



**HAL**  
open science

# Innervation sympathique et hémodynamique cérébrale chez le rat

Aurélia Revel

► **To cite this version:**

Aurélia Revel. Innervation sympathique et hémodynamique cérébrale chez le rat. Médecine humaine et pathologie. Université Claude Bernard - Lyon I, 2011. Français. NNT: 2011LYO10245 . tel-00819175

**HAL Id: tel-00819175**

**<https://theses.hal.science/tel-00819175>**

Submitted on 30 Apr 2013

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

N° d'ordre : 245 - 2011

Année 2011

THESE DE L'UNIVERSITE DE LYON

Délivrée par

**L'UNIVERSITÉ CLAUDE BERNARD LYON 1**

**ÉCOLE DOCTORALE INTERDISCIPLINAIRE SCIENCES SANTE**

**DIPLÔME DE DOCTORAT**

(arrêté du 7 août 2006)

Discipline : Physiologie, Biologie des Organismes, Populations

*soutenue publiquement le 6 décembre 2011*

*par*

**Aurélia REVEL**

**INNERVATION SYMPATHIQUE ET HÉMODYNAMIQUE CÉRÉBRALE CHEZ LE  
RAT**

Directeurs de thèse :

M. le Professeur Christian BARRÈS et M. le docteur Claude JULIEN

**JURY**

M. le Professeur

Christian BARRÈS

M. le Professeur

Jean-Luc ELGHOZI

M. le Docteur

Claude JULIEN

Mme le Professeur

Isabelle LARTAUD

Mme le Docteur

Anne PAVY-LE TRAON



# UNIVERSITÉ CLAUDE BERNARD - LYON 1

## Président de l'Université

Vice-président du Conseil d'Administration

Vice-président du Conseil des Études et de la Vie Universitaire

Vice-président du Conseil Scientifique

Secrétaire Général

**M. A. Bonmartin**

M. le Professeur G. Annat

M. le Professeur D. Simon

M. le Professeur J-F. Mornex

M. G. Gay

## *COMPOSANTES SANTÉ*

Faculté de Médecine Lyon Est – Claude Bernard

Directeur : M. le Professeur J. Étienne

Faculté de Médecine et de Maïeutique Lyon Sud – Charles Mérieux

Directeur : M. le Professeur F-N. Gilly

UFR d'Odontologie

Directeur : M. le Professeur D. Bourgeois

Institut des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques

Directeur : M. le Professeur F. Locher

Institut des Sciences et Techniques de la Réadaptation

Directeur : M. le Professeur Y. Matillon

Département de formation et Centre de Recherche en Biologie Humaine

Directeur : M. le Professeur P. Farge

## *COMPOSANTES ET DÉPARTEMENTS DE SCIENCES ET TECHNOLOGIE*

Faculté des Sciences et Technologies

Directeur : M. le Professeur F. Gieres

Département Biologie

Directeur : M. le Professeur F. Fleury

Département Chimie Biochimie

Directeur : Mme le Professeur H. Parrot

Département GEP

Directeur : M. N. Siauve

Département Informatique

Directeur : M. le Professeur S. Akkouche

Département Mathématiques

Directeur : M. le Professeur A. Goldman

Département Mécanique

Directeur : M. le Professeur H. Ben Hadid

Département Physique

Directeur : Mme S. Fleck

Département Sciences de la Terre

Directeur : Mme le Professeur I. Daniel

UFR Sciences et Techniques des Activités Physiques et Sportives

Directeur : M. C. Collignon

Observatoire de Lyon

Directeur : M. B. Guiderdoni

École Polytechnique Universitaire de Lyon 1

Directeur : M. P. Fournier

École Supérieure de Chimie Physique Électronique

Directeur : M. G. Pignault

Institut Universitaire de Technologie de Lyon 1

Directeur : M. le Professeur C. Coulet

Institut de Science Financière et d'Assurances

Directeur : M. le Professeur J-C. Augros

Institut Universitaire de Formation des Maîtres

Directeur : M. R. Bernard





*À la mémoire de mon grand-père*

*À mes parents*

*À ma famille*

*À mes amis*

*À tous ceux qui me sont chers*



*À mes Juges,*

***Madame le Professeur Isabelle Lartaud***

*Je vous remercie très vivement d'avoir accepté de juger mon travail. Je suis heureuse d'avoir fait votre connaissance. Merci pour cette discussion riche lors de ma soutenance. Soyez assurés de ma profonde reconnaissance.*

***Madame le Docteur Anne Pavy-Le Traon***

*Je vous suis très reconnaissante d'avoir accepté de juger mon travail. Votre expertise médicale m'a permis d'apporter un autre regard sur mon travail. Je vous assure de mon respect et de mon admiration.*

***Monsieur le Professeur Jean-Luc Elghozi***

*Merci, d'avoir pris le temps de juger mon travail. Je n'oublierai pas de ci-tôt vos cours de Master 2 sur « le barreau réflexe ou baroréflexe ? » qui resteront pour moi un exemple d'enseignement. Merci d'avoir partagé avec moi votre expertise sur le sujet.*

***Monsieur le Professeur Christian Barrès***

*Je vous remercie d'avoir contribué à la direction de ce travail. Par vos cours, vous m'avez donné l'envie de poursuivre dans cette voie de la recherche en physiologie cardiovasculaire. J'ai pu, au fil des ans, apprécier votre minutie et votre rigueur scientifique. Qu'il me soit permis à cette occasion de vous témoigner ma sincère gratitude et mon profond respect.*

***Monsieur le Docteur Claude Julien***

*Vous avez dirigé ce travail avec une grande compétence. J'espère que la minutie et la rigueur que vous avez essayé de me transmettre, me serviront dans la suite de ma carrière. Je vous remercie de m'avoir fait confiance depuis mon premier stage au laboratoire pour mon Master 1. Veuillez trouver ici l'expression de ma profonde gratitude et de mon profond respect.*

*Je tiens à remercier chaleureusement :*

*Valérie Oréa*

*Tu m'as transmis ton savoir faire technique pour la réalisation des chirurgies et expérimentations chez nos petits rats. Ton aide, ta patience et ton soutien m'ont permis de mener à bien cette thèse. Merci également pour ton dynamisme et ton soutien dans les moment difficiles tant professionnels que personnels...*

*Bruno Chapuis*

*Je te remercie pour ton aide constante pour la réalisation de cette thèse et pour ta disponibilité et ta bonne humeur à toute épreuve !*

*Tous les membres du laboratoire et de l'animalerie du 5<sup>ème</sup>, tous les thésards et stagiaires avec qui j'ai pu partager des moments d'intenses discussions et réflexions mais aussi d'agréables souvenirs.*

# TABLE DES MATIÈRES

LISTE DES ABRÉVIATIONS.....	1
RÉSUMÉ.....	3
SUMMARY.....	5
INTRODUCTION.....	7

## Première partie : RECHERCHE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE – I : ANATOMIE DE LA CIRCULATION CÉRÉBRALE.....	11
1. Les systèmes artériels.....	11
1.1.Aspects généraux chez l’Homme.....	11
1.2.Différences inter-espèces .....	17
1.2.1. Primates non humains.....	18
1.2.2. Rat.....	18
1.2.3. Carnivores.....	19
1.2.4. Ruminants.....	19
2. Le réseau capillaire.....	20
2.1.Organisation.....	20
2.2.La barrière hémato-encéphalique.....	20
3. Le système veineux.....	22
4. L’innervation cérébrovasculaire.....	24
4.1.L’innervation extrinsèque.....	24
4.1.1. L’innervation sympathique.....	24
4.1.2. L’innervation parasympathique.....	26
4.1.3. Le système trigémino-vasculaire.....	27
4.2.L’innervation intrinsèque.....	28

CHAPITRE – II : RÉGULATION DU DÉBIT SANGUIN CÉRÉBRAL.....	31
1. Régulation métabolique.....	33
2. Autorégulation du débit sanguin cérébral.....	34
3. Modulation par la pression partielle en dioxyde de carbone (PaCO <sub>2</sub> ).....	38
4. Régulation par le système nerveux.....	39
4.1. Rôle du système nerveux sympathique.....	39
4.1.1. Stimulations sympathiques.....	39
4.1.2. Dénervation sympathique.....	48
4.1.3. Enregistrement de l'activité nerveuse sympathique.....	54
4.1.4. Conclusions.....	57
4.2. Rôle du système nerveux parasympathique.....	58
4.3. Rôle du système nerveux trigémino-vasculaire.....	58
5. Régulation par les facteurs endothéliaux.....	58
6. Régulation par des facteurs hormonaux.....	61
7. Conclusions.....	62
CHAPITRE – III : STRESS ET DÉBIT SANGUIN CÉRÉBRAL.....	65
1. Méthodes d'inductions d'un stress émotionnel expérimental.....	65
1.1. Chez l'animal.....	65
1.2. Chez l'Homme.....	65
2. Effet du stress émotionnel.....	66
2.1. Aspects généraux.....	66
2.2. Cas particulier du lit vasculaire cérébral.....	68

CHAPITRE – IV : MÉTHODES D'ÉTUDE DU DÉBIT SANGUIN CÉRÉBRAL.....	71
1. Méthodes statiques.....	71
1.1. Approches basées sur des mesures de clairances de gaz inertes.....	71
1.1.1. Méthode de Kety et Schmidt.....	71
1.1.2. La clairance à l'hydrogène.....	71
1.1.3. La clairance à l'hélium.....	72
1.1.4. Traceurs radioactifs intra-carotidiens avec détection externe.....	73
1.2. Technique des microsphères.....	73
1.3. L'autoradiographie.....	74
2. Méthodes dynamiques.....	75
2.1. Mesure du calibre des artères.....	75
2.2. La clairance thermique.....	75
2.3. Doppler transcrânien.....	76
2.4. Débitmétrie Doppler et transit-time.....	78

## **Deuxième partie : TRAVAIL PERSONNEL**

CHAPITRE - V : MATÉRIEL ET MÉTHODES.....	83
1. Animaux.....	83
2. Procédures chirurgicales.....	83
2.1. Exérèse du ganglion cervical supérieur.....	83
2.2. Mesure des débits sanguins carotidiens internes.....	86
2.2.1. Principe du Doppler pulsé.....	86
2.2.2. Implantation chronique des sondes autour des artères carotides internes....	87
2.3. Implantation des cathéters.....	87
3. Enregistrement informatisé des valeurs mesurées.....	88
4. Protocole expérimental.....	89
4.1. Enregistrement des variables dans les conditions de base.....	89
4.2. Application d'un stress émotionnel.....	89



4.3. Protocole pharmacologique.....	89
5. Analyse des données.....	90
5.1. Analyse de l'effet du stress et des effets pharmacologiques.....	90
5.2. Analyse de la variabilité spontanée des débits carotidiens.....	91
5.2.1. Analyse dans le domaine fréquentiel.....	91
5.2.2. Analyse dans le domaine temporel.....	93
6. Analyse statistique.....	93
CHAPITRE – VI.....	95
RÉSULTATS (1) : RÔLE DU SYSTÈME NERVEUX SYMPATHIQUE DANS LES RÉPONSES CÉRÉBROVASCULAIRES AU STRESS DU JET D'AIR CHEZ LE RAT (ARTICLE 1)	
CHAPITRE - VII.....	103
RÉSULTATS COMPLÉMENTAIRES DE L'ÉTUDE DES EFFETS DU STRESS (1)	
CHAPITRE - VIII.....	109
RÉSULTATS COMPLÉMENTAIRES DE L'ÉTUDE DES EFFETS DU STRESS (2) ANALYSE DANS LE DOMAINE TEMPOREL DE LA VARIABILITÉ SPONTANÉE DES DÉBITS CAROTIDIENS	
CHAPITRE - IX.....	113
RÉSULTATS (2) : EFFETS D'UNE SYMPATHECTOMIE CERVICALE UNILATÉRALE OU BILATÉRALE CHRONIQUE SUR LES RÉPONSES DU LIT VASCULAIRE CAROTIDIEN À DES SUBSTANCES VASOACTIVES CHEZ LE RAT VIGIL	
CHAPITRE - X.....	121
RÉSULTATS (3) : EFFETS D'UNE SYMPATHECTOMIE CERVICALE CHRONIQUE SUR L'HÉMODYNAMIQUE CÉRÉBRALE CHEZ LE RAT VIGIL (ARTICLE 2)	
DISCUSSION.....	141
RÉFÉRENCES.....	147
ANNEXE 1.....	171

## Liste des abréviations

- Ach : acétylcholine
- AS ou REM: sommeil paradoxal
- CGRP : “calcitonin gene related peptide”
- CO<sub>2</sub> : dioxyde de carbone
- CVR : résistances vasculaires cérébrales
- ANS ou SNA : activité nerveuse sympathique
- AVC : accident vasculaire cérébral
- BHE : barrière hémato-encéphalique
- Ca<sup>2+</sup> : ions calciques
- CBFV : flux sanguin cérébral (cerebral blood flow velocity)
- CVCa : conductances vasculaires carotidiennes
- DSC ou CBF : débit sanguin cérébral (cerebral blood flow)
- DSCa : débit sanguin carotidien
- ECoG : électrocorticogramme
- EDHF : facteur hyperpolarisant dérivé de l'endothélium
- EDRF : facteur relaxant dérivé de l'endothélium
- EMGn : électromyogramme des muscles de la nuque
- EOG : électro-oculogramme
- GABA : acide γ-aminobutyrique
- GCS ou SGC : ganglion cervical supérieur
- Glu : glutamate
- H<sup>+</sup> : proton
- K<sup>+</sup> : ion potassique
- NA : noradrénaline
- NKA : neurokinine A
- NO : monoxyde d'azote
- NOS : “nitric oxide synthase”
- NPY : neuropeptide Y
- OG : ganglion otique
- O<sub>2</sub> : dioxygène
- PA : pression artérielle
- PaCO<sub>2</sub> : pression partielle en CO<sub>2</sub> du sang artériel
- PaO<sub>2</sub> : pression partielle en O<sub>2</sub> du sang artériel
- Pca : pression artérielle carotidienne
- PGE : prostaglandines
- Pic : pression intracrânienne
- PNS : système nerveux périphérique
- SOM : somatostatine
- SP : substance P
- TG : ganglion trigéminal
- QS ou nREM : sommeil lent
- QW : état d'éveil calme (quite wakefulness)
- VIP : peptide vasoactif intestinal
- 5-HT : sérotonine



## RÉSUMÉ

Ce travail avait pour but de déterminer, chez le rat vigile, le rôle de l'innervation sympathique dans le contrôle de l'hémodynamique cérébrale 1/ au cours d'une période d'activité normale d'environ 4 heures, et 2/ lors d'une augmentation aiguë de la pression artérielle (PA) induite par un stress émotionnel (jet d'air). Les débits sanguins dans les artères carotides internes (DSCa) ont été mesurés grâce à des sondes Doppler chroniquement implantées, chez des rats intacts ou ayant subi l'exérèse unilatérale du ganglion cervical supérieur.

Le stress induit une élévation brusque et importante de la PA qui s'accompagne d'une hyperémie et d'une vasodilatation beaucoup plus marquées du côté dénervé que du côté innervé. Dans les conditions de base, l'analyse spectrale révèle une augmentation de la variabilité du DSCa du côté dénervé. La cohérence entre les deux DSCa, qui fournit un index de corrélation linéaire dans le domaine fréquentiel, a été calculée avant (cohérence ordinaire) et après élimination mathématique de l'influence de la PA (cohérence partielle). Les cohérences ordinaire et partielle sont diminuées par la sympathectomie unilatérale dans une bande de fréquences comprises entre 0,01 et 0,1 Hz. Ceci suggère un rôle modulateur important de l'innervation sympathique vis-à-vis de ces fluctuations lentes des DSCa.

Ces résultats montrent que chez le rat vigile, l'innervation sympathique exerce un rôle protecteur de la circulation cérébrale face aux augmentations de PA au cours du stress émotionnel. Par ailleurs, cette innervation module des fluctuations spontanées lentes du débit sanguin cérébral qui ne sont pas directement reliées aux fluctuations de la PA.



## SUMMARY

The goal of the present work was to determine, in conscious rats, the role of the sympathetic innervation in the control of cerebral hemodynamics 1/ during a baseline period lasting ~4 h, and 2/ during an acute increase in blood pressure (BP) evoked by an emotional stressor (jet of air). Blood flows in internal carotid arteries (CaBF) were recorded with Doppler flow probes chronically implanted in intact rats and in rats that underwent unilateral excision of the superior cervical ganglion.

Stress induced a large and brisk increase in BP which was accompanied by hyperemia and vasodilatation that were much stronger on the denervated than on the intact side. Spectral analysis demonstrated an overall enhancement of CaBF variability on the denervated side. Coherence between the two CaBFs, which provides an index of linear correlation in the frequency domain, was computed before (ordinary coherence) and after (partial coherence) mathematically eliminating the influence of BP. Both ordinary and partial coherences were lowered by unilateral sympathectomy in the 0.01-0.1 Hz frequency range, which suggests an important modulatory role for sympathetic innervation with respect to these slow CaBF fluctuations.

These results indicate that in the conscious rat, sympathetic innervation plays a protective role of the cerebral circulation in the face of stress-induced increases in BP. On the other hand, this innervation modulates slow, spontaneous fluctuations of cerebral blood flow which are not directly related to BP fluctuations.



## INTRODUCTION

Les accidents vasculaires cérébraux (AVC) sont l'une des premières causes de mortalité, de démence et de handicap moteur acquis dans le monde (Murray & Lopez, 1997). Les trois-quarts environ des AVC sont d'origine ischémique, les autres étant d'origine hémorragique (Thrift et coll., 2001). Indépendamment de leur nature, ischémique ou hémorragique, il apparaît qu'un facteur de risque majeur des AVC est l'hypertension artérielle (Luepker et coll., 2006). Cette observation épidémiologique révèle l'importance des facteurs hémodynamiques dans la physiopathologie des AVC. À cet égard, il est important de rappeler que si l'hypertension artérielle est, par définition, une augmentation soutenue du niveau tensionnel moyen, elle s'accompagne aussi d'une augmentation de la variabilité spontanée de la pression artérielle, c'est-à-dire de la fréquence et de l'amplitude des variations tensionnelles spontanées. L'impact de ces poussées hypertensives sur le système cardiovasculaire en général et sur la circulation cérébrale en particulier reste à préciser. Une étude a d'ailleurs suggéré que l'amplitude de la réponse hypertensive au stress émotionnel est un facteur de risque de l'AVC (Everson et coll., 2001). Plus récemment, il a été rapporté que la variabilité de la pression artérielle est un facteur prédictif fort de la survenue d'AVC indépendamment de la valeur moyenne de la PA (Rothwell et coll., 2010).

Les poussées hypertensives sont fréquemment associées aux divers stress de la vie courante, qu'ils soient physique, mental ou émotionnel. Ces situations de stress comportent une activation sympathique qui a été directement observée dans les circulations musculaire chez l'Homme (Anderson et coll., 1991) et rénale chez le rat (Barrès et coll., 2004). Toutefois, cette activation sympathique et l'effet hypertenseur qui en résulte sont puissamment limités par le système baroréflexe. Il a par ailleurs été proposé que l'activation sympathique cérébrovasculaire joue un rôle protecteur de la circulation cérébrale face aux augmentations de la pression artérielle, en facilitant la vasoconstriction cérébrale, s'opposant ainsi à l'hyperémie et à l'augmentation de la pression de perfusion capillaire (Bill & Linder, 1976 ; Heistad et coll., 1978b).

Dans ce contexte, l'objectif du travail réalisé était d'évaluer le rôle physiologique de l'innervation sympathique dans le contrôle de l'hémodynamique cérébrale chez le rat vigile. Le débit sanguin cérébral a été évalué par la mesure simultanée du débit sanguin dans les carotides internes gauche et droites grâce à des sondes Doppler implantées une semaine



avant l'étude. Les variations des débits carotidiens et de leurs conductances vasculaires associées ont été étudiées pendant une période de base d'environ 4 heures, puis au cours d'un stress émotionnel d'intensité modérée provoqué par l'envoi d'un jet d'air dans la cage où se trouve le rat. L'étude a été conduite chez des rats ayant subi au préalable l'exérèse unilatérale ou bilatérale du ganglion cervical supérieur ainsi que chez des rats intacts. En effet, il a été montré que chaque ganglion cervical supérieur est la source principale de l'innervation sympathique cérébrale homolatérale (Arbab et coll., 1986). Une étude pharmacologique a également été réalisée afin d'évaluer les conséquences fonctionnelles de cette dénervation.

