.1016/0166-2236(94)90016-7)
- Zonta, M., Angulo, M.C., Gobbo, S., Rosengarten, B., Hossmann, K.-A., Pozzan, T., Carmignoto, G., 2003a. Neuron-to-astrocyte signaling is central to the dynamic control of brain microcirculation. *Nat Neurosci* 6, 43–50. <https://doi.org/10.1038/nn980>
- Zonta, M., Sebelin, A., Gobbo, S., Fellin, T., Pozzan, T., Carmignoto, G., 2003b. Glutamate-mediated cytosolic calcium oscillations regulate a pulsatile prostaglandin release from cultured rat astrocytes. *The Journal of Physiology* 553, 407–414. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2003.046706>

ANNEXES

Article (publié chez Biomedicines)

High-Fat Diet-induced metabolic disorders: an original cause for neurovascular uncoupling through imbalance of glutamatergic pathways.

Biomedicines. 2025 Jul 14;13(7):1712. doi: 10.3390/biomedicines13071712.

Manon HAAS¹, Maud PETRAULT¹, Patrick GELE¹, Thavarak OUK¹, Vincent BEREZOWSKI^{1,2}, Olivier PETRAULT^{1,2} & Michèle BASTIDE¹

Affiliations

1. Univ. Lille, Inserm, CHU Lille, UMR-S1172 - LiNCog - Lille Neuroscience & Cognition, F-59000 Lille, France

2. Univ. Artois, F-62300 Lens, France

Corresponding author: michele.bastide@univ-lille.fr