Toutes les données produites dans le cadre de ce travail de thèse n'ont pas encore été publiées. Les réponses hémodynamiques au stress chez les rats avec ganglionectomie unilatérale ont fourni la matière d'une première publication (Revel A, Oréa V, Chapuis B, Barrès C, Julien C. Role of the sympathetic nervous system in cerebrovascular responses to air-jet stress in rats. *Stress*. 2011 Jul 26. [Epub ahead of print]). L'étude par analyse spectrale des variations spontanées du débit sanguin cérébral chez les rats avec dénervation unilatérale et leurs contrôles non dénervés est actuellement soumise pour publication (Revel A, Gallet C, Oréa V, Chapuis B, Barrès C, Julien C. Effect of chronic cervical ganglionectomy on the spontaneous variability of internal carotid blood flow in the conscious rat. *Exp Physiol*).

Première partie

## **RECHERCHE BIBLIOGRAPHIQUE**



# **ANATOMIE DE LA CIRCULATION CÉRÉBRALE**

Le cerveau ne représente que 2 % du poids corporel chez l'Homme mais il reçoit 15 % du débit cardiaque de repos. Ce débit sanguin cérébral (DSC) important est en rapport avec ses besoins en oxygène qui représentent près de 20 % de la consommation totale en oxygène de l'organisme (Sokoloff, 1997). Le cerveau ne disposant d'aucune réserve énergétique (glucose ou glycogène) ou d'oxygène, les besoins constants des cellules nerveuses en oxygène et en nutriments les rendent donc particulièrement vulnérables à l'ischémie.

L'anatomie spécifique de la circulation cérébrale, qui se manifeste aussi bien au niveau artériel, qu'aux niveaux veineux ou capillaire, contribue donc au bon fonctionnement de cet organe particulièrement sensible aux variations du débit sanguin. Les vaisseaux cérébraux sont, en effet, plus que des éléments passifs et toutes les caractéristiques de cette circulation permettent d'assurer la protection du système nerveux central en assurant un apport sanguin suffisant.

## **1. Les systèmes artériels**

### ***1.1. Aspects généraux chez l'Homme***

Comparé aux autres organes, la singularité du cerveau provient du fait qu'il est irrigué par quatre artères majeures qui se rejoignent pour former une structure particulière à la base du cerveau, le polygone (ou cercle) de Willis. Ces artères primaires sont organisées en deux systèmes artériels :

- les artères carotides communes (ou primitives) droite et gauche, toutes deux formant le système carotidien ;

- les artères vertébrales droite et gauche qui se réunissent au niveau intracrânien pour former l'artère basilaire.

Les artères carotides communes droite et gauche n'ont pas la même origine. L'artère carotide commune gauche est directement issue de l'aorte, tandis que l'artère carotide commune droite prend naissance à partir du tronc brachio-céphalique. Les artères carotides primitives montent sur les côtés du cou et se divisent au niveau des « bulbes carotidiens » en deux branches : les artères carotides externes et internes

Chaque artère carotide externe émet des ramifications vers la glande thyroïde et le larynx (artère thyroïdienne supérieure), la langue (artère linguale), la peau et les muscles de la partie antérieure du visage (artère faciale) et la partie postérieure du cuir chevelu (artère occipitale) et se termine en donnant naissance à l'artère temporale superficielle, qui irrigue la glande parotide et la majeure partie du cuir chevelu, et à l'artère maxillaire, qui irrigue les mâchoires, les muscles de la mastication, les dents et la cavité nasale. Cependant, les artères carotides externes ont une branche intracrânienne, l'artère méningée moyenne.

Les artères carotides internes ont, elles, une destinée uniquement intracrânienne. Chez l'Homme, chaque artère carotide contribue pour environ 40 % de la perfusion totale du cerveau (Edvinsson et coll., 1993e). Chacune pénètre dans le crâne via le trou déchiré antérieur situé dans le rocher de l'os temporal. Elles sinuent ensuite dans le canal carotidien et forment un siphon carotidien dans les sinus caverneux (Edvinsson et coll., 1993e ; Sokoloff, 1997). Une fois à l'intérieur du crâne, chacune donne leur seule collatérale importante vers une structure extra cérébrale, l'artère ophtalmique. Puis chaque artère carotide interne se divise pour former :

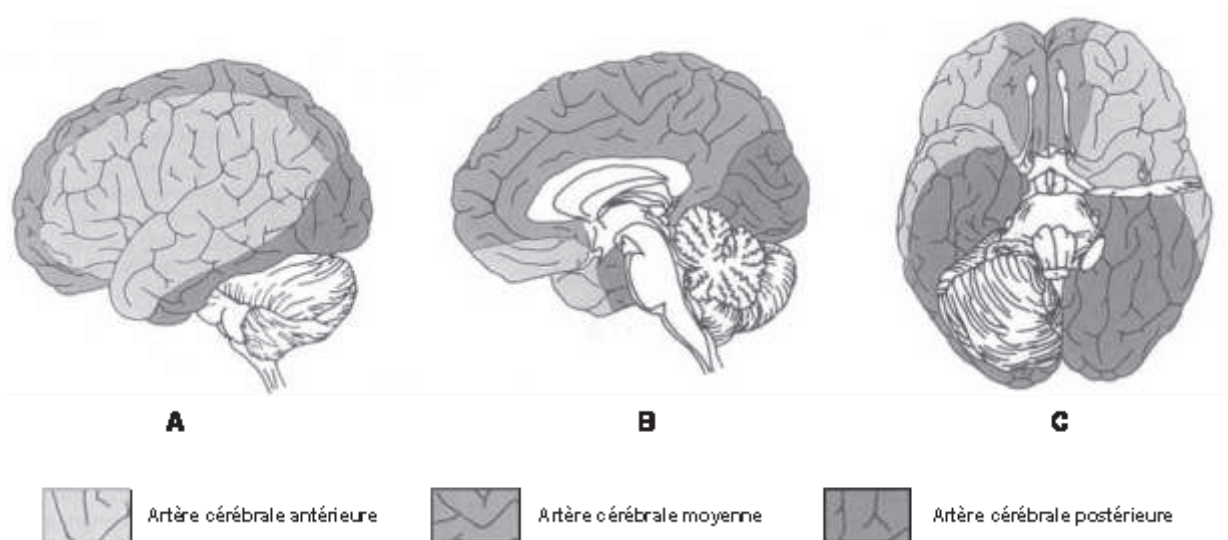
- les artères communicantes postérieures ;

- les artères choroïdiennes antérieures qui vascularisent le plexus choroïde du ventricule latéral mais également des structures diverses comme le tractus optique, l'hippocampe, la queue du noyau caudé, le cortex pyriforme, l'amygdale, une partie du globus pallidus, de la capsule interne et du corps géniculé latéral ;

- les artères cérébrales antérieures dont les différentes branches (branches orbitales, moyennes et postérieures) vont assurer l'irrigation des pôles frontaux et des parties médianes des lobes frontaux et pariétaux (figure 1).

- les artères cérébrales moyennes (ou sylvienne) qui sont les plus importantes branches issues des carotides internes. Elles empruntent le sillon central (ou sillon de Rolando) et

donnent naissance à différentes branches (la superficielle et la profonde) assurant la perfusion de la majeure partie des surfaces latérales des hémisphères cérébraux (figure 1).

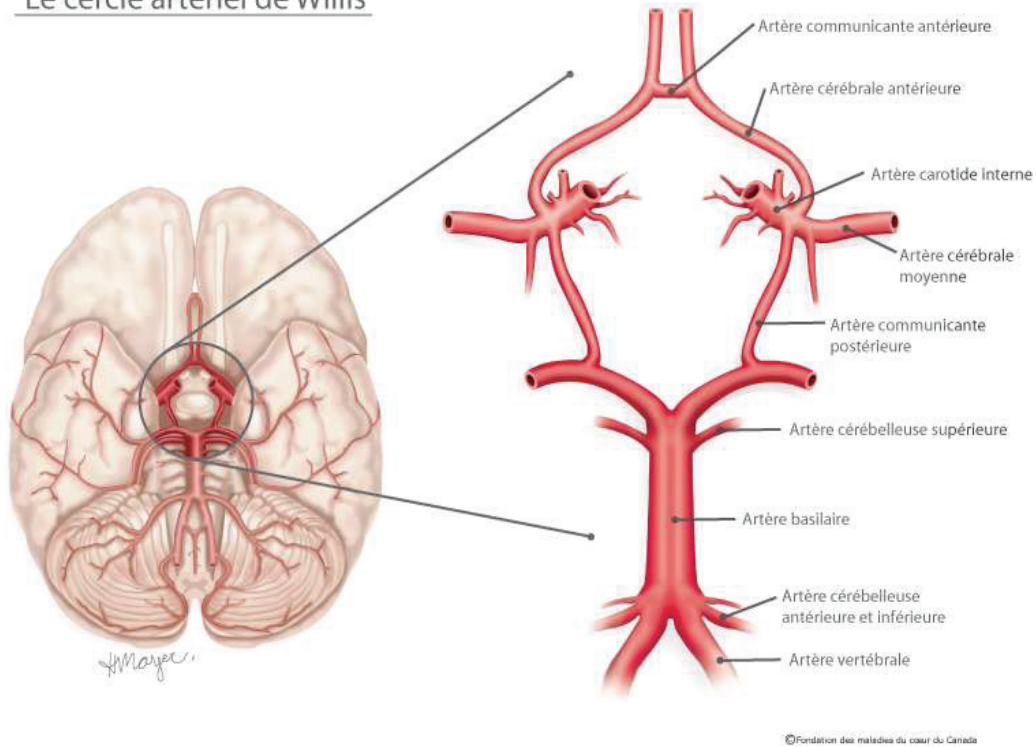


**Figure 1 :** Représentation des territoires du cerveau alimentés par l'artère cérébrale antérieure (gris), l'artère cérébrale moyenne (gris clair) et l'artère cérébrale postérieure (gris foncé). A : vue latérale ; B : vue médiane ; C : vue basale. D'après Edvinsson et coll., 1993e.

Les artères vertébrales prennent naissance à partir des artères sous-clavières. Elles parcourent les canaux transversaires des vertèbres cervicales-jusqu'à leur pénétration dans le crâne via le trou occipital (Sokoloff, 1997 ; Edvinsson et coll., 1993e). Les artères vertébrales se réunissent pour former l'artère basilaire (ou tronc basilaire). Ce tronc basilaire est la source de nombreux vaisseaux qui vascularisent notamment le cervelet et l'oreille interne. La branche la plus importante de l'artère basilaire est l'artère cérébrale postérieure qui permet la vascularisation des parties inférieures et médianes des lobes temporaux et occipitaux (figure 2, Edvinsson et coll., 1993e).

L'artère basilaire va s'anastomoser avec les deux carotides internes par le biais des artères communicantes postérieures (figure 2). Les artères cérébrales antérieures vont-elles aussi se relier grâce à l'artère communicante antérieure (figure 2). Cette conformation qui est l'une des particularités anatomiques les plus remarquables de l'apport artériel au niveau du cerveau est le polygone de Willis (figure 2)

## Le cercle artériel de Willis



**Figure 2:** Représentation du polygone de Willis et des artères afférentes et efférentes à ce polygone (vue basale du cerveau).

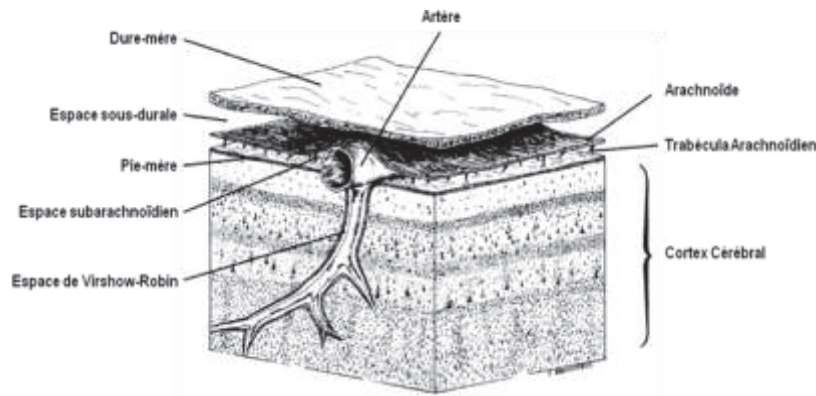
Dans des conditions physiologiques normales, la pression de perfusion est identique dans les artères carotides et vertébrales. Le sang issu des artères carotides et de l'artère basilaire ne se mélange quasiment pas. De plus, cette égalité des pressions dans les quatre artères alimentant le polygone de Willis explique également qu'il y ait peu de mélange de sang entre les côtés droit et gauche, chaque artère carotide alimentant majoritairement l'hémisphère ipsilatéral (Sokoloff, 1997). Normalement, le polygone de Willis se comporte comme un shunt antéropostérieur plutôt que comme un shunt côté-côté. Cependant, dans les conditions pathologiques, la balance des pressions peut changer et le polygone de Willis peut servir à la fois de shunt antéropostérieur et de shunt côté-côté (Sokoloff, 1997). Ainsi, ce système d'anastomose unique qu'est le polygone de Willis, est une protection importante du cerveau. En effet, en cas d'occlusion d'une des quatre artères principales, le polygone de Willis peut rééquilibrer les apports artériels et les répartir de façon homogène dans tout le territoire cérébral.

Au delà du cercle de Willis, les artères cérébrales deviennent de plus en plus petites et parcourent la surface des hémisphères cérébraux dans l'espace subarachnoïdien sur la pie-mère sous forme d'artères et d'artéριοles piales. Ces artères piales donnent naissance à des artères et artéριοles qui pénètrent dans le parenchyme cérébral (Girouard & Iadecola, 2006). Ces artères pénétrantes sont constituées d'une couche de cellules endothéliales, d'une couche de cellules musculaires lisses et d'une adventice, contenant du collagène, des fibroblastes et des terminaisons nerveuses (Edvinsson et coll., 1993e ; Girouard & Iadecola, 2006).

Il faut remarquer que, contrairement à d'autres lits vasculaires, la régulation du débit sanguin cérébral s'effectue principalement en périphérie du territoire irrigué. Les artères de gros diamètre, notamment les artères carotides internes, l'artère basilaire, les artères du polygone de Willis et les artères qui lui sont directement connectées, sont des artères de résistance (représentant 30 à 50 % des résistances cérébrovasculaires totales (Regrigny, 2000)) et participent donc activement à la régulation du débit sanguin cérébral (Heistad et coll., 1978b ; Faraci & Heistad, 1990).

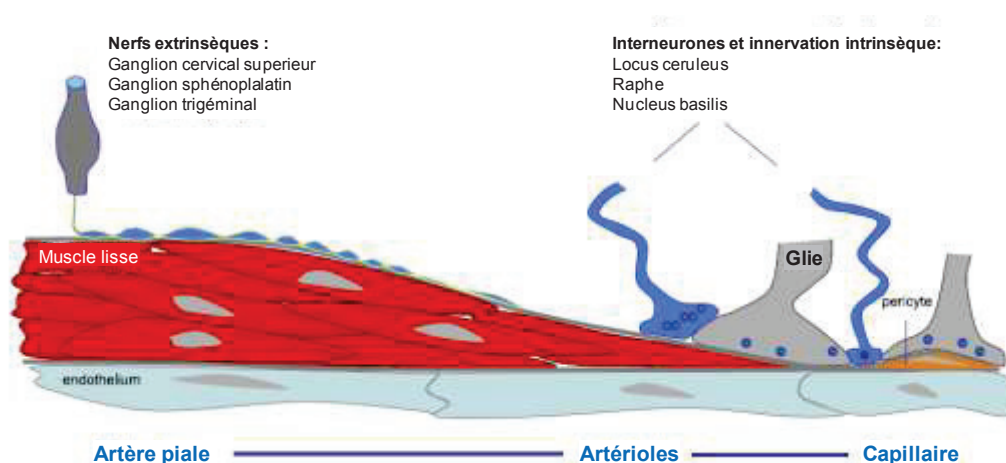
Le mode de pénétration à angle droit de ces artères dans le cortex cérébral est encore une question controversée. L'opinion la plus répandue est illustrée par la figure 3. Des invaginations de la pie-mère entourent les artéριοles pénétrantes en créant un espace périvasculaire (l'espace de Virchow-Robin) qui contient le liquide céphalorachidien et est contigu à l'espace subarachnoïdien (Edvinsson et coll., 1993e).





**Figure 3 :** Diagramme illustrant le mode de pénétration des artéριοles dans le cortex cérébral. D'après Fukui et coll., 1996.

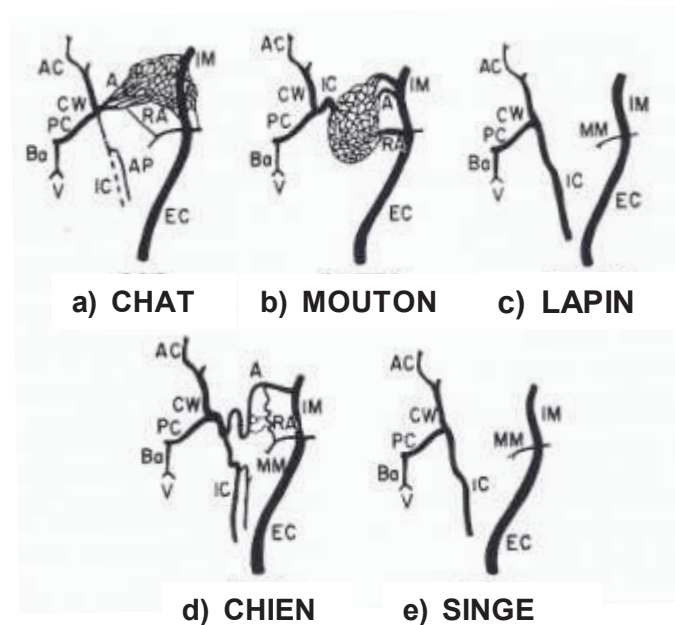
Au fur et à mesure de leur pénétration dans le tissu cérébral, le diamètre des artéριοles diminue progressivement et les myocytes interagissent avec les astrocytes, par l'intermédiaire de leurs prolongements (pieds astrocytaires), qui viennent jusqu'à entourer en totalité la paroi vasculaire. La coalescence des membranes basales de la pie-mère et de l'artéριοle engendre la disparition de cet espace de Virchow-Robin (Girouard & Iadecola, 2006) et le vaisseau devient un capillaire lorsque les cellules musculaires lisses sont remplacées par les péricytes (figure 4).



**Figure 4 :** Diagramme illustrant la transformation progressive des artères cérébrales en capillaires. D'après Girouard & Iadecola, 2006.

## 1.2. Différences inter-espèces

Une grande part de notre connaissance actuelle du contrôle de la circulation cérébrale provient d'études réalisées sur des animaux d'expérimentation. Néanmoins, ces études ont parfois fourni des résultats contradictoires qui peuvent être attribués à une méconnaissance des différences anatomiques de la circulation cérébrale entre les espèces (figure 5).



**Figure 5 :** Représentation des connexions artérielles entre le polygone de Willis et les vaisseaux extracrâniens dans 5 espèces de mammifères. Chez le lapin et le singe, l'artère carotide interne irrigue la partie antérieure du polygone de Willis. Chez le chat et le mouton, qui n'ont pas d'artère carotide interne fonctionnelle, c'est un « réseau admirable » carotidien qui irrigue la partie antérieure du polygone de Willis. Le chien a, lui, une petite artère carotide interne et un réseau admirable rudimentaire. A, arteria anastomotica ; AC, artère cérébrale antérieure ; AP, artère pharyngienne ascendante ; Ba, artère basilaire ; CW, polygone de Willis ; EC, artère carotide externe ; IC, artère carotide interne ; IM, artère maxillaire interne ; MM, artère méningée moyenne ; PC, artère communicante postérieure ; RA, ramus anastomoticus ; V, artère vertébrale. D'après Edvinsson et coll., 1993e.

### **1.2.1. Primates non humains**

L'anatomie de la circulation cérébrale, chez les primates non humains comme le babouin et le macaque, est proche de celle de l'Homme. La différence majeure est la distribution de l'artère carotide interne. En effet, les deux artères cérébrales antérieures convergent et s'unissent pour former l'artère péricalleuse et on constate l'absence d'artère communicante antérieure. Le cercle de Willis est donc constitué par les artères cérébrales antérieures, communicantes postérieures et basilaire (Edvinsson et coll., 1993e).

Approximativement 70 % du débit cérébral total chez le macaque provient des artères carotides internes, les 30 % restant provenant du système vertébro-basilaire (Edvinsson et coll., 1993e).

Les anastomoses extra-intracérébrales chez les primates sont relativement rares. On considère d'ailleurs qu'après l'Homme, les primates comme le babouin et le macaque ont la séparation la plus complète entre les circulations intracrâniennes et extracrâniennes (figure 5e), l'artère ophtalmique étant le vaisseau majeur dérivant de l'artère carotide interne qui irrigue des structures autres que le cerveau (Edvinsson et coll., 1993e).

### **1.2.2. Rat**

L'artère carotide interne est la source principale de la perfusion du cerveau de rat (Bralet et coll., 1977 ; Edvinsson et coll., 1993e), les artères vertébrales contribuant à cette perfusion cérébrale de façon mineure pour l'aire ponto-médullaire (Wellens et coll., 1976). Selon Bralet et coll., 30 % du sang de l'artère carotide interne irrigue le cerveau et cette irrigation serait ipsilatérale à 80 %. L'artère carotide interne se divise en cinq branches : l'artère choroïde antérieure, la portion cervicale de l'artère ptérygo-palatine, l'artère cérébrale moyenne, l'artère cérébrale antérieure et l'artère communicante postérieure (Greene, 1935). L'artère communicante postérieure s'unie à l'artère cérébrale postérieure pour former le polygone de Willis. Les territoires de distribution des trois artères cérébrales majeures sont remarquablement similaires à ceux de l'Homme (Coyle, 1975, 1978). Comme chez l'Homme, il y a une grande variabilité interindividuelle de l'anatomie cérébrovasculaire, particulièrement au niveau du polygone de Willis. Il n'y a pas d'anastomoses intra-extracrâniennes majeures chez le rat (Greene, 1935).

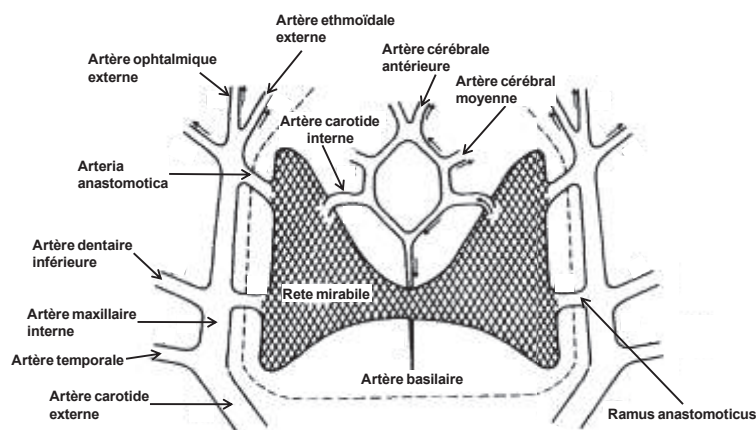
### 1.2.3. Carnivores

La circulation cérébrale artérielle chez les carnivores est très différente de celle des primates et du rat.

Chez le chien et plus encore chez le chat, l'artère carotide interne est relativement peu développée et l'artère vertébrale assure, l'irrigation des hémisphères cérébraux (Edvinsson et coll., 1993e). Le polygone de Willis reçoit une forte contribution de vaisseaux anastomotiques dérivés des nombreuses branches de l'artère carotide externe (figure 5d). Les anastomoses intra-extracrâniennes sont tellement nombreuses que des ligatures importantes et invasives sont nécessaires pour isoler correctement la circulation cérébrale de la circulation extracrânienne. De plus, de nombreuses communications artérielles entre les deux hémisphères ont été décrites.

### 1.2.4. Ruminants

Chez les petits ruminants, dont la chèvre, outre des artères carotides internes atrophiées dès la naissance, les artères vertébrales sont très peu développées et contribuent peu au débit sanguin cérébral. Le cercle artériel du cerveau est alors suppléé par le développement d'un réseau admirable épidual rostral qui est lui-même alimenté par des rameaux issus des artères maxillaires (figure 6). Ainsi, la totalité du débit sanguin de chaque hémisphère cérébral provient de l'artère maxillaire interne (branches des carotides externes) via le réseau admirable. De plus, en 1972, Reimann et coll., ont montré que 95 % du débit sanguin de l'artère maxillaire interne était à destinée intracérébrale chez la chèvre.



**Figure 6 :** Représentation schématique des branches intra et extracrâniennes de l'artère maxillaire interne de la chèvre. D'après Alborch et coll., 1977.

## **2. Le réseau capillaire**

La circulation capillaire cérébrale présente plusieurs caractéristiques remarquables.

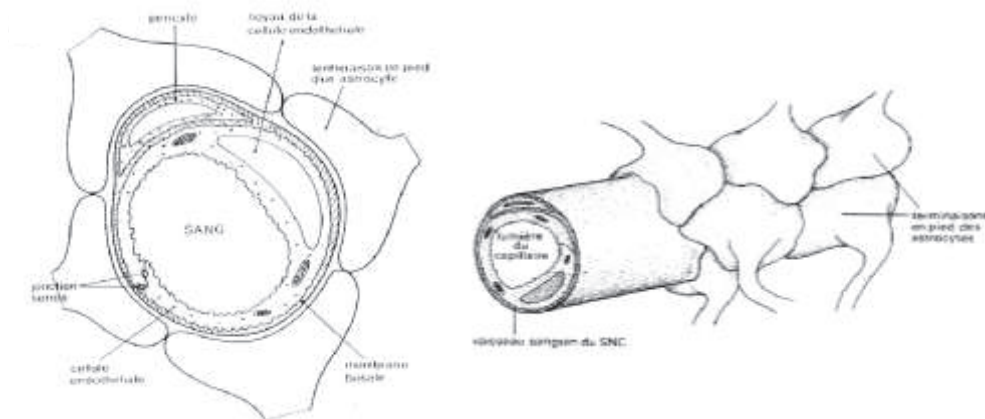
### **2.1. Organisation**

Comme les ramifications les plus étroites des artéριοles cérébrales plongent dans le cortex en formant un angle droit avec la surface pour devenir des capillaires cérébraux (voir chap. I, 1.1. p. 15), cette configuration va engendrer une organisation verticale particulière, dite « en colonne » de la microcirculation cérébrale décrite par Mountcastle (1957) et Hubel et coll. (1977).

De plus, la distribution des capillaires dans le système nerveux central est hétérogène (Edvinsson et coll., 1993e). Il a été montré que la densité capillaire n'est pas corrélée au nombre de neurones, mais plutôt au nombre de synapses de la région du cerveau vascularisée (Dunning & Wolff, 1937, Edvinsson et coll., 1993e). Comme environ 90 % des capillaires cérébraux sont perfusés en continu, l'hypothèse que cette densité capillaire soit le reflet anatomique du métabolisme aérobie des cellules nerveuses a été émise (Edvinsson et coll., 1993e, Girouard & Iadecola, 2006).

### **2.2. La barrière hémato-encéphalique (BHE)**

Une autre caractéristique majeure de la microcirculation cérébrale concerne la structure même des vaisseaux capillaires qui possèdent une barrière physique, qui leur confère une certaine étanchéité, permettant d'éviter au liquide interstitiel de subir les fluctuations de composition du sang circulant : la BHE. En effet, les capillaires cérébraux en plus d'être constitués d'une couche de cellules endothéliales, de péricytes, d'une membrane basale commune à ces deux types cellulaires et de pieds astrocytaires (figure 7) ont la particularité de présenter des cellules endothéliales dépourvues de fenestration et d'établir entre elle des jonctions serrées complexes (*zona occludens*), évitant ainsi toute diffusion intercellulaire de molécules polaires (Edvinsson et coll., 1993g ; Stewart, 1997).



**Figure 7 :** Représentations schématiques d'un capillaire cérébral. D'après Goldstein & Betz, 1986.

Les vésicules de pinocytose étant rares au niveau de l'endothélium des capillaires cérébraux, le passage par transcytose des substances hydrophiles ou de poids moléculaire élevé est très limité (Pham et coll., 2001). Les péricytes, étroitement plaqués sur la surface externe des capillaires, recouvrent environ 20 à 25 % de cette surface. Ils participent à l'étanchéité de la BHE en phagocytant les substances ayant réussi à franchir les cellules endothéliales. Ils pourraient être également des précurseurs des cellules musculaires lisses (Stewart, 1997). Par leur haut contenu en actine, ces péricytes ont également des propriétés contractiles et pourraient moduler le diamètre des capillaires. Les pieds astrocytaires recouvrent près de 99 % de la surface externe des capillaires. Ils permettent d'assurer la communication entre les cellules nerveuses et les cellules endothéliales (Pardridge, 1997) et de participer à la modulation rapide de la perméabilité des cellules endothéliales (Abbott, 2002). Donc, seules les molécules apolaires, ayant un coefficient de liposolubilité élevé, pourront franchir relativement aisément la BHE. Quant aux molécules polaires, (comme le glucose, certains acides aminés ou encore des peptides circulants), elles ne pourront traverser cette barrière que par le biais de transporteurs spécifiques comme le transporteur GLUT1 pour le glucose (Pardridge, 1997). À cette composante physique de la BHE s'ajoute une composante enzymatique et les transporteurs d'efflux qui permettent la dégradation des substances ayant réussi à franchir la BHE ou l'élimination de certaines substances produites par le cerveau qui pourraient s'accumuler. La composition du liquide cérébral interstitiel reste donc relativement stable, assurant ainsi la protection et le maintien de conditions optimales pour le bon fonctionnement des neurones.

### 3. Le système veineux

La particularité essentielle de la circulation cérébrale tient au fait que le cerveau est contenu dans une boîte inextensible. En conséquence, toute augmentation du DSC artériel doit s'accompagner d'une augmentation du débit sanguin veineux.

Le système veineux cérébral est indépendant des artères cérébrales. Il naît dans l'ensemble des champs capillaires au voisinage des terminaisons artérielles et forme trois groupes de vaisseaux complémentaires dépourvus de valvules qui permettent le retour du sang au cœur :

- les veines cérébrales superficielles ou corticales, localisées en surface du cortex cérébral, dans la pie-mère,
- les veines profondes,
- les sinus veineux, vaisseaux incompressibles de diamètre large, à l'intérieur de la dure-mère (Sokoloff, 1997 ; Uddin et coll., 2006).

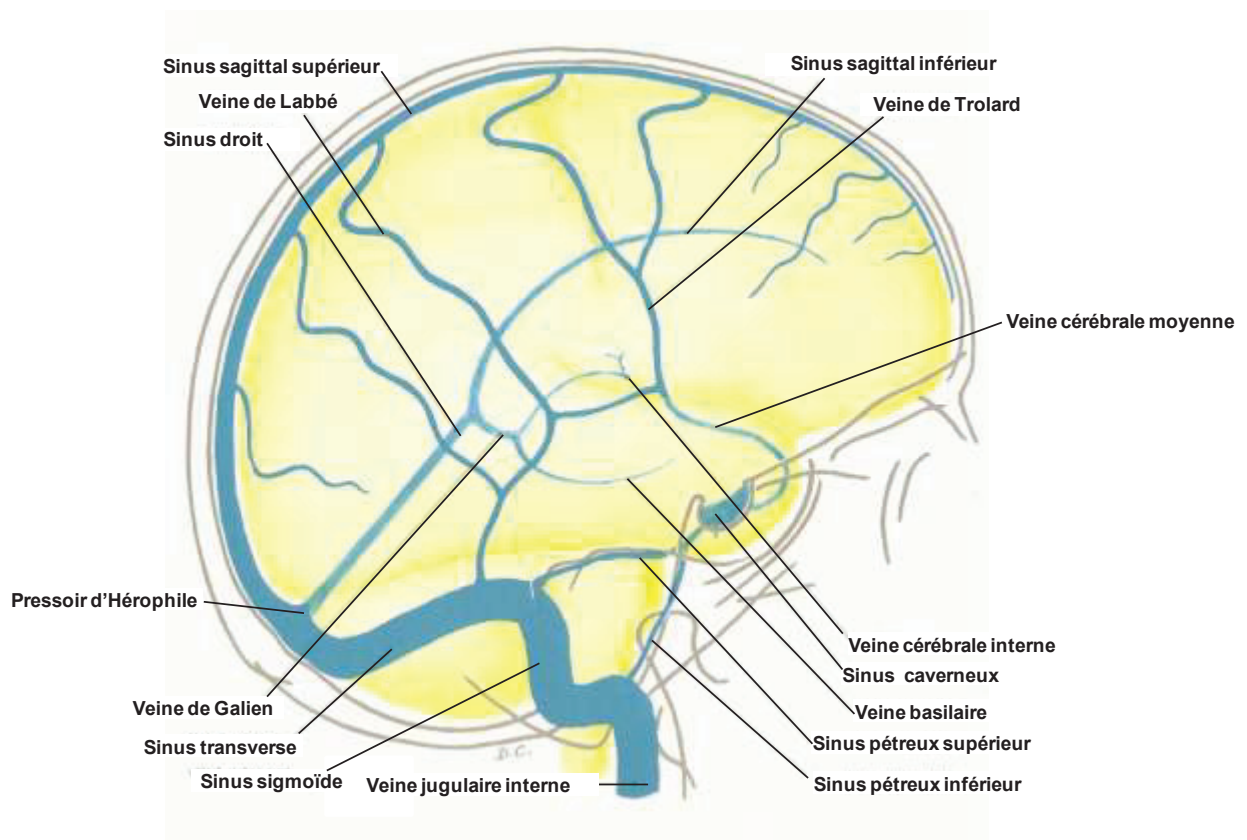
Ainsi, le cortex est drainé principalement par les veines corticales superficielles. Les veines superficielles se drainent principalement dans le sinus sagittal supérieur qui contourne le cerveau (Edvinsson et coll., 1993e ; Uddin et coll., 2006; figure 8). Les veines cérébrales moyennes (ou sylviennes) prennent naissance en surface des hémisphères cérébraux et se drainent dans le sinus caverneux et les sinus sphéno-pariétaux. Ces veines cérébrales moyennes s'anastomosent avec le sinus sagittal supérieur via les grandes veines de Trolard et avec les sinus transverses via les veines de Labbé. Le sang des lobes frontaux est drainé dans le sinus longitudinal supérieur (ou sinus sagittal supérieur) via les veines cérébrales inférieures et le sang des lobes temporaux dans les sinus transverses et les sinus pétreux supérieurs (Edvinsson et coll., 1993e ; Uddin et coll., 2006).

Les veines cérébrales profondes, drainent les structures internes du prosencéphale comme le thalamus, l'hypothalamus et le système limbique (Sokoloff, 1997). Elles se dirigent vers la partie postérieure du cerveau où elles fusionnent pour former la grande veine de Galien (figure 8). Le sang des veines cérébrales internes est collecté par le sinus sagittal inférieur.

Le sinus sagittal inférieur rejoint la grande veine de Galien pour former le sinus droit qui lui-même rejoint le sinus sagittal supérieur au niveau du confluent postérieur (ou pressoir d'Hérophile ou trocular) (Sokoloff, 1997 ; Uddin et coll., 2006 ; figure 8). De là, le sang



s'écoule dans les deux sinus transverses (droit et gauche) qui se prolongent par les sinus sigmoïdes qui vont se déverser dans les veines jugulaires internes qui passent par le trou déchiré postérieur (figure 8). Les sinus caverneux qui reçoivent le sang des artères cérébrales moyennes se jettent dans les sinus pétreux qui amènent le sang directement ou via les sinus sigmoïdes à la veine jugulaire interne (Sokoloff, 1997 ; Uddin et coll., 2006 ; figure 8).



**Figure 8** : Représentation schématique du drainage veineux du cerveau humain. D'après Lazorthes & Campan, 1965.



## **4. L'innervation cérébrovasculaire**

L'innervation cérébrovasculaire est de deux types : extrinsèque et intrinsèque. L'innervation extrinsèque correspond aux nerfs provenant du système nerveux périphérique qui innervent les vaisseaux à la base du cerveau. L'innervation intrinsèque correspond, elle, aux neurones intrinsèques provenant du système nerveux central dont les produits de sécrétion agissent dans le parenchyme cérébral.

### ***4.1. L'innervation extrinsèque***

Les fibres nerveuses des vaisseaux cérébraux ont été identifiées à l'origine par Thomas Willis à la fin du XVII<sup>ème</sup> siècle au niveau des artères cérébrales antérieures et postérieures (cité par Edvinsson et coll., 1993f). Depuis, de nombreuses investigations ont amélioré la connaissance de l'innervation des vaisseaux à la base et à la surface du cerveau à la fois chez l'Homme et l'animal, et identifié l'origine de ces nerfs périvasculaires ainsi que la nature des substances vasoactives libérées. La circulation cérébrale est innervée par trois types distincts de nerfs, les nerfs sympathiques, parasympathiques et les fibres sensibles du système trigémino-vasculaire, dont la distribution dans le lit cérébrovasculaire est hétérogène (Sato et coll., 1980 ; Sándor, 1999). Cependant, l'innervation périvasculaire extrinsèque semble être absente pour la majorité des vaisseaux intracérébraux (Goadsby & Edvinsson, 1997a).

#### **4.1.1. L'innervation sympathique**

##### ***Origine et distribution***

L'innervation sympathique à destinée cérébrale provient essentiellement du ganglion cervical supérieur (GCS) et dans une moindre mesure du ganglion stellaire (Arbab et coll., 1986 ; Christensen et coll., 1952 ; Tamamaki & Nojyo, 1987).

Les artères et, à un moindre degré, les veines reçoivent une innervation sympathique dense (Edvinsson et coll., 1993f ; Goadsby & Edvinsson, 1997a). En général, la densité de l'innervation des artères cérébrales est similaire à celle des lits vasculaires mésentérique (Nielsen & Owman, 1971) et fémoral (Rosenblum, 1976a). Une diminution progressive du nombre de fibres noradrénergiques est constatée avec la diminution de calibre des artérioles et des veines (Purdy & Bevan, 1977). Ainsi, les petites artérioles ne sont parfois

accompagnées que d'une fibre nerveuse sympathique. Les fibres nerveuses peuvent parfois accompagner le vaisseau sur une courte distance lorsqu'il entre dans le tissu cérébral (Goadsby & Edvinsson, 1997a).

Il est démontré que les vaisseaux du territoire carotidien sont innervés par des fibres post-ganglionnaires en provenance du GCS alors que le territoire vertébro-basilaire est quant à lui principalement innervé par des fibres provenant du ganglion stellaire (Hedger & Webber, 1976 ; Arbab et coll., 1986). Certaines fibres du ganglion stellaire suivent les artères carotides communes et internes et pourraient innover la partie rostrale du polygone de Willis (Sándor, 1999). De plus, il faut remarquer que dans de nombreuses espèces, notamment l'Homme et le rat, le territoire carotidien est le plus innervé (Edvinsson et coll., 1993f).

Il est admis dans la littérature que l'innervation sympathique est globalement ipsilatérale (Goadsby & Edvinsson, 1997a). Arbab et ses collaborateurs (1986) ont montré chez le rat par marquage rétrograde et antérograde que les fibres adrénériques en provenance du GCS innervent de manière rigoureusement ipsilatérale la carotide interne et l'artère cérébrale moyenne. Cependant, cette étude a également démontré la présence de quelques fibres controlatérales innervant les artères cérébrales communicantes antérieures et postérieures et l'artère basilaire. Des études réalisées chez le chat (Nielson & Owman, 1967) et le lapin (Peerless & Yarsargil, 1971) ont également montré une innervation sympathique majoritairement ipsilatérale. Chez le chien, Sato et ses collaborateurs (1980) ont montré que la distribution des fibres adrénériques en provenance du GCS est bilatérale au niveau de l'artère communicante antérieure, de l'artère basilaire et de l'artère vertébrale, mais ipsilatérale au niveau de l'artère cérébrale antérieure, de l'artère cérébrale moyenne, de l'artère communicante postérieure et de l'artère cérébrale postérieure.

### ***Neurotransmetteurs***

Les principaux neurotransmetteurs de l'innervation sympathique à destinée cérébrale sont la noradrénaline, le neuropeptide Y (Sándor, 1999 ; Hamel, 2006).

En ce qui concerne les récepteurs  $\alpha$ -adrénériques, il existe d'importantes différences inter-espèces dans leur distribution (Bevan et coll., 1987 ; Edvinsson et coll., 1993a). Par exemple, tandis que les artères et artérioles humaines, de mouton, de rat, de lapin et de primates possèdent majoritairement des récepteurs  $\alpha_1$ -adrénériques, les artères de chien et de chat portent plutôt des récepteurs  $\alpha_2$ -adrénériques (Goadsby & Edvinsson, 1997a ; Sándor, 1999). Une exception notable sont les artères de porc qui ne possèdent pas de

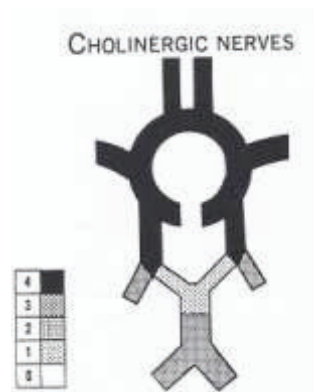
récepteurs  $\alpha$ -adrénergiques. Dans cette espèce, la noradrénaline provoque donc des vasodilatations via la stimulation des récepteurs  $\beta$ -adrénergiques (Bevan et coll., 1987 ; Goadsby & Edvinsson, 1997a). Il faut noter que les vaisseaux cérébraux de tous les mammifères portent des récepteurs  $\beta$ -adrénergiques (Goadsby & Edvinsson, 1997a).