Abstract

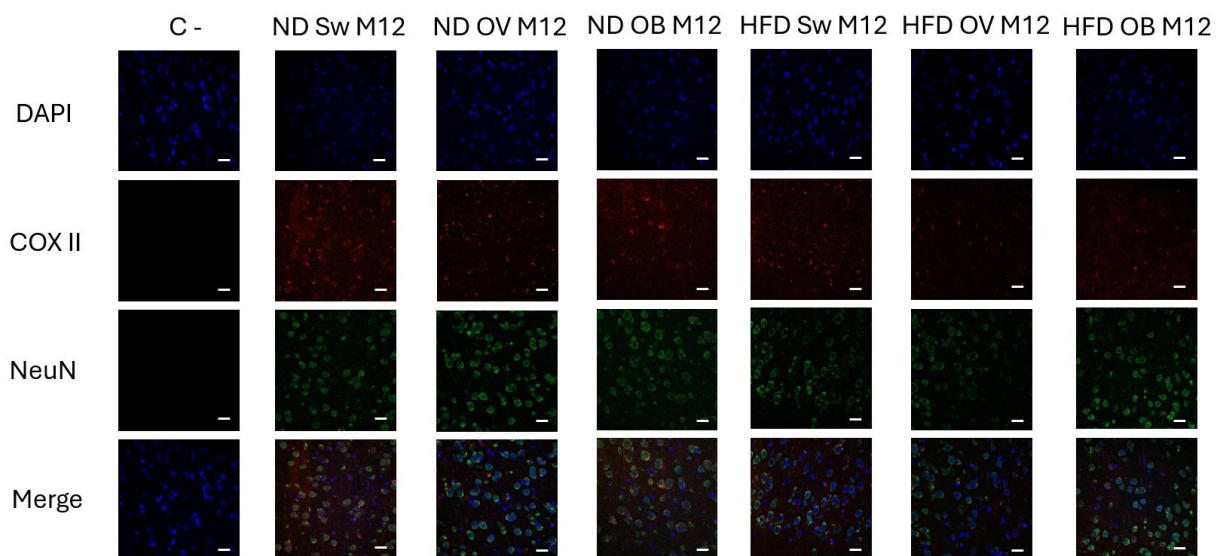
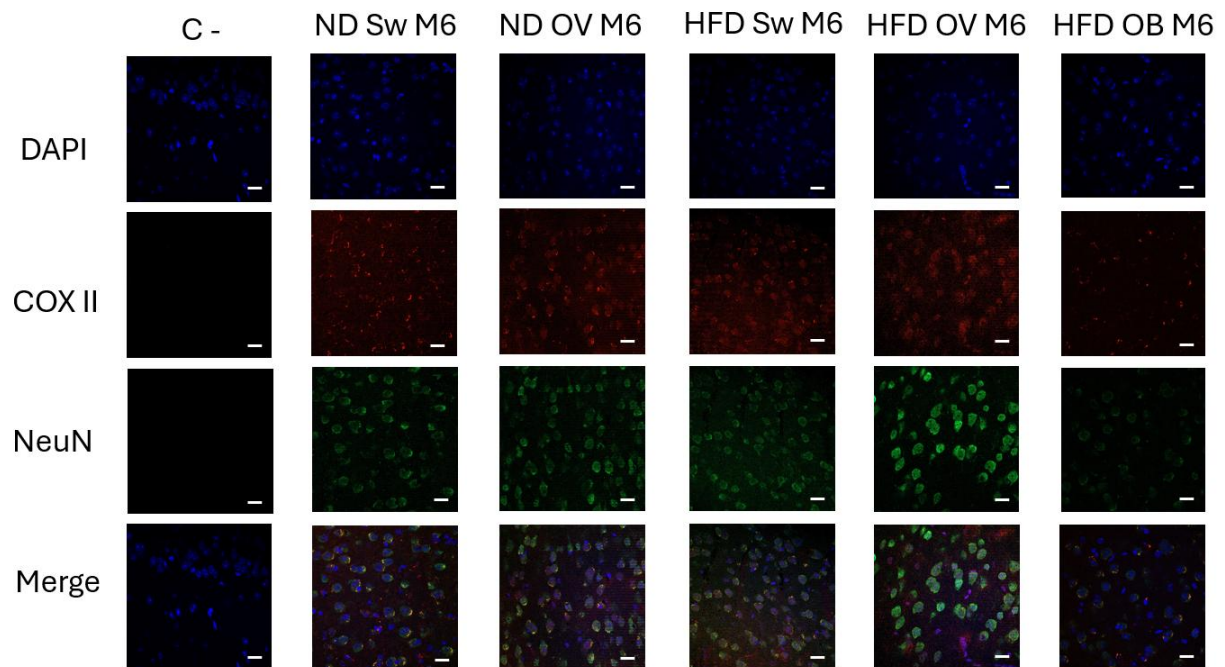
The impact of unbalanced diet-induced metabolic disorders on cognitive decline at midlife is now widely observed, although the mechanisms are not well identified. Here, we report that glutamatergic vasoactive pathways are a key feature of the observed neurogliovascular uncoupling induced by High-Fat Diet (HFD) in C57Bl6/J mice. Halpern's arteriography revealed a 70 % impairment of myogenic tone of the basilar artery as soon as 6 months (M6) of HFD. Infrared imaging on brain slices highlighted a 77 % decrease in glutamate-induced vasodilation of intraparenchymal arterioles appearing after 12 months (M12) of HFD. The respective contributions of enzymes involved in the glutamatergic pathways showed a modified pattern in an HFD- and time-dependent manner. The drop in astrocytic COX I observed at M6 was followed by a loss of neuronal COX II and NOS compensatory action at M12. This mechanistic insight into the HFD-induced neurogliovascular uncoupling offers therapeutic targets to consider for improving cerebral vasomotion along with the preventive care of peripheral metabolic disturbances.