#### 4.1.2. L'innervation parasympathique

##### *Origine et distribution*

Les fibres extrinsèques parasympathiques proviennent principalement des ganglions otique et sphéno-palatin (Goadsby & Edvinsson, 1997b ; Sándor, 1999). Les fibres nerveuses provenant du ganglion sphéno-palatin innervent le polygone de Willis et ses branches, celles en provenance du ganglion otique suivent le trajet de l'artère carotide interne pour se distribuer aux vaisseaux de la base du cerveau (Sándor, 1999).

Ces nerfs parasympathiques contiennent des marqueurs cholinergiques, comme l'acétylcholine transférase (Edvinsson et coll., 1993f ; Goadsby & Edvinsson, 1997b), c'est pourquoi on qualifie ces fibres de « cholinergiques ». La distribution (figure 9) et la densité des nerfs cholinergiques qui innervent les artères piales est semblable à celle de l'organisation connue de l'innervation adrénérge (Edvinsson et coll., 1993f).



**Figure 9 :** Représentation schématique de la distribution des nerfs cholinergiques à partir d'une classification de 5 niveaux arbitraires de densité, le niveau 4 correspondant à la densité la plus forte. D'après Edvinsson et coll., 1993f.

## ***Neurotransmetteurs***

Ces nerfs parasympathiques contiennent quatre « neurotransmetteurs » : l'acétylcholine (Ach), le peptide vasoactif intestinal (VIP), le peptide histidine isoleucine / méthionine et le monoxyde d'azote (NO). Ces substances ont toutes une action vasodilatatrice potentielle sur les vaisseaux cérébraux (Edvinsson et coll., 1993f ; Goadsby & Edvinsson, 1997b).

### **4.1.3. Le système trigémino-vasculaire**

#### ***Origine et distribution***

Cette innervation fournit l'unique information sensorielle aux vaisseaux cérébraux. Les fibres trigémino-vasculaires proviennent de la première division (ophtalmique) du ganglion trigéminal (ganglion de Gasser) (Goadsby & Edvinsson, 1997c ; Sándor, 1999). Les fibres amyéliniques de ce système innervent ipsilatéralement la partie distale de la carotide interne, le polygone de Willis et les artérioles piales (Goadsby & Edvinsson, 1997c ; Sándor, 1999), et innervent moins densément les artères basilaires (Goadsby & Edvinsson, 1997c) et la matière grise (thalamus, noyau caudé) (Sándor, 1999).

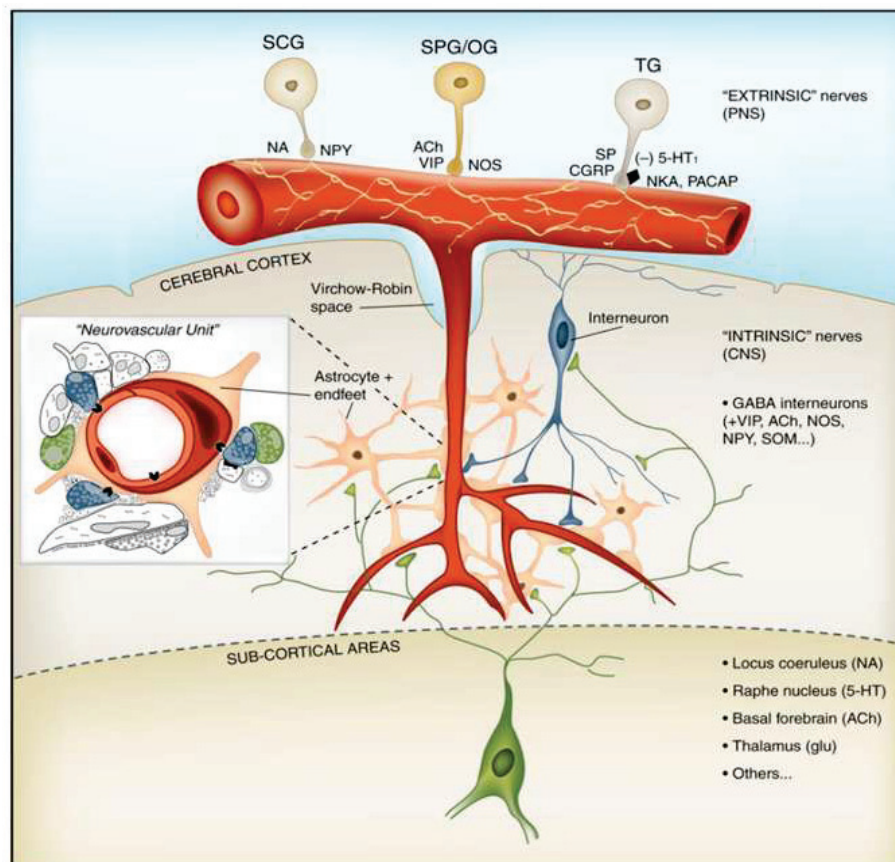
Ce système a été identifié comme la voie afférente majeure de la douleur provenant des vaisseaux et de la dure-mère.

#### ***Neurotransmetteurs***

Quatre transmetteurs, la substance P, le « calcitonin gene-related peptide » (CGRP), la neurokinine A et la cholécystokinine ont été identifiés dans les neurones du système trigéminal. Ces neuropeptides par leur fort pouvoir dilatateur (Goadsby & Edvinsson, 1997c) peuvent modifier le tonus des vaisseaux de résistance cérébraux à la fois au niveau des noyaux relais le long des voies sensorielles et dans certaines régions corticales (Sándor, 1999).

## 4.2. L'innervation intrinsèque

Immédiatement après leur entrée dans le parenchyme cérébral, les artères cérébrales perdent la quasi-totalité de leur innervation périphérique extrinsèque. À côté de cette innervation extrinsèque, il a été montré l'existence de systèmes neuronaux intrinsèques noradrénergique, sérotoninergique, cholinergique, glutaminergique et dopaminergique, qui proviennent de noyaux du système nerveux central et projettent sur les vaisseaux corticaux et les astrocytes les entourant (Sándor, 1999 ; Dupui & Géraud, 2006 ; Hamel, 2006 ; figure 10).

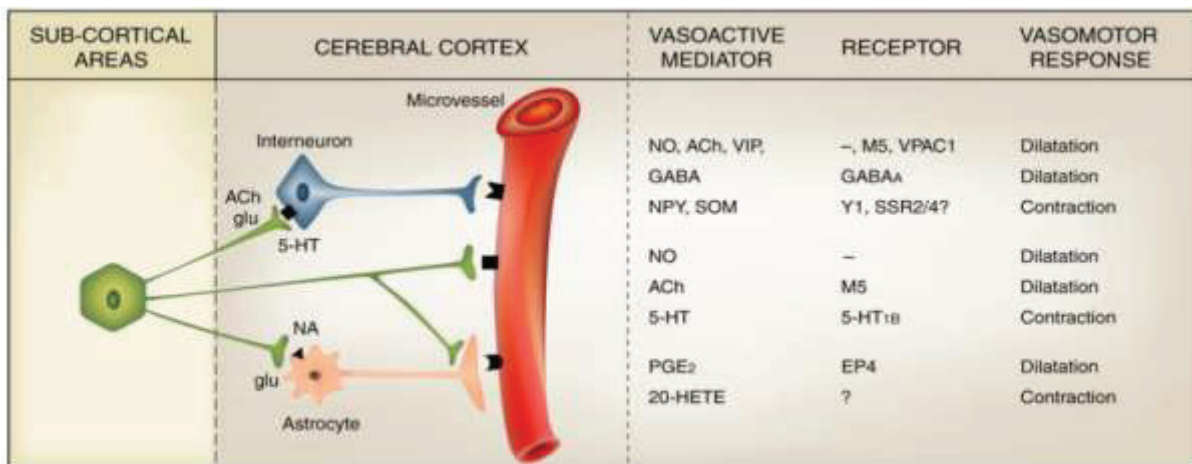


**Figure 10 :** Représentation schématique des innervations cérébrovasculaires extrinsèque et intrinsèque. Les nerfs extrinsèques qui innervent les vaisseaux cérébraux à la surface du cerveau proviennent du système nerveux périphérique (PNS) via le ganglion cervical supérieur (SCG), le ganglion otique (OG) et le ganglion trigéminal (TG). Les vaisseaux localisés dans le parenchyme cérébral sont innervés par des neurones intrinsèques provenant du système nerveux central (CNS). Insert : représentation schématique de « l'unité neurovasculaire ». Ach, Acétylcholine ; CGRP, calcitonin gene related peptide ; GABA,  $\gamma$ -aminobutyric acid ; NA, noradrénaline ; NKA, neurokinine A ; NOS, nitric oxide synthase ; NPY, neuropeptide Y ; SOM, somatostatine ; SP, substance P ; VIP, vasoactive intestinal peptide ; 5-HT, sérotonine. D'après Hamel, 2006.

Cette innervation intrinsèque a pour origine le locus cœruleus (Hartman, 1972 ; Edvinsson et coll., 1993f ; Sándor, 1999 ; Hamel, 2006), la formation réticulée dorsale (Sándor, 1999 ; Hamel, 2006), le raphé médian (Edvinsson et coll., 1993f ; Sándor, 1999 ; Hamel, 2006), le noyau fastigial du cervelet (Sándor, 1999), le noyau basal de Meynert (Dupui & Géraud, 2006 ; Hamel, 2006) et le thalamus (Hamel, 2006).

Des récepteurs spécifiques des substances vasoactives, telles que la noradrénaline, la sérotonine, l'acétylcholine ou encore le glutamate, sont présents sur l'endothélium et/ou les cellules musculaires lisses des vaisseaux corticaux et les astrocytes entourant ces vaisseaux (Hamel, 2006).

Un rôle des inter-neurones (figure 11) dans la régulation du tonus cérébrovasculaire a été proposé dans les cortex cérébral et cérébelleux.



**Figure 11** : Résumé de la régulation du tonus des vaisseaux corticaux par des neurones de l'aire sub-corticale et du cortex cérébral. D'après Hamel, 2006.

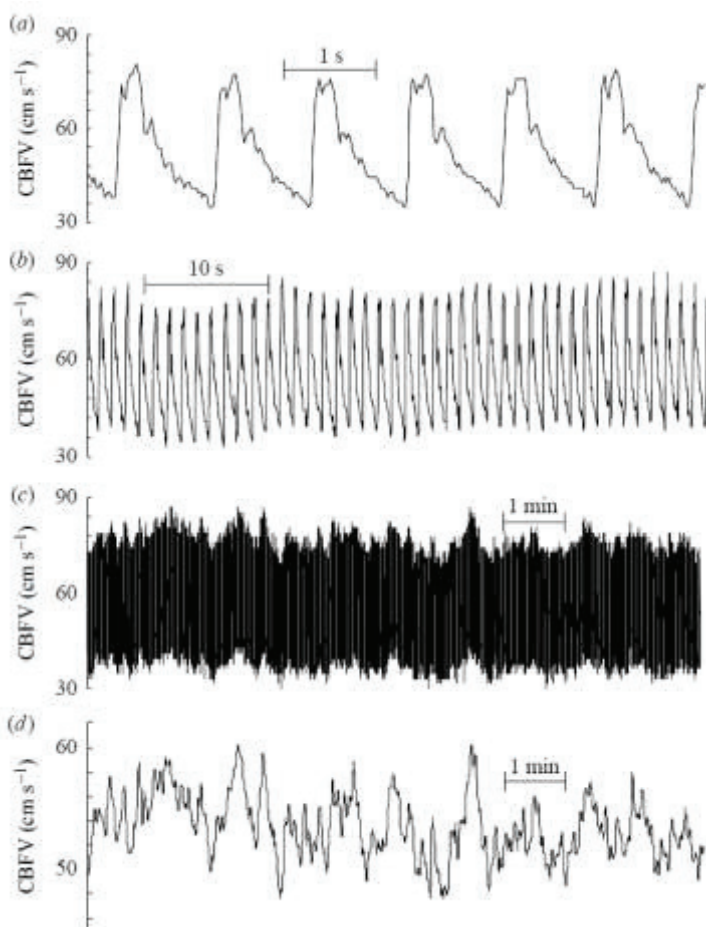




## CHAPITRE - II

### RÉGULATION DU DÉBIT SANGUIN CÉRÉBRAL

Le DSC présente une variabilité propre. La figure 12 illustre cette variabilité (plus précisément de la vitesse du flux sanguin cérébral mesurée par Doppler transcrânien (voir chap. IV, 2.3. p. 76), chez un sujet sain (Panerai, 2009). Ainsi, pour chaque cycle cardiaque, le DSC a un comportement répétitif reconnaissable qui peut néanmoins différer d'un cycle à l'autre (figure 12a). Lorsque l'on étudie ce même signal sur une échelle temporelle plus longue (figure 12b), la caractéristique périodique rapide est conservée et on peut distinguer une variabilité périodique plus lente. Sur une échelle de temps encore plus longue, des variations lentes sont bien visibles (figure 12c,d).



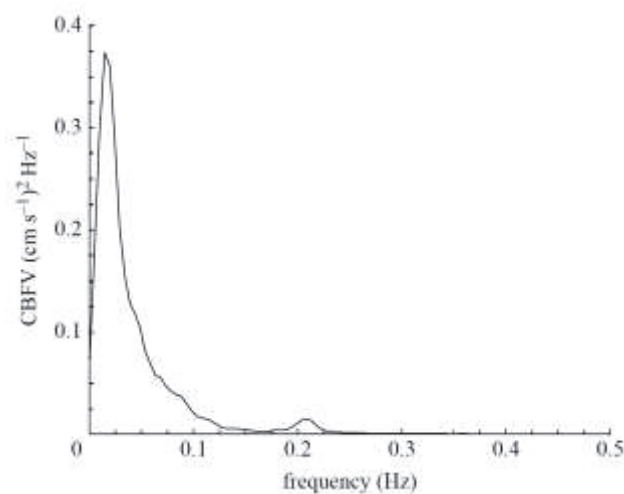
**Figure 12 :** Exemple d'enregistrement du flux sanguin cérébral (CBFV) par Doppler transcrânien chez un sujet sain à différentes échelles de temps. La pulsativité synchrone du battement cardiaque est visible en a et b. Le tracé en (d) présente les mêmes données que celui en (c) mais après moyennage du CBFV battement par battement. D'après Panerai, 2009.



La variabilité du DSC peut être décrite par des méthodes temporelles ou fréquentielles :

- Dans le domaine temporel, la méthode la plus simple est le calcul du coefficient de variation (CV) qui correspond à l'écart type des données divisé par la valeur moyenne. Globalement, chez l'Homme, les CV, après rééchantillonnage à la fréquence de 1Hz, rapportés sont compris entre 5 et 8 % pour des périodes de 10 minutes (Mitsis, 2006 ; Soehle et coll., 2008). Chez le lapin, il a été montré que la variabilité du débit sanguin dans l'artère carotide interne, calculée par le CV sur 1 heure, est d'environ 30% (Yu & Blessing, 1997). Dans cette étude, ce CV de 30 % n'était pas significativement différent de celui du débit dans l'aorte distale (environ 10%), mais très inférieur à celui de l'artère de l'oreille (environ 60%).

- La variabilité du DSC peut également être explorée par des méthodes fréquentielles afin de caractériser la cinétique des fluctuations. Comme le calcul du CV, l'analyse spectrale est également dépendante de la fenêtre temporelle choisie (Panerai, 2009). La figure 13 montre l'analyse spectrale réalisée à partir de la figure 12d. Dans ce cas, l'influence du cycle cardiaque qui produit une variabilité rapide est supprimée par le moyennage battement par battement du DSC suivi par une interpolation et un rééchantillonnage à des fréquences supérieures à 1Hz. La densité spectrale de puissance du DSC calculée chez l'Homme montre un pic situé entre 0,05 et 0,15 Hz suivi d'une diminution rapide (figure 13). Le petit pic observé autour de 0,2 Hz correspond à la fréquence respiratoire. On constate que la densité spectrale de puissance est faible au-delà de 0,25 Hz. La majorité des études de variabilité du DSC ont ignoré cette variabilité rapide dans l'interprétation de leurs résultats (Zhang et coll., 1998, 2000 ; Panerai, 2009).



**Figure 13** : Représentation de la densité spectrale de puissance calculée à partir de la vitesse du flux sanguin cérébral présenté dans la figure 12d. D'après Panerai, 2009.

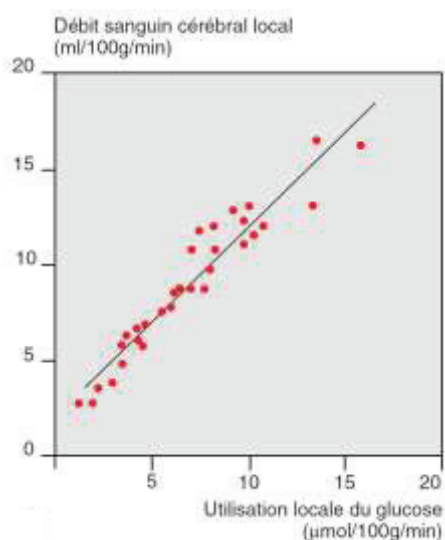
Il faut noter que la complexité du signal de DSC peut également être analysée par des méthodes fractales (Panerai, 2009) que je ne détaillerai pas dans ce document.

La suite de ce chapitre présentera les différents mécanismes connus de régulation du débit sanguin cérébral.

## 1. Régulation métabolique

La circulation cérébrale, comme celle de nombreux autres lits vasculaires (coronaire, mésentérique, musculaire squelettique), mais à l'inverse de certains autres (rénal et cutané), est caractérisée par un couplage entre les variations de la demande métabolique et le débit sanguin (Iadecola, 1993 ; Dupui & Géraud, 2006). En effet, une augmentation de l'activité neuronale augmente les besoins métaboliques locaux. Le débit sanguin régional augmente afin de pourvoir à ces besoins (figure 14). Cette hypothèse métabolique de la régulation du DSC implique aussi que les réductions locales du DSC stimulent la libération de substances vasoactives qui en retour permettent la dilatation des artères cérébrales de cette région du cerveau (Chillon & Baumbach, 1997). Le couplage débit – métabolisme cérébral intervient très rapidement, dès la première seconde de l'activation fonctionnelle (Schmidt, 1936).

L'hypothèse que les neurones actifs libèrent des substances vasodilatatrices dans le milieu extracellulaire explique aisément la réponse vasculaire locale. Plusieurs espèces chimiques ont été proposées comme médiateur potentiel de ce couplage entre le débit sanguin et l'activité neuronale : le dioxyde de carbone ( $\text{CO}_2$ ), les protons ( $\text{H}^+$ ), le dioxygène ( $\text{O}_2$ ), les ions potassiques ( $\text{K}^+$ ), les ions calciques ( $\text{Ca}^{2+}$ ) ou encore l'adénosine (Kuschinsky & Wahl, 1978).



**Figure 14 :** Couplage entre le métabolisme et le débit sanguin dans le cerveau de rat. Chaque point représente les valeurs d'une région cérébrale. D'après Dupui & Géraud, 2006.

Cependant, ce concept évolue depuis quelques années au profit d'une nouvelle explication. En effet, un rôle majeur des astrocytes dans le contrôle local du DSC a été mis en évidence (Attwell et coll., 2010).

## **2. Autorégulation du débit sanguin cérébral**

On peut définir l'autorégulation du DSC comme étant la capacité intrinsèque de la circulation cérébrale à maintenir son débit sanguin relativement constant face à des variations aiguës de la pression de perfusion cérébrale (Lassen, 1959) Ce mécanisme protège le cerveau contre l'hypoxie aux niveaux bas de pression de perfusion et des risques d'œdème aux niveaux élevés de pression de perfusion (Chillon et Baumbach, 1997 ; Edvinsson et coll., 1993c).

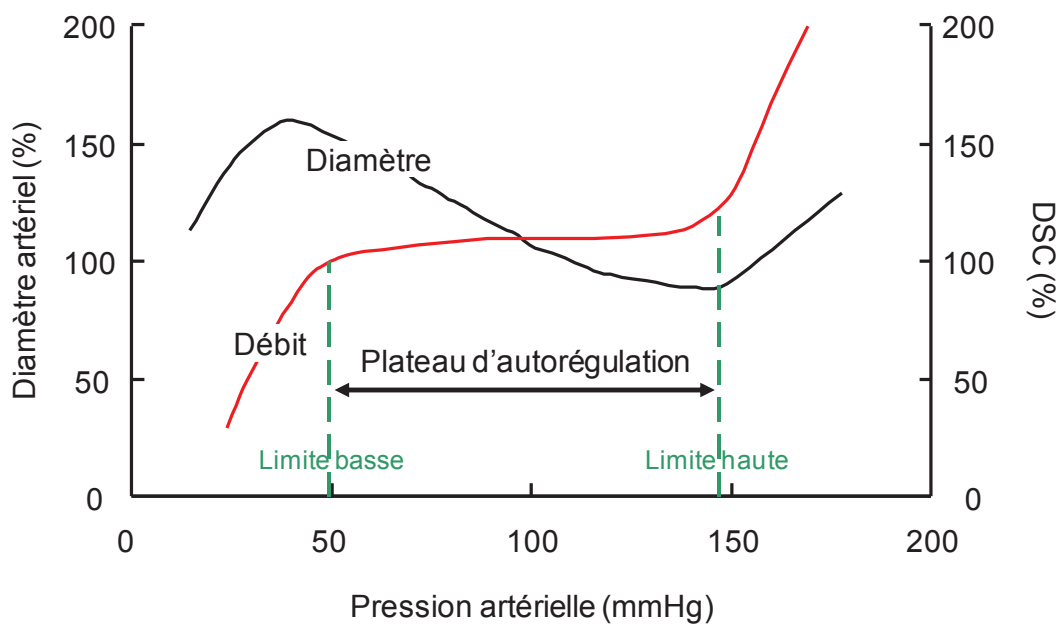
La courbe d'autorégulation du DSC (figure 15) se construit généralement en représentant le DSC (ou ses variations) en fonction de la PA moyenne (courbe rouge).

Le plateau d'autorégulation est délimité par deux bornes : la limite basse et la limite haute de l'autorégulation du DSC.

La limite basse de l'autorégulation du DSC représente la valeur de PA en deçà de laquelle le DSC diminue avec la pression (figure 15 ; Chillon & Baumbach, 1997). Dans les conditions normales, la valeur de la limite basse de l'autorégulation du DSC se situe généralement autour de à 60 mmHg chez l'Homme comme chez l'animal normotendu (Paulson et coll., 1990 ; Lartaud et coll., 1993).

La limite haute de l'autorégulation du DSC est définie comme étant la valeur de PA au-delà de laquelle le DSC augmente avec la pression (figure 15). La limite haute de l'autorégulation du DSC se situe autour de 160 mmHg chez les sujets normotendus, pour l'Homme aussi bien que pour l'animal (Strangaard et coll., 1973 ; Paulson et coll., 1990). Lorsque la limite haute est dépassée, l'augmentation du DSC peut conduire à détériorer la BHE (Rapoport, 1976 ; Paulson et coll., 1990).

Cependant, il est important de noter que ni la limite basse ni la limite haute de l'autorégulation cérébrale ne sont des valeurs fixes. En effet, ces deux limites peuvent être modifiées par une multitude de facteurs intrinsèques et extrinsèques comme l'activité nerveuse sympathique (ANS), la pression partielle de CO<sub>2</sub>, l'hypertension chronique (Edvinsson et coll., 1993c).



**Figure 15** : Courbe d'autorégulation du débit sanguin cérébral (courbe rouge) et évolution du diamètre des artères cérébrales (courbe noire) chez un individu jeune normotendu. DSC : débit sanguin cérébral. Les valeurs de débit et de diamètre sont exprimées en pourcentage de la valeur de base. D'après Chillon & Baumbach, 1997.

L'autorégulation du DSC peut être abordée de deux manières : statique et dynamique. L'approche statique de l'autorégulation cérébrale, qui a été la plus couramment pratiquée, consiste à étudier les variations de DSC au cours de variations induites, stables de la pression de perfusion cérébrale (Paulson et coll., 1990), tandis que l'approche dynamique de l'autorégulation tient compte de la cinétique des variations de PA, induites ou spontanées (Zhang et coll., 2002 ; Kolb et coll., 2007).

Le mécanisme principal de l'autorégulation du DSC est la réponse myogénique. La réponse myogénique est la propriété qu'ont les vaisseaux de résistance de modifier leur calibre en réponse aux changements de pression transmurale (différence entre la pression intra et extravasculaire) induits par des modifications de PA (Schubert & Mulvany, 1999).

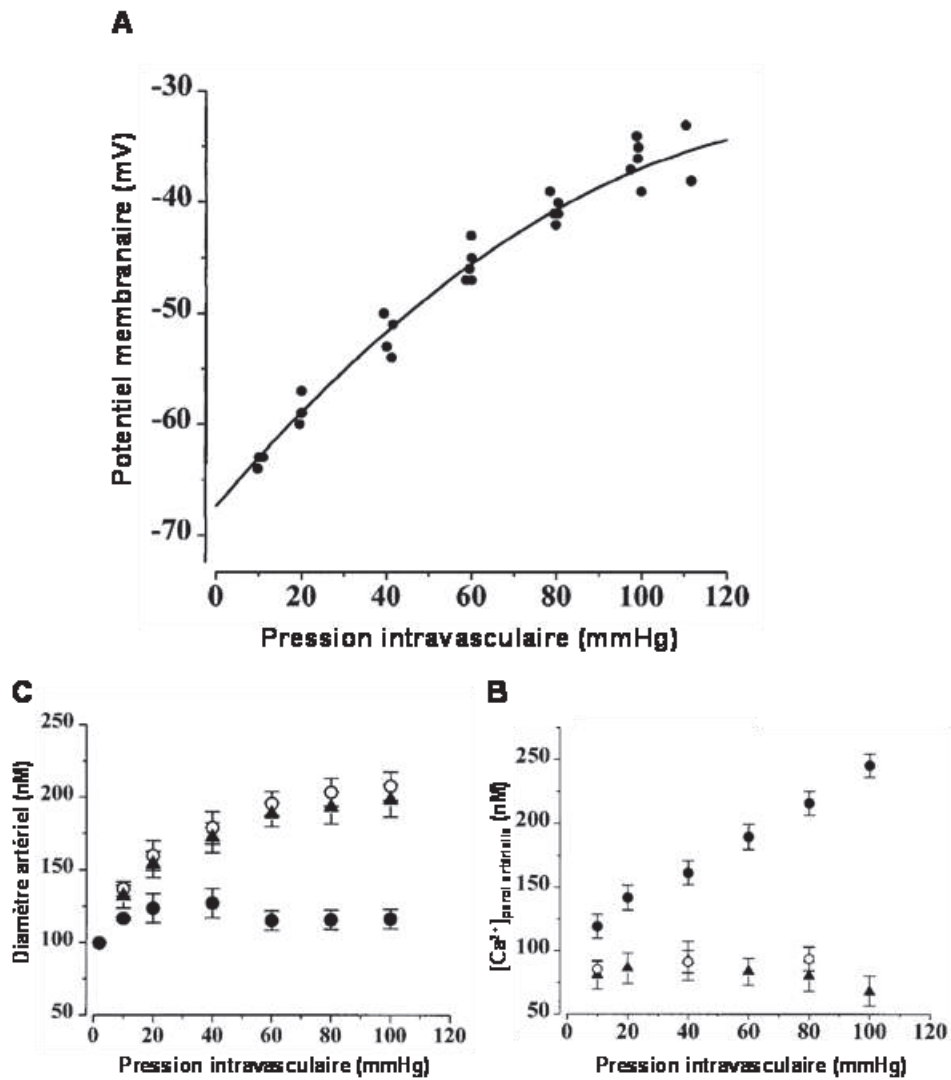
La réponse myogénique, initialement décrite par Bayliss en 1902, est caractérisée par une diminution du diamètre du vaisseau (vasoconstriction) en réponse à une augmentation de la pression transmurale et par une augmentation du diamètre de ce vaisseau (vasodilatation) en réponse à une diminution de la pression transmurale.

La réponse myogénique a été décrite dans différentes artères cérébrales, notamment les artères cérébrales moyennes de chat (Harder, 1987) et de veau (Vinall & Simeone, 1981), les artères piales humaines (Wallis et coll., 1996), les artères cérébrales postérieures (Osol & Halpern, 1985) et les artérioles pénétrantes du territoire de l'artère cérébrale moyenne (Dacey & Duling, 1982 ; Ngai & Winn, 1995) chez le rat.

Il a été montré que l'augmentation de la pression intravasculaire induit une dépolarisation de la membrane des cellules musculaires lisses vasculaires (figure 16) (Knot & Nelson, 1998 ; Wellman & Nelson, 2002). Cette augmentation du potentiel de membrane des cellules musculaires lisses vasculaires s'accompagne d'une augmentation de la concentration calcique intracellulaire qui semble largement secondaire à l'ouverture de canaux calciques voltage-dépendants (Knot & Nelson, 1998 ; Hill et coll., 2001 ; Mufti et coll., 2010). Cette augmentation du calcium intracellulaire induit alors la contraction musculaire. Cependant, le mécanisme exact à l'origine de la dépolarisation des cellules musculaires lisses vasculaires est encore débattu (Schubert & Mulvany, 1999 ; Harder et coll., 2011).

La réponse myogénique des artères cérébrales de résistance est initiée en quelques secondes après un changement de pression transmurale et est complète en 15 à 30 secondes (Kontos et coll., 1978 ; Chillon & Baumbach, 1997).

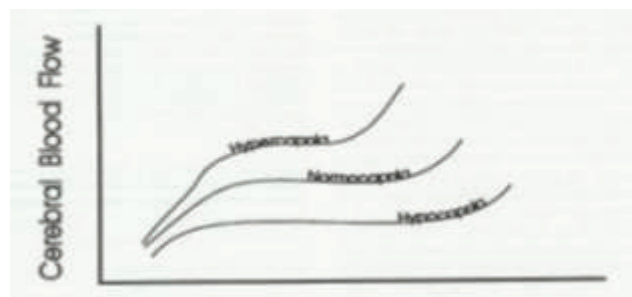
Il convient enfin de noter que la réponse myogénique génère un tonus vasoconstricteur de base indispensable à l'action d'autres facteurs (métaboliques ou neurogènes) impliqués dans les réponses autorégulatrices (Osol et Halpern, 1985 ; Hill et coll., 2001).



**Figure 16** : Relation entre la pression intravasculaire et le potentiel membranaire dans des segments d'artères cérébrales postérieures distales isolées de rat (A). Relation entre la pression intravasculaire et la concentration calcique de la paroi artérielle (B). Relation entre la pression intravasculaire et le diamètre des artères cérébrales postérieures (C). ● solution extracellulaire contrôlée ; ▲ solution extracellulaire contenant de la nisoldipine, un bloqueur des canaux calciques voltage-dépendants ; ○ solution extracellulaire dépourvue de calcium. Le rôle majeur de l'influx calcique via des canaux voltage-dépendants est démontré par la suppression de l'augmentation de la concentration calcique de la paroi artérielle et par l'absence de constriction en présence de nisoldipine, ainsi qu'en l'absence de calcium dans la solution extracellulaire. D'après Knot et Nelson, 1998.

### 3. Modulation par la pression partielle de dioxyde de carbone (PaCO<sub>2</sub>)

La pression partielle de CO<sub>2</sub> est l'un des plus puissants modulateurs physiologiques du DSC. L'hypercapnie induit une vasodilatation, l'hypocapnie induit une vasoconstriction. Ainsi, l'hypercapnie et l'hypocapnie sont susceptibles de moduler l'autorégulation cérébrale, (Edvinsson et coll., 1993c ; figure 17).



*Figure 17 : Effet des variations de PaCO<sub>2</sub> sur le DSC. D'après Edvinsson et coll., 1993c.*

Différents mécanismes d'action du CO<sub>2</sub> ont été proposés.

- Les variations du pH pourraient jouer un rôle important puisque le CO<sub>2</sub> acidifie le fluide périvasculaire (Kontos, 1977a, b ; Edvinsson et coll., 1993d ; Traystman, 1997).
- Les prostaglandines pourraient jouer un rôle important dans certaines espèces. En effet, les prostanoïdes vasodilatateurs sont importants dans la vasodilatation due à l'hypercapnie dans certaines espèces (gerbille, rat et babouin), mais pas dans d'autres (lapin et chat) (Traystman, 1997). Il pourrait y avoir une interaction entre le système des prostanoïdes et la production de NO, la prostacycline facilitant la libération de NO. Donc, dans les espèces où les prostanoïdes agissent comme médiateurs de la réponse vasodilatatrice à l'hypercapnie, il a été montré que l'inhibition de la synthèse de NO pourrait diminuer la réponse vasodilatatrice à l'hypercapnie (Wang et coll., 1992 ; Traystman, 1997 ; Ray et coll., 2002).

## 4. Régulation par le système nerveux

Les physiologistes ont été très enthousiasmés par les preuves histologiques de l'innervation sympathique des vaisseaux cérébraux (voir chap. I, 4.1. p. 24). Il était évident lors de leur découverte que ces nerfs devaient moduler le tonus cérébrovasculaire.

### 4.1. Rôle du système nerveux sympathique

Les résultats des recherches menées sur le rôle du système nerveux sympathique dans la régulation de la circulation cérébrale ont conduit à une controverse sur le sujet depuis plus d'un siècle (Heistad et Marcus, 1978 ; Purves, 1978 ; McCalden, 1981 ; Sándor, 1999). Ce sujet a d'ailleurs encore fait récemment l'objet d'un débat contradictoire dans le "*Journal of Applied Physiology*" (Ainslie, 2008 ; Edvinsson L, 2008 ; Immink & Passier, 2008 ; Levine & Zhang, 2008 ; van Lieshout & Secher, 2008a ; Ogoh S, 2008 ; Prakash, 2008 ; Strandgaard & Sigurdsson, 2008 ; Visocchi, 2008), même si le nombre de publications sur le sujet a diminué au cours des années 1980-1990. La revue de la littérature qui suit présente les résultats, contradictoires ou non, des différentes investigations menées chez l'animal et chez l'Homme.

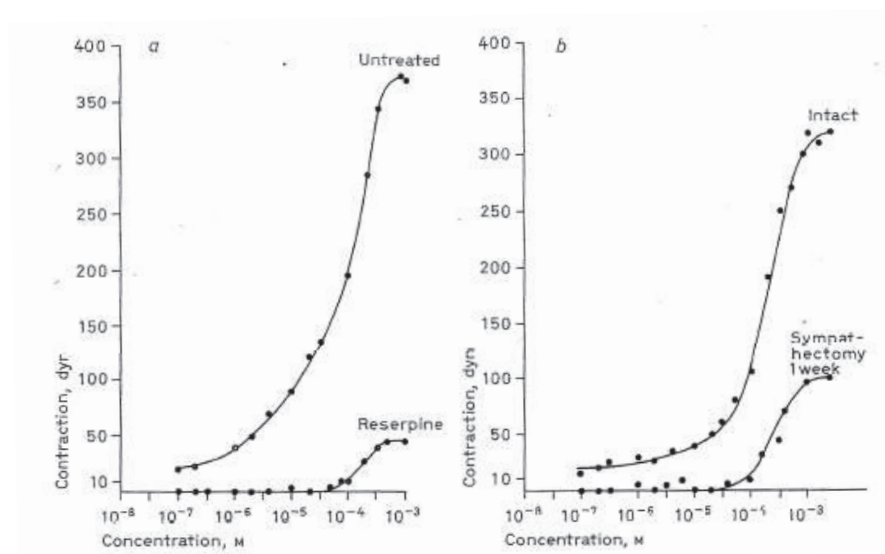
#### 4.1.1. Stimulations pharmacologiques

L'une des premières approches expérimentales pour aborder le rôle de l'innervation sympathique dans le contrôle de l'hémodynamique cérébrale a été celle de la stimulation pharmacologique des récepteurs adrénergiques *in vitro*, *in situ* puis *in vivo*.

*In vitro*, les artères cérébrales moyennes de lapin (Uchida et coll., 1967), de chat (Edvinsson & Owman, 1974) et de chèvre (Urquilla et coll., 1975), les artères cérébrales moyennes et postérieures humaines (Toda & Fujita, 1973 ; Shibota et coll., 1977) et de chien (Toda & Fujita, 1973), ainsi que les artères basilaires humaines (Toda & Fujita, 1973) et de lapin (Duckles & Bevan, 1976) répondent par une vasoconstriction à l'application de noradrénaline. Cependant, toutes les études où une comparaison entre vaisseaux cérébraux et vaisseaux périphériques a été effectuée ont mis en évidence un seuil de réponse à la noradrénaline des artères cérébrales plus élevé que celui des artères périphériques, alors



même que la sensibilité à des stimuli non spécifiques comme le KCl était similaire (Uchida et coll., 1967 ; Toda & Fujita, 1973, Hayashi et coll., 1980). Il a été montré que les effets vasoconstricteurs de la noradrénaline pouvaient être réduits par l'application d'antagonistes  $\alpha$ -adrénergiques comme la phentolamine ou la phénoxybenzamine (Edvinsson & Owman, 1974 ; Urquilla et coll., 1975 ; Duckles & Bevan, 1976). Les récepteurs  $\alpha$ -adrénergiques sont donc impliqués dans la constriction des artères cérébrales à la noradrénaline. De plus, il a été mis en évidence *in vitro* en l'absence d'endothélium, qu'au niveau des artérioles cérébrales de lapin et de chat, la noradrénaline a un effet vasodilatateur médié par le NO qui contrebalance son effet vasoconstricteur propre (Sercombe et coll., 1985). Il a également été montré que la tyramine (sympathomimétique indirect qui provoque la libération de la noradrénaline endogène) induit une vasoconstriction des artères cérébrales moyennes de chat *in vitro*. Cette constriction induite par la tyramine provient bien d'une action de la noradrénaline endogène puisque la déplétion du contenu en noradrénaline des nerfs périvasculaires par la réserpine ou une sympathectomie réalisée une semaine avant le sacrifice de l'animal réduit beaucoup la constriction de l'artère (Owman et coll., 1974, figure 18).



**Figure 18 :** Exemples de courbes dose-réponse montrant la contraction induite par des doses cumulatives de tyramine de l'artère cérébrale moyenne de chat *in vitro*. L'effet de la tyramine est significativement réduit par le prétraitement par la réserpine (a) ou par la sympathectomie par exérèse d'un GCS une semaine avant l'étude (b). D'après Owman et coll., 1974.

À *contrario*, une étude a montré chez le chien, qu'un prétraitement par la réserpine ne diminuait pas la réponse constrictrice à la tyramine des artères cérébrales postérieures et communicantes postérieures (Hayashi et coll., 1980). Les auteurs suggèrent que la réponse contractile à la tyramine est un effet propre de cette molécule et n'est pas due à une action indirecte de la noradrénaline.

L'étude de la réponse des artères piales à l'application locale de noradrénaline a montré une légère constriction de ces artères chez le chat (Kuschinsky & Wahl, 1975 ; Wei et coll., 1975 ; Crawford et coll., 1980) et la souris (Rosenblum, 1976b). À *contrario*, l'étude de Raper et coll. (1972) n'a montré aucune réponse des artérioles piales de chat, de chien et de lapin à l'application locale de noradrénaline ou d'isoprénaline. Cependant, l'étude de Wei et coll. (1975) chez le chat a montré que seules les artères piales dont le diamètre est supérieur à 100  $\mu\text{m}$  répondent à l'application de noradrénaline. Rosenblum (1976b) a également montré chez la souris que les réponses des artères piales à l'application de noradrénaline étaient significativement plus fréquentes pour les artères de calibre supérieur à 30  $\mu\text{m}$  que pour les plus petites artères. Il a été confirmé que la réponse vasoconstrictrice à la noradrénaline des artères piales était  $\alpha$ -adrénergique puisqu'elle était bloquée par la phentolamine chez le chat (Kushinsky & Wahl, 1975) et la souris (Rosenblum, 1976b). Busija & Leffler (1987) ont montré par ailleurs que la noradrénaline appliquée *in situ* constrict les artères piales de porcelet via des récepteurs  $\alpha_2$ -adrénergiques.

Différentes expériences comportant des administrations *in vivo* (intra-artérielles ou intraveineuses) de catécholamines ont fourni des résultats contradictoires mais globalement peu en faveur d'un rôle important de l'innervation sympathique dans le contrôle de l'hémodynamique cérébrale. Par exemple, une revue de la littérature réalisée par Edvinsson et MacKenzie (1976) sur les effets de l'administration systémique de noradrénaline et d'adrénaline, a montré que dans la majorité des études, les catécholamines ne produisent qu'une réduction mineure du DSC dans les conditions de normocapnie. Cependant, la présence de la BHE peut facilement expliquer cette faible réactivité de la circulation cérébrale aux catécholamines systémiques (Edvinsson et coll., 1993a). Une autre revue de la littérature réalisée par Sándor (1999) synthétise les résultats de l'injection intra-vasculaire (intra-artérielle ou intraveineuse) de catécholamines. Elle montre bien l'hétérogénéité des réponses observées : certaines études ont montré une augmentation de la perfusion cérébrale chez le singe et l'agneau (Purves & James, 1969 ; MacKenzie et coll., 1976), d'autres n'ont montré aucun changement du débit chez l'Homme (Olesen, 1972 ; Moppett et coll., 2008) et le rat (Harper et coll., 1984 ; Tuor et coll., 1986), mais le résultat le plus fréquent a été une légère diminution de la perfusion cérébrale notamment chez l'Homme, la

chèvre et le chien (King et coll., 1952 ; Lluch et coll., 1973 ; Zimmer et coll., 1974 ; Brassard et coll., 2009).