Keywords

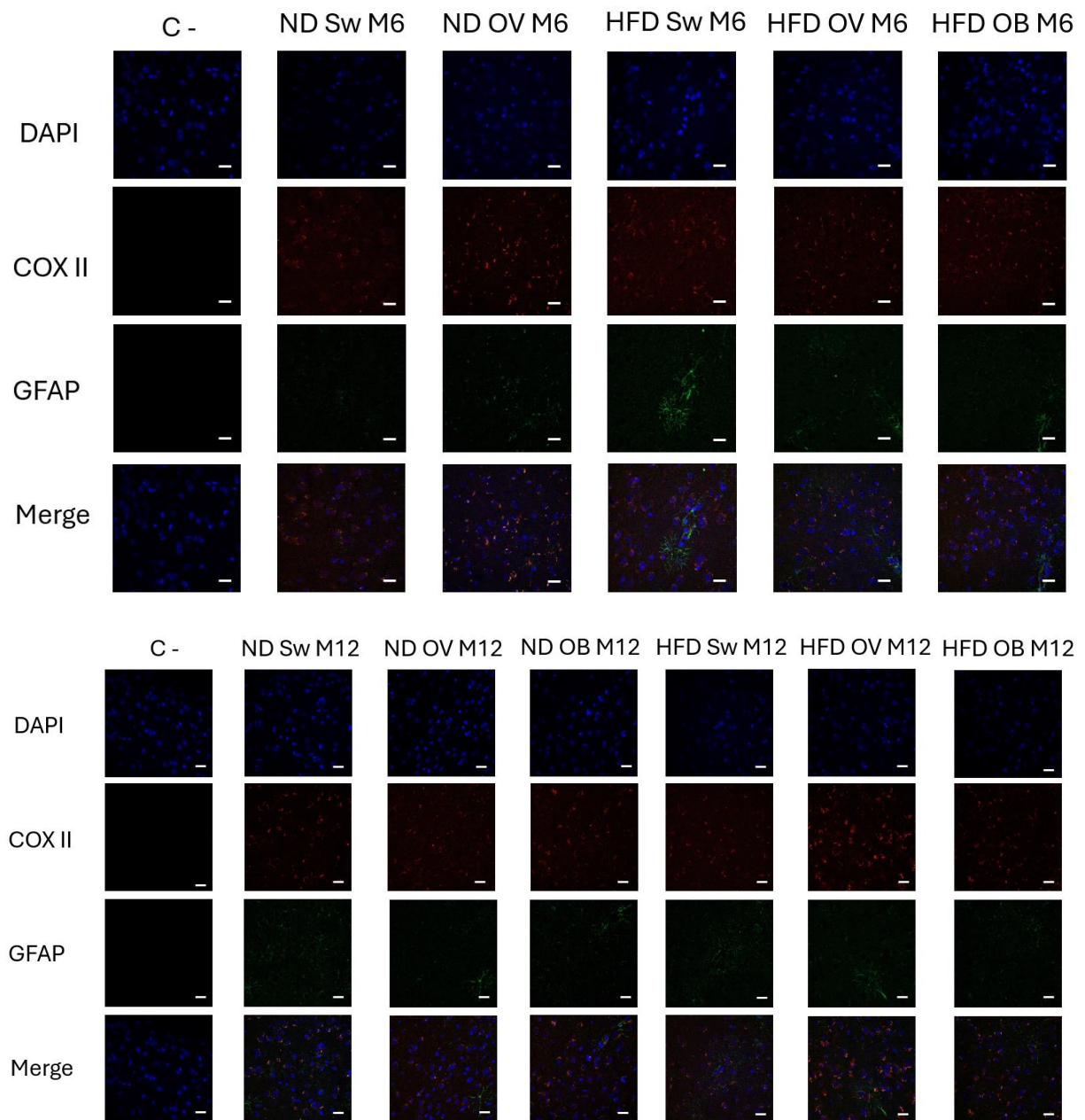
Cerebral Autoregulation; Glutamate; Metabolism; Neurogliovascular coupling; Diet