En conclusion, les études pharmacologiques *in vitro* révèlent que les vaisseaux cérébraux vasoconstrictent via les récepteurs  $\alpha$ -adrénergiques en réponse à la noradrénaline endogène et exogène dans différentes espèces de mammifères. Cette réponse est cependant moins marquée dans la circulation cérébrale que dans d'autres circulations. Les études *in situ*, montrent que seules les artères cérébrales de « gros calibre » répondent à ces stimulations pharmacologiques. Enfin, *in vivo*, la circulation cérébrale ne présente qu'une faible réactivité aux catécholamines systémiques qui pourrait s'expliquer par la présence de la BHE.

### ***Stimulations transmursales in vitro***

La stimulation transmurale des nerfs des artères cérébrales *in vitro* produit une excitation des nerfs périvasculaires présents sur l'artère. De nombreux auteurs ont montré à l'aide de cette technique que les artères cérébrales se contractent après un stimulus électrique chez le lapin, la chèvre, le chien et l'Homme (Bevan & Bevan, 1973 ; Bevan et coll., 1975 ; Edvinsson et coll., 1976 ; Lee et coll., 1976 ; Shibata et coll., 1977 ; Conde et coll., 1978 ; Lee et coll., 1978 ; Duckles et coll., 1979). De plus, la réponse vasoconstrictrice était abolie par un traitement par la réserpine, la tétrodoxtine ou une ganglionectomie cervicale chez le lapin et la chèvre (Lee et coll., 1976 ; Conde et coll., 1978). Ces résultats montrent donc la contribution adrénergique à cette constriction des artères cérébrales. Cependant, Conde et coll., 1978 ont montré que la constriction de l'artère basilaire de lapin lors de la stimulation électrique transmurale n'est pas abolie ni diminuée par des antagonistes  $\alpha$ -adrénergiques comme la phentolamine ou la phénoxybenzamine, alors que chez la chèvre, la constriction de l'artère cérébrale moyenne de lapin est antagonisée par une dose plus faible de phentolamine que celle utilisée par Lee et coll. (1976). Dans l'étude de Lee et coll. (1976), les fortes concentrations de phentolamine entraînent même une augmentation des réponses contractiles des artères basilaires de lapin. Cette même observation a été réalisée pour des artères piales de chien (Duckles et coll., 1979). Ces deux dernières observations suggèrent que la phentolamine bloquerait préférentiellement les récepteurs  $\alpha$ -adrénergiques présynaptiques et que les récepteurs  $\alpha$ -adrénergiques post-synaptiques auraient des caractéristiques différentes des récepteurs  $\alpha$ -adrénergiques présynaptiques (Duckles et coll., 1979).

D'autre part, certaines études n'ont montré aucune réponse à la stimulation transmurale des artères cérébrales humaines ou canines (Toda & Fujita, 1973 ; Hayashi et coll., 1980), voire

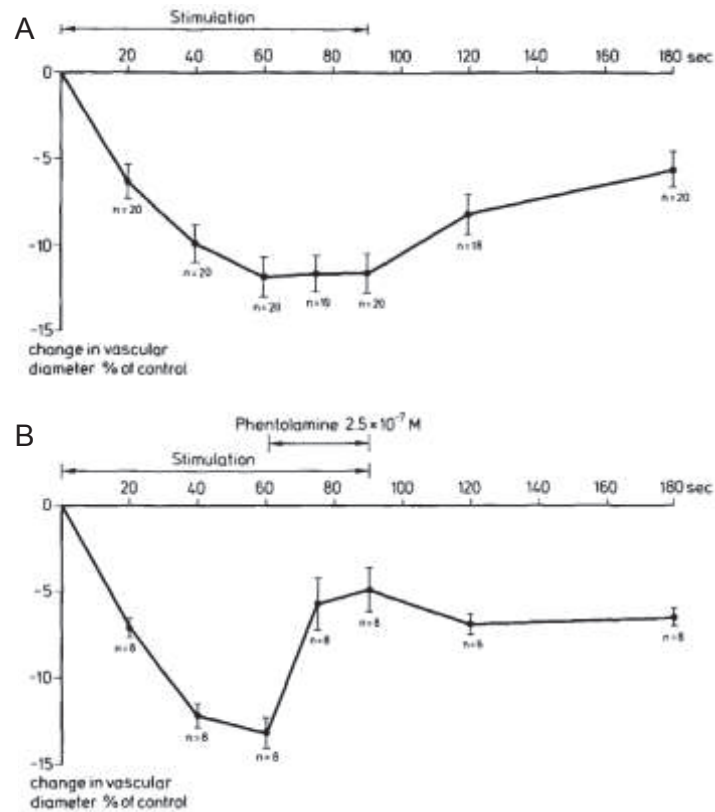
une relaxation de ces artères chez le chat (Lee et coll., 1978) et le porc (Winqvist et coll., 1982). Cette réponse dilatatrice des artères cérébrales de chat n'est pas potentialisée par la physostigmine, ni bloquée par l'atropine et l'hémicholinium alors même que l'effet relaxant de l'acétylcholine est antagonisé par ces deux derniers agents. De plus, la réponse dilatatrice provoquée par cette stimulation transmurale persiste après application de guanéthidine, de phénoxybenzamine, de propranolol, de réserpine ou après une sympathectomie chronique (Lee et coll., 1978). Ces données indiqueraient la présence d'une innervation dilatatrice non adrénergique et non cholinergique. Ces dernières observations ont été confirmées dans l'étude de stimulation transmurale de Duckles et coll. (1979) pour des artères cérébrales de chien et de mouton. Cette étude révèle également les différences inter-espèces aussi bien qualitatives que quantitatives de la constriction et de la dilatation des artères cérébrales lors d'une stimulation électrique transmurale. Chez le chien, le singe et le lapin, la réponse contractile domine et la réponse dilatatrice est minime, alors que chez le chat, la réponse dilatatrice domine. Chez le mouton, les réponses constrictrice et dilatatrice sont toutes deux importantes.

En conclusion, si les premières études ont montré une vasoconstriction adrénergique suite à la stimulation transmurale d'artères cérébrales de nombreux mammifères, les résultats des études qui ont suivi ont produit des résultats discordants et suggèrent notamment la présence d'une innervation vasodilatatrice non adrénergique et non cholinergique.

### ***Stimulation électrique des nerfs sympathiques***

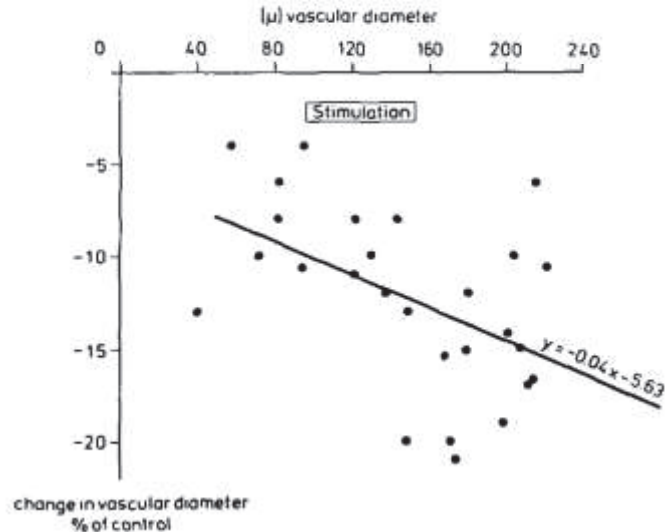
Chez l'animal entier, la stimulation électrique des nerfs sympathiques représente également un moyen d'étudier le comportement des artères cérébrales et du DSC à l'activation sympathique.

Chez le chat, la stimulation de la chaîne sympathique cervicale supérieure conduit à une diminution faible (de 12 % en moyenne) du calibre des artères piales mesuré au moyen d'une fenêtre crânienne (Kuschinsky & Wahl, 1975). Cet effet constricteur de la stimulation sympathique est atténué par l'application périovasculaire d'un antagoniste  $\alpha$ -adrénergique, la phentolamine (figure 19), confirmant ainsi le rôle des récepteurs  $\alpha$ -adrénergiques dans la constriction des artères cérébrales lors d'une activation sympathique chez le chat.



**Figure 19 :** Variations du calibre d'artères piales de chat pendant et après 90 s de stimulation de la chaîne sympathique cervicale ipsilatérale (A). Effet de l'application périvasculaire de phentolamine ( $2,5 \cdot 10^{-7} M$ ) sur la constriction des artères piales induite par la stimulation de la chaîne sympathique cervicale. (B). D'après Kuschinsky & Wahl, 1975.

Dans cette étude, les auteurs ont également montré une corrélation significative entre la taille des vaisseaux et la réactivité à la stimulation sympathique, les petites artérioles répondant moins que les grosses artères (Kuschinsky & Wahl, 1975 ; figure 20). Chez le chat anesthésié, Wei et coll. (1975) ont montré que seules les artères piales dont le diamètre est supérieur à  $100 \mu m$  se contractent lors de la stimulation du tronc sympathique cervical. Ces deux études princeps chez le chat, démontrent l'importance des vaisseaux de gros calibre lors de la stimulation sympathique.



**Figure 20** : Corrélation négative entre le diamètre des artères piales de chat (période contrôle) et la variation du diamètre de ces mêmes artères 60 s après le début de la stimulation de la chaîne sympathique cervicale. D'après Kuschinsky & Wahl, 1975.

Chez la chèvre éveillée, il a été montré une diminution du DSC mesuré au niveau de l'artère maxillaire interne (voir chap. IV, 2.4. p. 80) pouvant aller jusqu'à 50% aux plus hautes fréquences de stimulation sympathique (Lluch et coll., 1975). Heistad et coll. (1978b) ont également montré une diminution du DSC mesuré par la technique des microsphères chez le singe mais pas chez le chien et le chat. Ces différentes études montrent bien la variabilité des réponses à la stimulation sympathique selon les espèces et les méthodes de mesure utilisées.

Les données chez le chat ont été confirmées et complétées par Auer et coll. (1981, 1983). À la fois les artères et les veines répondent à la stimulation sympathique, les artères de diamètre supérieur à 150 μm se contractant plus lors de cette stimulation que les artères plus petites. Un autre résultat intéressant est que les petites veines se contractent plus que les artères de taille correspondante (Auer et coll., 1981) et que cette constriction des veines est bloquée par un antagoniste α-adrénergique, la phénoxybenzamine (Auer et coll., 1983). La suite de ces études chez le chat a mis en évidence un phénomène d'échappement des petites artères cérébrales après 2 minutes de stimulation alors que les grosses artères (diamètre supérieur à 100μm) restent contractées pendant toute la stimulation (Auer & Ishiyama, 1986). Ce phénomène d'échappement des petites artères serait principalement le fait de la réponse myogénique. Gotoh et ses collaborateurs (1986) ont montré une différence de comportement entre les artères piales et les artères intra-parenchymateuses après 3 minutes de stimulation du ganglion cervical supérieur. Ces données suggèrent que

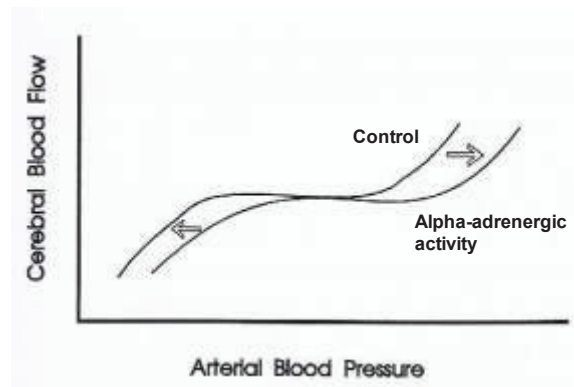
l'échappement du DSC à la vasoconstriction sympathique pourrait être attribué à la dilatation secondaire des artères intra-parenchymateuses.

Chez le chat, il apparaît donc que les réponses vasoconstrictrices à la stimulation de la chaîne sympathique cervicale sont le fait de l'innervation sympathique via la noradrénaline qui se fixe sur des récepteurs  $\alpha$ -adrénergiques. L'influence de cette innervation sympathique serait plus importante sur les larges artérioles, artères et veines que sur les petites artérioles, mais ces effets vasoconstricteurs restent faibles comparativement à d'autres circulations régionales.

L'effet de la stimulation du GCS ou du ganglion stellaire sur le DSC a été étudié par plusieurs groupes chez le chien (Traystman & Rapela, 1975 ; Barber et coll., 1978 ; Busija et coll., 1980). Cependant, les artères cérébrales de chien, comparativement à celles de certaines espèces comme le chat et le macaque sont peu sensibles aux manipulations de l'innervation sympathique cérébrovasculaire (Heistad et coll., 1978a ; Edvinsson et coll., 1993a).

Deux études princeps, conduites l'une chez le chat (Bill & Linder, 1976) et l'autre chez le rat (Edvinsson et coll., 1976) ont révélé l'importance du système nerveux sympathique comme facteur de protection de la circulation cérébrale face aux élévations aiguës de la PA au-delà de la limite haute de l'autorégulation du DSC. L'étude de Bill & Linder (1976) chez le chat montre que l'augmentation du DSC (mesuré par la méthode des microsphères, voir chap. IV, 1.2. p. 73) induite par une hypertension artérielle aiguë induite soit pharmacologiquement par une injection intraveineuse d'angiotensine II ou mécaniquement par la ligature de l'aorte thoracique, peut-être atténuée par la stimulation concomitante des chaînes sympathiques cervicales. L'étude d'Edvinsson et coll. (1976) chez le rat montre une diminution du DSC (apprécié par la différence artério-veineuse en oxygène) lors de la stimulation sympathique cervicale au cours d'une hypertension aiguë induite par une perfusion d'angiotensine, comparé au DSC mesuré chez des rats dont la chaîne sympathique cervicale n'est pas stimulée. Dans ces études, l'activation sympathique protège également le cerveau contre la rupture de la BHE (Sándor, 1999). Ainsi, l'activation des nerfs sympathiques peut déplacer la limite supérieure de l'autorégulation cérébrale vers de plus hautes valeurs de PA dans différentes espèces animales (Bill & Linder, 1976 ; Edvinsson et coll., 1976 ; Heistad et coll., 1978b ; Gross et coll., 1979 ; MacKenzie et coll., 1979 ; Busija et coll., 1980 ; Lacombe et coll., 1985 ; Paulson et coll., 1990 ; figure 21) et protège notamment la BHE.





**Figure 21 :** Effet de la stimulation des nerfs sympathiques périvasculaires sur l'autorégulation du DSC. D'après Paulson et coll., 1990.

Les mêmes effets protecteurs de l'activation nerveuse sympathique sont observés pendant l'hypoxie artérielle chez l'agneau (Wagerle et coll., 1983) et l'hypercapnie chez le chat et le lapin (Busija & Heistad, 1984b).

### **Stimulation des nerfs sympathiques chez l'Homme**

Chez l'Homme, la stimulation directe des nerfs sympathiques est impossible. Il existe cependant de nombreuses méthodes permettant d'induire une augmentation de l'ANS. Ainsi, l'activation sympathique induite par une distension de la vessie chez 7 sujets sains ne provoque aucune altération du DSC mesuré par la méthode de la clairance au  $^{133}\text{Xenon}$  (Skinhøj et coll., 1972, voir. IV, 1.1.4. p. 73). Le développement du Doppler transcrânien par Aaslid en 1982 a permis de mieux étudier les effets dynamiques de la stimulation sympathique sur le contrôle de l'hémodynamique cérébrale chez l'Homme. Cependant, ces études n'ont pas fourni de résultats concordants. Ainsi, une étude de Jørgensen et coll. (1992) n'a mis en évidence aucun changement significatif de la vélocité du flux dans l'artère cérébrale moyenne chez des volontaires sains lors d'une activation sympathique induite par un exercice d'extension d'un genou pendant 3 minutes. Il a été montré chez l'Homme que la perfusion cérébrale diminuait pendant des tests connus pour augmenter l'ANS périphérique, de type « Lower Body Negative Pressure » ou « Tilt test » en absence d'hypotension systémique, ce qui suggérerait la présence d'une vasoconstriction cérébrale avec une ANS augmentée pendant le stress orthostatique (Levine et coll., 1994 ; Zhang et coll., 1998 ; Levine & Zhang, 2008).



Micieli et coll. (1994) ont rapporté une réduction de la vitesse du flux dans l'artère cérébrale moyenne chez des volontaires sains subissant une épreuve de réponse pressive au froid de 5 minutes. À l'inverse, Thomsen et coll. (1995) ont montré une augmentation de cette vitesse pendant une épreuve de réponse pressive au froid chez des patients migraineux, résultat concordant avec ceux de Sohn (1998) qui a également rapporté une augmentation de la vitesse lors de deux tests de stimulation sympathique, l'épreuve de réponse pressive au froid et la contraction isométrique des avant-bras.

#### **4.1.2. Dénervation sympathique**

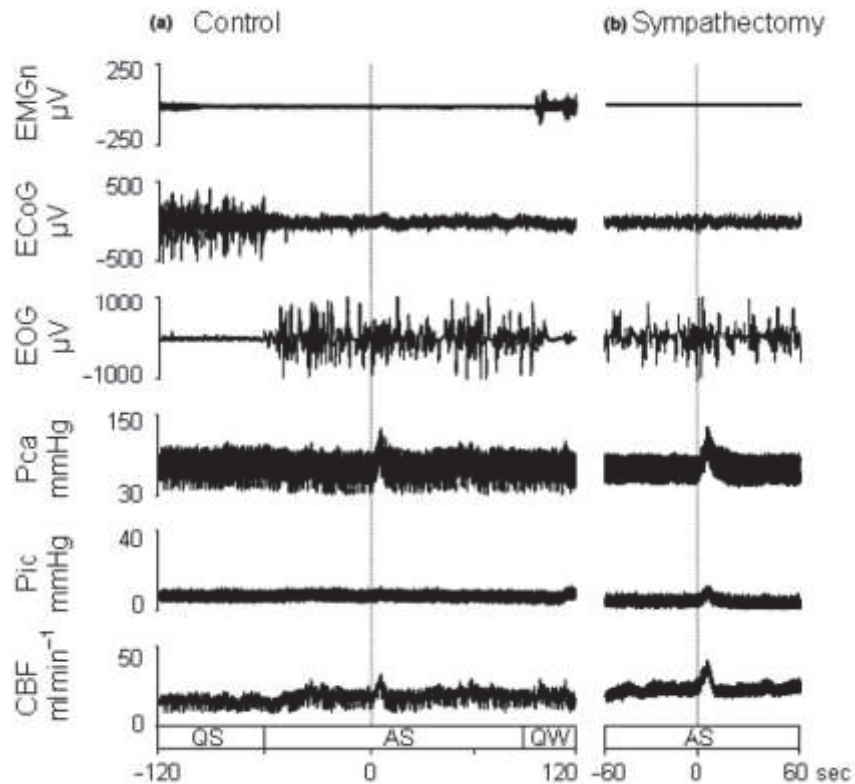
En 1939, Fog, dans ses premières études sur les artères piales *in situ* de chat, n'a observé aucun effet d'une dénervation sympathique aiguë sur la réponse autorégulatrice (cité par Strandgaard & Sigurdsson, 2008). De nombreuses études ultérieures de dénervation sympathique ont confirmé cette première affirmation du rôle mineur joué par le système nerveux sympathique à destinée cérébrale dans le contrôle de cette circulation. Ainsi, une étude chez le singe anesthésié n'a montré aucune différence entre les courbes d'autorégulation des singes dénervés chroniquement (exérèse bilatérale des GCS deux semaines avant l'étude) et celles des singes contrôles (Eklöf et coll., 1971). Ce même résultat a été rapporté la même année chez le chat anesthésié avec exérèse unilatérale chronique (15 à 25 jours) du GCS (Waltz et coll., 1971). Cette même étude n'a également retrouvé aucune différence de la réponse du DSC et du calibre des artéριοles corticales entre les côtés intact et dénervé lors de variations de la  $p\text{CO}_2$ . Chez le chien anesthésié, l'exérèse unilatérale aiguë ou semi-chronique (7 jours) du GCS et du ganglion stellaire n'a aucun effet, au cours d'une hypotension hémorragique, d'une hypocapnie et d'une hypertension aiguë provoquée par l'occlusion de l'aorte thoracique descendante (Mueller et coll., 1977).