Pannels complets IHC

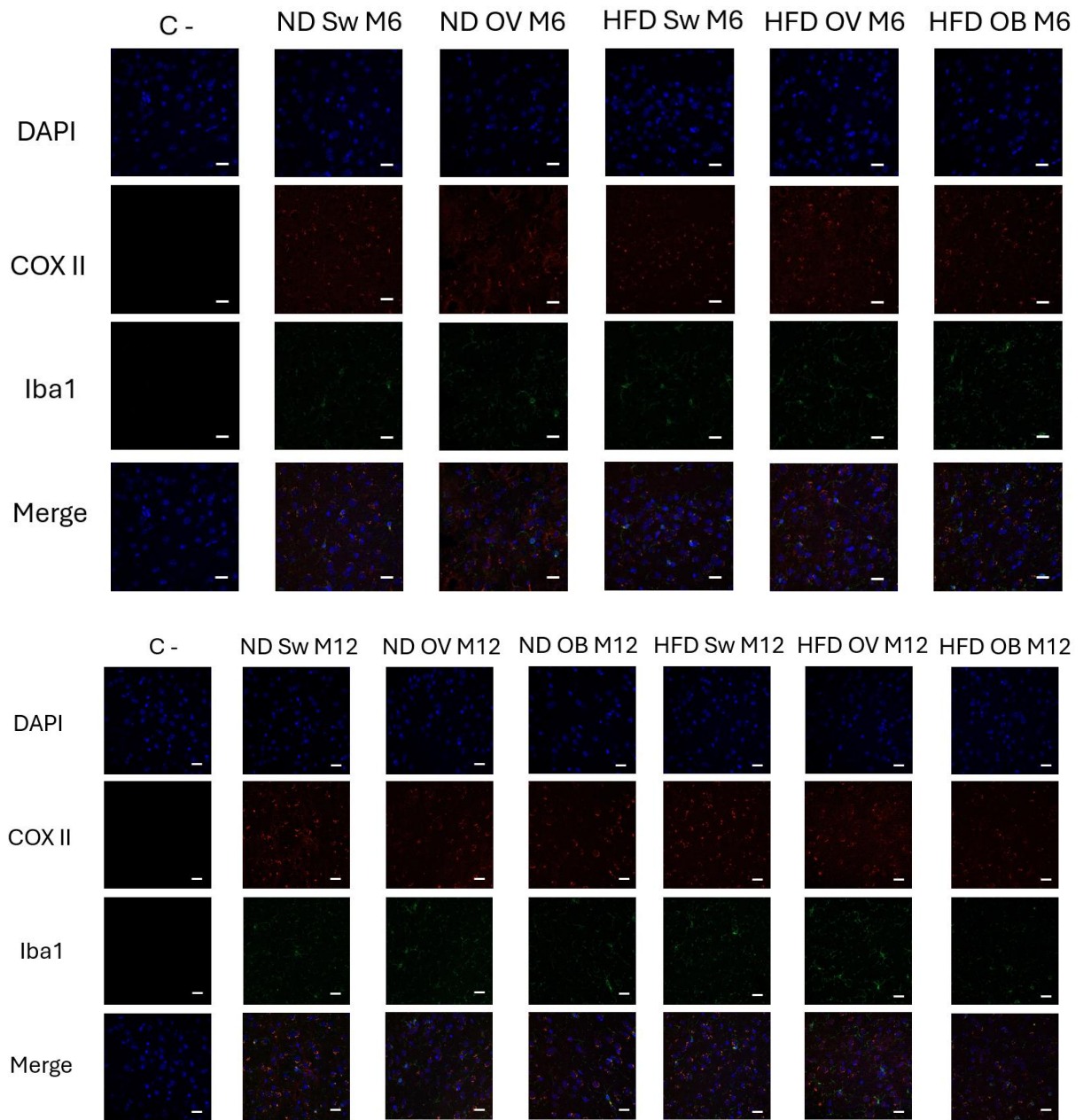
COX II - NeuN



COX II – GFAP



COX II – Iba1



COX II – CD31