Ces différentes études ont été réalisées chez des animaux anesthésiés. Cependant, une étude chez le chien éveillé n'a montré que peu de différence entre les réponses du DSC entre les côtés dénervé ou intact au cours d'une hypotension hémorragique (Marcus & Heistad, 1979). De même, chez le lapin éveillé, les différences de comportement entre les débits des côtés intact et dénervé lors d'une hypotension hémorragique sont minimales en situation de normoxie (Busija, 1984). Cependant, ces différences deviennent significatives en situation d'hypoxie. À l'inverse, certains auteurs ont montré qu'une dénervation sympathique pourrait déplacer les limites de l'autorégulation vers des niveaux de pression plus bas chez le singe et le rat (Fitch et coll., 1975 ; Sadoshima et coll., 1985). En outre, contrairement à des études plus anciennes réalisées chez le singe et le chat (Eklöf et coll., 1971 ; Waltz et

coll., 1971), une étude chez le rat a montré que la section des nerfs sympathiques à destinée cérébrale 3 à 7 jours avant l'étude conduisait à une perte de la capacité de l'artère cérébrale moyenne à autoréguler son débit (Morita et coll., 1995). La mesure du DCS dans ces différentes études a été réalisée par des méthodes de mesures statiques comme la clairance de gaz inertes ou la méthode des microsphères.

Des études sur l'effet de l'exérèse chronique (2 à 3 semaines) du GCS chez la chèvre éveillée (Alborch et coll., 1977) et chez le singe anesthésié (Hernández-Pérez et coll., 1975) suggèrent l'existence d'un tonus sympathique cérébrovasculaire vasoconstricteur. L'étude d'Alborch et coll. (1977) chez la chèvre éveillée a montré que la ganglionectomie induit une augmentation transitoire du DSC qui retourne à sa valeur contrôle en deux semaines. Dans ces deux études la mesure du DSC était dynamique avec une sonde électromagnétique implantée autour de l'artère maxillaire chez la chèvre et de la carotide commune avec ligature de la carotide externe chez le singe. À l'inverse des études citées précédemment, celle de Heistad et coll. (1978b) montre un tonus sympathique basal minimal chez le singe et le chat, la dénervation sympathique aiguë n'augmentant pas le DSC mesuré par la méthode des microsphères dans ces deux espèces.

Ainsi, sur la base de ces études chez l'animal, il est le plus souvent admis que l'innervation sympathique n'est pas impliquée dans le contrôle du DSC dans les conditions « normales ». Cependant, la seule situation comportementale étudiée est le sommeil paradoxal chez l'agneau. Au cours du sommeil paradoxal, des élévations importantes et rapides de la PA se produisent naturellement. Ces élévations tensionnelles sont accompagnées par une augmentation du DSC (figure 22). L'étude de Loos et coll. (2005) a suggéré un rôle majeur du système nerveux sympathique à destinée cérébrale dans le contrôle du DSC au cours de ces épisodes. En effet, cette équipe a montré chez l'agneau que, 72h au moins après l'exérèse bilatérale des GCS, l'augmentation du DSC (mesuré par une sonde placée autour du sinus sagittal supérieur) est amplifiée (figure 22). Cette étude a révélé pour la première fois que l'innervation sympathique extrinsèque des vaisseaux cérébraux génère un tonus vasoconstricteur dans la circulation cérébrale et réduit le DSC au cours du cycle veille/sommeil. Ainsi, l'ANS pourrait protéger les vaisseaux cérébraux au cours des élévations de PA survenant pendant le sommeil paradoxal.



**Figure 22** : Exemple des effets de l'exérèse bilatérale du GCS sur la pression intracrânienne (Pic) et le débit sanguin cérébral (CBF) au cours du sommeil chez l'agneau. (a) Enregistrement des variables physiologiques (EMGn : électromyogramme du muscle dorsal du cou ; ECoG : électrocorticogramme ; EOG : électro-oculogramme ; Pca : pression artérielle carotidienne ; Pic ; CBF) avant la sympathectomie au cours du sommeil lent (QS), du sommeil paradoxal (AS) et de l'éveil calme (QW). Noter l'augmentation du niveau moyen du débit sanguin cérébral au cours du sommeil paradoxal ainsi que son augmentation brutale pendant l'épisode presseur transitoire. (b) Enregistrement de ces mêmes variables physiologiques au cours du sommeil paradoxal après exérèse des GCS chez cet agneau. Noter en particulier l'augmentation plus marquée du débit sanguin cérébral avec augmentation de la Pic au cours de l'épisode presseur transitoire en sommeil paradoxal. D'après Loos et coll., 2005.

Cette même équipe a étudié chez l'agneau, au cours du sommeil, le rôle de l'innervation sympathique cérébrale dans le contrôle de la circulation cérébrale pendant une hypercapnie aiguë, (Cassaglia et coll., 2008c). L'étude du DSC deux jours après l'exérèse du GCS chez l'agneau endormi soumis à une hypercapnie aiguë a montré que la sympathectomie augmentait le niveau de base du DSC mais diminuait la réponse à l'hypercapnie. Ces résultats ont donc montré une ANS cérébrale toniquement active au cours du sommeil, particulièrement lors du sommeil paradoxal, qui est inhibée au cours des périodes

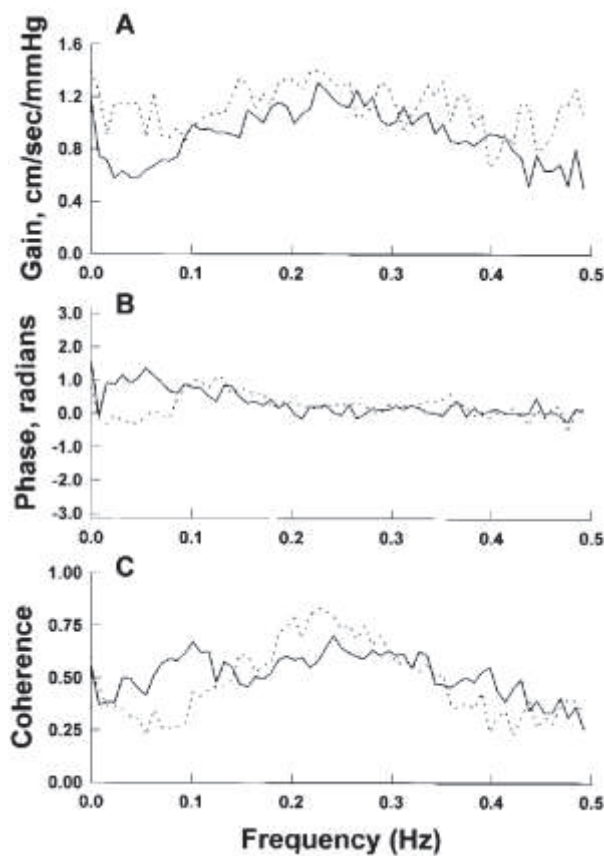
d'hypercapnies imposées, ce qui concourt à augmenter la vasodilatation cérébrale induite par l'hypercapnie.

### **Études chez l'Homme**

Les études conduites chez l'Homme n'ont suggéré qu'un rôle mineur de l'innervation sympathique dans le contrôle du DSC. Ainsi, en 1976, Skinhøj a montré que le blocage pharmacologique des récepteurs  $\alpha$ -adrénergiques par la phentolamine n'influçait pas le DSC chez 14 patients dont la fonctionnalité de l'autorégulation cérébrale avait été vérifiée pharmacologiquement par l'injection d'angiotensine. Cependant, chez 5 patients présentant un déficit de l'autorégulation cérébrale, le DSC était diminué proportionnellement à la PA. De même, Gierthmühlen et coll. (2011) ont montré que le système nerveux sympathique n'avait pas d'influence sur l'autorégulation cérébrale lors d'une diminution de la pression de perfusion induite par un test d'inclinaison ou un « leg cuff test » puisque la vitesse du flux de l'artère cérébrale moyenne ne différait pas entre les patients ayant des lésions du bulbe rachidien entraînant un déficit sympathique et les sujets contrôles. De plus, une étude d'angiographie par résonance magnétique de Kang et coll. (2010) a montré qu'à l'exception de l'artère ophtalmique, le diamètre des vaisseaux intracrâniens issus de l'artère carotide interne n'est pas affecté par le blocage du ganglion stellaire dans les conditions contrôles. Des études antérieures de blocage du ganglion stellaire chez l'Homme ont cependant montré des résultats différents. Ainsi, Umeyama et coll. (1995) ont montré une augmentation du débit sanguin dans l'artère carotide interne mesuré par tomographie d'émission de photons après blocage stellaire. Une autre étude a montré, lors du blocage du ganglion stellaire, une augmentation du débit sanguin dans l'artère carotide commune mesuré par imagerie de résonance, attribuée par les auteurs à une vasodilatation des vaisseaux extra-cérébraux. Dans cette même étude, le débit sanguin dans l'artère vertébrale n'était pas modifié lors du blocage du ganglion stellaire (Nitahara & Dan, 1998).

Comme discuté par Levine & Zhang (2008), il a été montré chez l'Homme que les effets du système nerveux autonome sont plus prononcés sur l'autorégulation dynamique au cours de variations de la PA et du DSC de l'ordre de 10 à 30 secondes que sur l'autorégulation statique. Après blocage ganglionnaire, cette autorégulation dynamique est perdue (Zhang et coll., 2002, 2004). L'étude de Zhang et coll. en 2002 a été la première à montrer cette implication du système nerveux sympathique dans la dynamique de l'autorégulation cérébrale chez l'Homme. En effet, dans cette étude, le blocage ganglionnaire par le trimétaphan augmentait le gain de la fonction de transfert entre la PA et la vitesse du flux sanguin cérébral, c'est-à-dire que, pour un changement donné de PA, la variation de flux

était plus importante (figure 23). Ce phénomène était particulièrement marqué dans les très basses fréquences, donc pour des fluctuations lentes de PA. Ces résultats suggèrent une diminution de l'efficacité de l'autorégulation dynamique du DSC après blocage ganglionnaire. Hamner et coll. (2010) ont également montré la fréquence-dépendance de la régulation du DSC par le système nerveux sympathique, le gain de la fonction de transfert entre la PA et la vélocité du flux dans l'artère cérébrale moyenne étant augmenté après blocage ganglionnaire pour les fréquences supérieures à 0,05 Hz.



**Figure 23** : Gain moyen de la fonction de transfert entre la PA et la vélocité du flux sanguin de l'artère cérébrale moyenne (A), phase (B) et cohérence moyenne (C) avant (trait plein) et après (trait pointillé) blocage ganglionnaire chez 12 volontaires sains. D'après Zhang et coll., 2002.

Un résultat a fait débat dans la controverse de 2008 publiée par le « Journal of Applied Physiology » (vanLieshout & Secher, 2008 ; Strandgaard & Sigurdsson, 2008 ; Levine & Zhang, 2008). En effet, Zhang & Levine (2007) en mesurant la vélocité du flux sanguin dans l'artère cérébrale moyenne avec et sans blocage ganglionnaire chez des volontaires sains, ont montré que le blocage ganglionnaire n'empêchait pas la réduction de la vélocité du DSC

liée à l'orthostatisme. Les auteurs ont donc conclu que la diminution du flux dans l'artère cérébrale moyenne lors de l'orthostatisme n'était pas liée à l'activation des nerfs sympathiques périvasculaires, contrairement à leur hypothèse de départ. Le problème de l'inconsistance des données dérivées des études utilisant le blocage ganglionnaire pour réduire le tonus sympathique est dû à l'hypotension systémique qui accompagne le blocage qui requiert une correction par de la phényléphrine qui elle-même pourrait altérer les réponses cérébrovasculaires (Cassaglia et coll., 2008c).

Ogoh et coll. (2008) ont comparé les variations des conductances vasculaires cérébrales (calculées à partir de la mesure de la vitesse du flux de l'artère cérébrale moyenne) pendant la phase précoce et tardive de la récupération après une hypotension transitoire induite mécaniquement avant et après blocage  $\alpha_1$ -adrénergique par la prazosine. Ces auteurs ont identifié un rôle vasoconstricteur des nerfs sympathiques. Une étude récente du même groupe a montré qu'une dysfonction du baroréflexe cardiaque induite par un blocage autonome cardiaque (par un antagoniste  $\beta_1$ -adrénergique et un antagoniste muscarinique) atténuait la régulation dynamique du DSC au cours de la réponse de récupération à une hypotension transitoire (Ogoh et coll., 2010).

### ***Autres effets***

Les expériences de dénervation ont également révélé les influences trophiques exercées par le système nerveux sympathique sur les vaisseaux cérébraux (Edvinsson et coll., 1993a). L'influence trophique du système nerveux sympathique a d'abord été mise en évidence sur des vaisseaux périphériques richement innervés tels que l'artère de l'oreille de lapin. La dénervation sympathique chronique, réalisée dans trois groupes d'âges différents (« jeunes » : 3-4 semaines ; « jeunes adultes » : 7-9 semaines et « matures » 16-20 semaines), réduit la masse du vaisseau, 8 semaines après la sympathectomie (Bevan & Tsuru, 1981). Cependant, la réduction de la masse du vaisseau est plus importante chez les jeunes que dans les deux autres groupes plus âgés lors de la dénervation. Les conséquences fonctionnelles de ces modifications trophiques ne deviennent apparentes que si la sympathectomie est réalisée tôt dans le développement (Bevan & Tsuru, 1981 ; Mueller et coll., 1983). La suite logique de ces investigations était de rechercher si les influences trophiques du système nerveux sympathique étaient les mêmes pour les artères cérébrales. Quand de jeunes lapins ont subi une exérèse unilatérale du GCS, la masse artérielle cérébrale mesurée 8 à 10 semaines après l'opération était significativement diminuée par rapport à celle de l'hémisphère controlatéral (Bevan et coll., 1983). Chez le rat hypertendu, l'hypertrophie des artères cérébrales parenchymateuses était très atténuée par une



ganglionectomie cervicale unilatérale réalisée 3 semaines après la naissance (Hart et coll., 1980). Chez les rats SHR-SP (Stroke-Prone), l'exérèse unilatérale du GCS réalisée à l'âge de 1 mois conduit à une augmentation de l'incidence des accidents vasculaires cérébraux du côté dénervé (Sadoshima et coll., 1983). Il apparaît donc que les influences trophiques de l'innervation sympathique sont un facteur de protection de la circulation cérébrale notamment lors de l'hypertension artérielle chronique (Sadoshima & Heistad, 1982, Mayhan et coll., 1987).

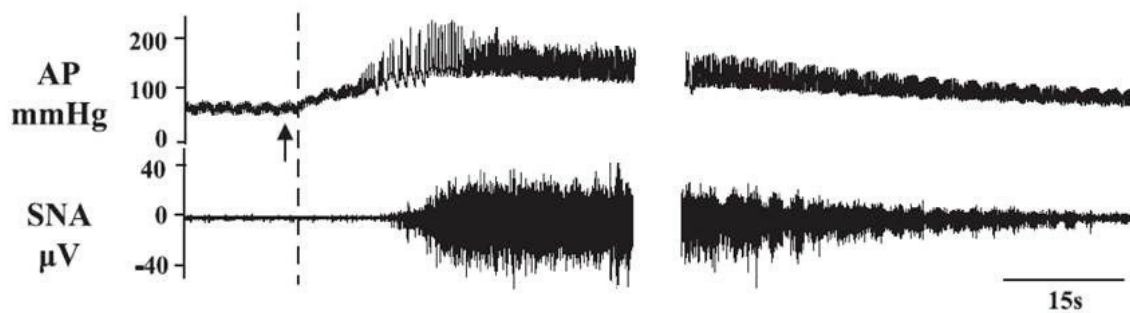
La question des effets de la dénervation sympathique sur la compliance des grosses artères cérébrales se pose logiquement. À notre connaissance, aucune étude de compliance n'a été réalisée sur les artères cérébrales après une sympathectomie chronique et les résultats des diverses études comparant la compliance d'artères de différents lits vasculaires après une dénervation sympathique de durée variable sont souvent contradictoires. Ainsi, Bevan & Tsuru (1981) ont montré que la distensibilité de l'artère de l'oreille de lapin était diminuée par la dénervation sympathique chronique. À l'inverse, Baumbach et coll. (1989) ont rapporté une augmentation de la distensibilité des artéριοles cérébrales de rats après dénervation sympathique chronique. Une augmentation de la distensibilité de l'artère carotide commune ainsi que de l'artère fémorale a également été démontrée chez le rat après une sympathectomie aiguë de 5 jours (Mangoni et coll., 1997). Cependant, l'étude de Kåhrström et coll. (1996) a montré qu'une sympathectomie néonatale chez des rats normotendus augmente la rigidité des artères piales.

#### **4.1.3. Enregistrement de l'activité nerveuse sympathique (ANS)**

Les travaux récents de Walker et de son équipe, qui ont développé une technique d'enregistrement de l'ANS en provenance du GCS chez l'agneau anesthésié (Cassaglia et coll., 2008b) et vigile (Cassaglia et coll., 2009), ont apporté un nouvel éclairage sur le rôle physiologique des nerfs sympathiques à destination cérébrale en complément de l'étude des effets de la dénervation sympathique au cours du sommeil paradoxal chez l'agneau (Loos et coll., 2005).

Tout d'abord, l'enregistrement de l'activité de fibres nerveuses sympathiques post-ganglionnaires au niveau du GCS chez l'agneau nouveau-né anesthésié (Cassaglia et coll., 2008b) et vigile (Cassaglia et coll., 2009) a confirmé la présence, dans cette espèce, d'une ANS à destination cérébrovasculaire. L'enregistrement de l'ANS cérébrale à partir du GCS montre que cette activité augmente rapidement en réponse à des augmentations de PA

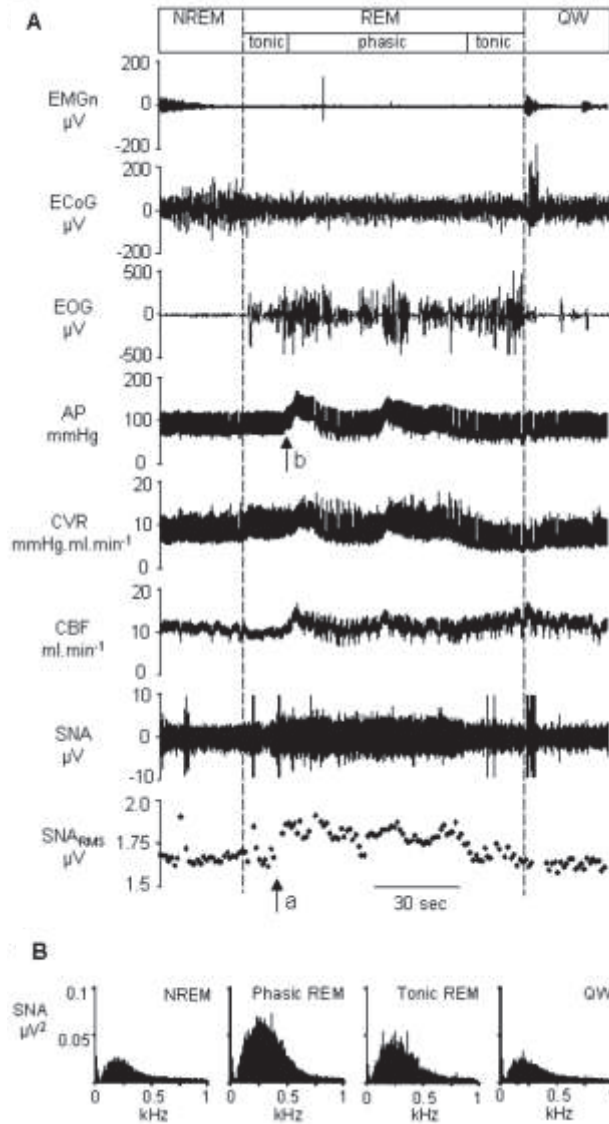
induites pharmacologiquement par l'injection intraveineuse d'adrénaline (figure 24), de phényléphrine ou d'angiotensine II ou mécaniquement par le gonflage d'un ballon intra-artériel placé au niveau de l'aorte abdominale distale, mais reste inchangée quand la PA est diminuée pharmacologiquement par l'injection intraveineuse de nitroprussiate de sodium chez l'agneau anesthésié (Cassaglia et coll., 2008b). D'après cette étude directe de l'ANS, celle-ci ne jouerait donc pas de rôle dans la restauration baroréflexe de la PA mais protégerait les vaisseaux cérébraux contre l'hyper-perfusion lors d'importantes augmentations de la PA.



**Figure 24 :** Exemple d'enregistrement de la pression artérielle (AP) et de l'activité nerveuse sympathique à destination cérébrale (SNA) chez un agneau anesthésié pendant un épisode hypertenseur induit par l'injection intraveineuse d'adrénaline (15 µg/kg). L'augmentation de la PA moyenne à un niveau supérieur à 120 mmHg s'accompagne d'une augmentation marquée de l'activité sympathique. D'après Cassaglia et coll., 2008b.

L'enregistrement chez l'agneau éveillé de la PA, du DSC et de l'ANS à destination cérébrale a mis en évidence une augmentation de l'ANS au cours du sommeil paradoxal, situation caractérisée par une variabilité de la PA et un DSC augmentés (figure 25A). Cette augmentation de l'ANS est supérieure au cours du sommeil paradoxal phasique comparé à sa phase tonique (figure 25B). Cette étude révèle également que l'augmentation d'ANS cérébrale précède d'une dizaine de secondes les augmentations de PA qui surviennent au cours du sommeil paradoxal phasique (Cassaglia et coll., 2009). Cette étude complémentaire de celle de Loos et coll. (2005) suggère donc un rôle protecteur de l'ANS à destination cérébrale contre les dommages possibles que pourrait causer l'hyper-perfusion qui caractérise cet état de vigilance.





**Figure 25 :** (A) Exemple d'enregistrement de l'électromyogramme des muscles de la nuque (EMGn), de l'électrocorticogramme (ECoG), de l'électro-oculogramme (EOG), de la pression artérielle (AP), des résistances vasculaires cérébrales (CVR), du débit sanguin cérébral (CBF) et de l'activité nerveuse sympathique (SNA) mesurée au niveau des fibres sympathiques post-ganglionnaires du ganglion cervical supérieur chez un agneau présentant des transitions spontanées du sommeil lent (nREM) vers le sommeil paradoxal (REM) puis vers un état d'éveil calme (QW). Le sommeil paradoxal comprend deux phases : le sommeil paradoxal phasique caractérisé par des élévations transitoires de la PA accompagnées par des élévations transitoires du DSC et des résistances vasculaires cérébrales, et le sommeil paradoxal tonique lorsque la PA et le débit sanguin cérébral restent stables. (B) Spectres de puissance du signal d'activité nerveuse sympathique, calculés sur 10 secondes, au cours des différents états de vigilance présentés en A. Une augmentation de la puissance spectrale centrée vers 0,25 kHz est visible pendant le sommeil paradoxal tonique et plus encore pendant le sommeil paradoxal phasique. Il n'y a aucune différence de puissance spectrale entre le sommeil lent et l'éveil calme. D'après Cassaglia et coll., 2009.

#### 4.1.4. Conclusions

Sur la base de ces données, il est généralement admis que l'activité des fibres nerveuses sympathiques à destinée cérébrovasculaire n'a qu'un effet modeste sur le DSC dans sa zone d'autorégulation (Busija et coll., 1980 ; Edvinsson et coll., 1993c ; Sándor, 1999), mais un effet plus important dans des situations où la PA augmente rapidement et fortement (Bill & Linder, 1976 ; Gross et coll., 1979 ; MacKenzie et coll., 1979 ; Cassaglia et coll., 2008a,b, 2009).

Il pourrait exister des différences régionales importantes dans les réponses cérébrovasculaires aux « manipulations » du système nerveux sympathique. Ces différences régionales n'incluraient pas seulement les variations entre les structures du cerveau mais également des différences selon le segment vasculaire de la circulation cérébrale considéré (Heistad et coll., 1978a ; Baumbach & Heistad, 1983). Ainsi, selon la méthode de détermination du DSC, les réponses aux diverses manipulations (exérèse du GCS, section ou stimulation des nerfs sympathiques) peuvent varier au sein d'une même espèce.

Il faut remarquer que dans nombre de ces études, la méthode de mesure du DSC ne permettait pas une étude dynamique du DSC puisqu'il fallait plusieurs minutes pour effectuer chaque mesure. Les résultats de ces études ne fournissent donc qu'une résultante de tous les mécanismes régulateurs mis en jeu pendant ce laps de temps.

Paulson & Knudsen (2008), dans leur commentaire sur le rôle de l'innervation sympathique dans le contrôle du DSC, rappellent que le système nerveux sympathique exerce ses effets de façon prédominante sur les grosses artères cérébrales de résistance (Heistad et coll., 1978b ; Kontos et coll., 1978a ; Busija & Heistad, 1984a ; Faraci & Heistad, 1990), alors que la réponse autorégulatrice siège principalement au niveau des plus petits vaisseaux de résistance (Baumbach & Heistad, 1983 ; Gotoh et coll., 1986). Cette situation pourrait expliquer pourquoi les changements d'ANS dans les conditions physiologiques ne conduisent pas à des changements importants du DSC, l'innervation sympathique et la réponse autorégulatrice s'équilibrant. C'est pourquoi l'effet des variations ANS cérébrale ne se révélerait que dans les conditions extrêmes où la PA dépasse les limites de l'autorégulation cérébrale (Paulson & Knudsen, 2008).

#### ***4.2. Rôle du système nerveux parasympathique***

Le rôle des fibres parasympathiques dans le contrôle de l'hémodynamique cérébrale est peu connu. Il semble qu'elles exercent un effet dilatateur sur les artérioles cérébrales et contribuent à la dilatation cérébrovasculaire dans certaines conditions, incluant la séquence ischémie – reperfusion (Sándor, 1999). Sur la base d'une étude dans laquelle il a été montré que la dénervation parasympathique chez le rat conduisait à un déplacement de la courbe d'autorégulation cérébrale vers de plus hautes valeurs de PA, il a été suggéré que l'activation des nerfs parasympathiques pourraient jouer un rôle protecteur au cours des hypotensions aiguës (Morita et coll., 1994, 1995). Si ce système ne semble pas avoir un rôle physiologique important, son implication a toutefois été proposée dans des situations physiopathologiques telles que l'ischémie et la migraine (Goadsby & Edvinsson, 1997b ; Hamel, 2006).

#### ***4.3. Rôle du système nerveux trigémino-vasculaire***

Le système trigémino-vasculaire joue un rôle important dans le contrôle de la circulation cérébrale. Si ce système n'est pas impliqué dans le maintien du débit cérébral dans les conditions de base, en revanche il est fortement impliqué dans les situations pathologiques, par exemple lorsque la limite haute de l'autorégulation cérébrale est dépassée (Goadsby & Edvinsson, 1997c). Des recherches plus récentes sur le système trigémino-vasculaire se sont focalisées sur son rôle dans les migraines (Goadsby & Edvinsson, 1997c, Hamel, 2006).

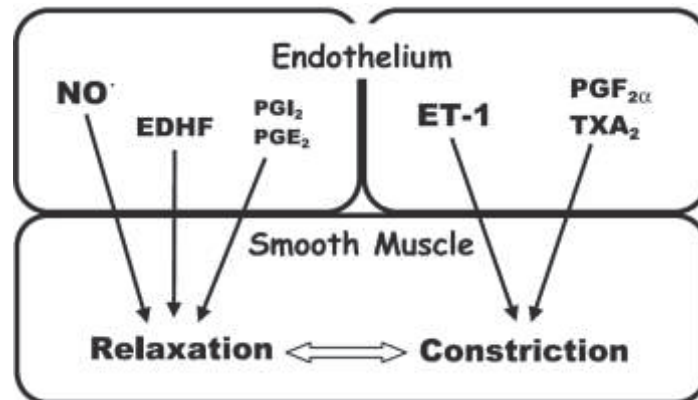
### **5. Régulation par les facteurs endothéliaux**

Les investigations microscopiques des vaisseaux du cerveau ont permis la première description des cellules endothéliales en 1845, même si ces cellules ne sont pas nommées (Andresen et coll., 2006). Pendant près de 100 ans, ces cellules endothéliales ont été

considérées comme une interface cellulaire passive. Il est maintenant démontré que les cellules endothéliales constituent une interface réceptrice-effectrice majeure.

Les cellules endothéliales sont devenues une thématique majeure de la recherche cardiovasculaire depuis que le monoxyde d'azote (NO) a été identifié comme le facteur relaxant dérivé de l'endothélium (EDRF : « endothelium-derived relaxing factor ») dans les années 1980 (Ignarro et coll., 1987 ; Moncada et coll., 1988). De nombreuses substances telles que l'acétylcholine, la bradykinine, l'ATP et l'ADP dilatent les vaisseaux cérébraux grâce à des récepteurs couplés à une protéine G localisés dans l'endothélium (Andresen et coll., 2006). Ces dilatations ont lieu *via* la production de NO (Nafz et coll., 1997), de certaines prostaglandines et/ou de facteurs hyperpolarisants dérivés de l'endothélium (EDHF : « endothelium-derived hyperpolarizing factor ») (figure 26 ; Andresen et coll., 2006).

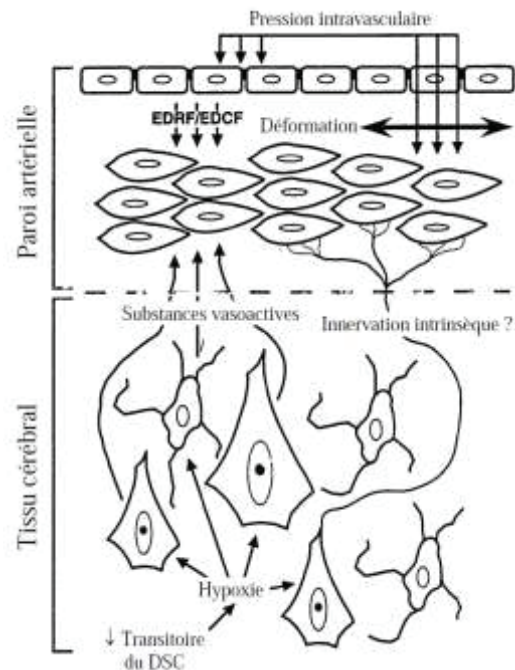
Le mécanisme de la dilatation flux-dépendante a été décrit pour les vaisseaux cérébraux *in vitro*, mais les réponses aux augmentations du débit se sont révélées être des vasodilatations ou des vasoconstrictions selon le niveau du tonus basal (Garcia-Roldan & Bevan, 1990).



**Figure 26** : Résumé des effets vasodilatateurs et vasoconstricteurs de l'endothélium sur les vaisseaux cérébraux. D'après Andresen et coll., 2006.

De nombreuses études se sont donc intéressées au rôle des cellules endothéliales des artères cérébrales dans la régulation du DSC dans les conditions basales, aussi bien chez l'Homme (Lavi et coll., 2003) que chez l'animal (Faraci, 1990). En effet, les cellules endothéliales sont sensibles aux changements de pression transmurale et de contraintes de

cisaillement (shear-stress) (Bryan et coll., 2001 ; figure 27) et transmettent ces signaux aux cellules musculaires lisses.



**Figure 27 :** Schéma de différents mécanismes potentiellement impliqués dans la régulation du DSC. D'après Chillon & Baumbach, 1997.

Ainsi, des études *in vitro* sur des artères cérébrales isolées de chien ou de chat ont permis de montrer que la contraction des cellules musculaires lisses en réponse à une élévation de la pression transmurale dépendait d'une augmentation de la synthèse et/ou de la libération de prostaglandines par les cellules endothéliales (Katusic et coll., 1987), voire d'un facteur vasoconstricteur dérivé de l'endothélium (Harder et coll., 1989 ; Martínez-Orgado et coll., 1998). Cette production accrue de substances vasoconstrictrices pourrait être couplée avec une diminution de la synthèse et de la libération des EDRFs (Rubanyi et coll., 1990). Les études *in vivo* ont cependant fourni des résultats contradictoires. Un rôle reconnu de l'endothélium dans la régulation du DSC est de contribuer au tonus de repos des vaisseaux cérébraux à travers la libération basale de NO (Andresen et coll., 2006). Il a également été montré que l'inhibition aiguë de la synthèse de NO perturbait les capacités d'autorégulation chez le rat (Tanaka et coll., 1993) et chez le chat (Kobari et coll., 1994). L'inhibition de la NO-synthase induirait même une augmentation de la limite basse de l'autorégulation du DSC chez le rat (Jones et coll., 1999), suggérant que le NO, et donc l'endothélium, jouent un rôle

majeur dans la modulation de la vasodilatation induite par l'hypotension. À l'inverse, une autre étude chez le rat a montré une autorégulation préservée lors d'une hypotension même après un blocage aigu de la synthèse du NO (Takahashi et coll., 1995). En outre, la vasoconstriction observée lors d'un épisode hypertensif chez le porcelet semble être due en partie à une libération accrue d'endothéline 1 et de prostaglandines (Martínez-Orgado, 1998). Il a été démontré chez le rat que la vasodilatation flux-dépendante est, quant à elle, très développée au niveau des larges artères cérébrales (Paravicini et coll., 2006) et contribue à atténuer la diminution de la pression microvasculaire cérébrale (Fujii et coll., 1991).

L'endothélium semble donc agir comme un mécanorécepteur de la pression transmurale et des contraintes de cisaillement, capable de relayer ces signaux vers les cellules musculaires lisses (Chillon & Baumbach, 1997 ; Paravicini et coll., 2006 ; figure 27).

## **6. Régulation par des facteurs hormonaux**

La BHE limite l'accès aux cellules musculaires lisses des vaisseaux cérébraux à de nombreux stimuli hormonaux, ce qui explique le résultat de nombreuses études qui montrent peu d'effet des stimuli hormonaux tels que les catécholamines circulantes et les peptides vasoactifs (Faraci & Heistad, 1990). Cependant, ce point de vue traditionnel doit être modifié à la lumière de certaines études qui indiquent que certaines hormones peuvent avoir des effets importants sur les larges artères cérébrales et sur la pression microvasculaire cérébrale sans changement du débit.

La vasopressine était considérée comme ayant un effet constricteur sur les vaisseaux cérébraux humains et de chèvre *in vitro* et un effet vasoconstricteur *in vivo* chez la chèvre éveillée (Lluch et coll., 1984). Cependant, deux études *in vitro* ont décrit une relaxation à la vasopressine des larges artères cérébrales félines, canines et humaines par un mécanisme endothélium dépendant (Katusic et coll., 1984 ; Faraci et coll., 1988 ; Onoue et coll., 1988).

L'angiotensine produit des vasoconstrictions des artères cérébrales *in vitro* et lorsqu'elle est appliquée localement *in vivo* dans différentes espèces animales (Faraci & Heistad, 1990). Il a été suggéré que l'angiotensine circulante a peu ou pas d'effet sur les vaisseaux cérébraux

de chats anesthésiés (Wei et coll., 1978), car elle ne passe pas facilement la BHE (Ermisch et coll., 1985). Cependant, Faraci et coll. ont montré en 1988 que l'angiotensine exerçait des effets directs sur les larges artères cérébrales, conduisant à une augmentation des résistances de ces larges artères cérébrales et à une diminution de la pression microvasculaire au niveau des artères piales avec un petit effet sur le débit sanguin cérébral. Enfin, un rôle modulateur du système rénine-angiotensine sur l'autorégulation cérébrale a été suggéré puisque le traitement par un inhibiteur de l'enzyme de conversion de rats normotendus et hypertendus déplaçait les limites haute et basse de la courbe d'autorégulation vers des pressions plus basses (Paulson et coll., 1988).

Enfin, des études *in vitro* et *in vivo* ont indiqué que les artères cérébrales répondaient à certaines hormones comprenant l'ocytocine (Katusic et coll., 1986), l'atriopeptine (Macrae et coll., 1987 ; Kawai & Ohhashi, 1987) et l'hormone parathyroïdienne (Suzuki et coll., 1983), ce qui suggère un potentiel de modulation de la pression microvasculaire cérébrale par certains mécanismes hormonaux (Faraci & Heistad, 1990).

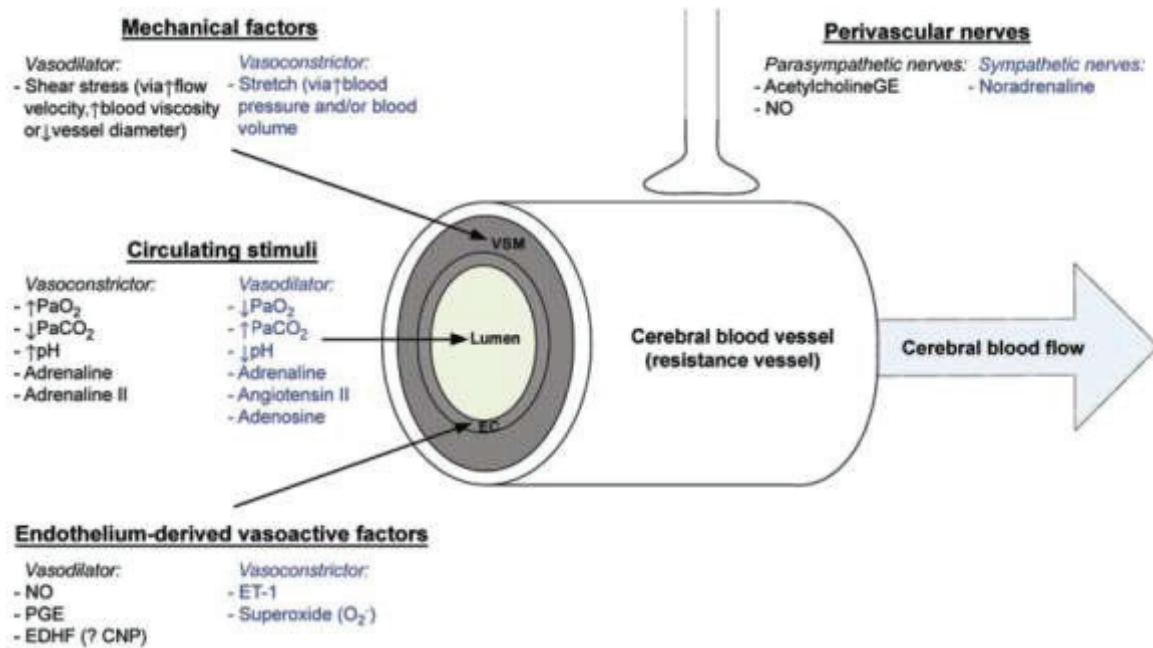
## 7. Conclusions

La régulation du DSC est donc un phénomène complexe qui intègre les différents mécanismes présentés plus tôt et résumés par la figure 28.

Une explication partielle des différences de fonctions attribuées aux nerfs sympathiques à destinée cérébrovasculaire pourrait être liée à des différences inter-espèces ; des modèles animaux différents pouvant donner des résultats divergents (Sándor, 1999 ; Hamner, 2010).

Les études sur l'hémodynamique cérébrale précédant les années 1980 utilisent des méthodes d'étude statique du DSC telles que la clairance de gaz inertes qui prend plus de 10 minutes pour une seule mesure, alors qu'après 1980 est apparu le Doppler transcrânien qui permet des mesures instantanées du DSC chez l'Homme et l'animal anesthésié (voir chap. IV, 2.3. p. 76). Les méthodes utilisées permettent donc aussi d'expliquer en partie les résultats contradictoires sur le rôle de cette innervation. Jusqu'à présent, il n'y a eu que peu de tentatives pour réconcilier formellement les résultats anciens avec les nouvelles données.





**Figure 28 :** Principaux facteurs influençant le diamètre des vaisseaux de résistance cérébraux. VSM, muscle lisse vasculaire ; EC, cellules endothéliales ; PaO<sub>2</sub>, pression partielle en O<sub>2</sub> du sang artériel ; PaCO<sub>2</sub>, pression partielle en CO<sub>2</sub> du sang artériel ; PGE, prostaglandines ; Et-1, endothéline 1 ; EDHF, facteurs hyperpolarisants dérivés de l'endothélium ; CNP, peptide natriurétique de type C. Notez que l'angiotensine et l'adrénaline peuvent provoquer des vasoconstrictions ou des vasodilatations selon les récepteurs auxquels elles se lient. D'après Ainslie & Ogoh, 2010.





# STRESS ET DÉBIT SANGUIN CÉRÉBRAL

## 1. Méthodes d'induction d'un stress émotionnel expérimental

### 1.1. Chez l'animal

Chez l'animal et plus spécifiquement chez le rat, un stress émotionnel peut être induit par différents moyens expérimentaux, dont les plus couramment utilisés sont :

- l'envoi d'un jet d'air comprimé dans la cage de l'animal (Lundin et coll., 1982, 1983, 1984 ; Koepke & DiBona, 1985 ; Julien et coll., 1988, 1992 ; DiBona & Jones, 1995 ; Zhang et coll., 1996 ; Barrès et coll., 2004 ; Kanbar et coll., 2007a) ;
- l'émission d'un stimulus acoustique puissant (90 à 110 dB), pendant moins d'une seconde (Baudrie et coll., 1997, 2001) ;
- l'immobilisation de l'animal (Ohata et coll., 1981 ; Callahan et coll., 1992 ; Yoshino et coll., 2005) ;
- un conditionnement au choc électrique qui consiste, pendant la période de conditionnement, à associer un choc électrique à un son qui sera émis sans le choc au moment de l'étude (Randall et coll., 1994).

En général, le stress induit une réaction comportementale dite de défense chez le rat (Hilton, 1982).

### 1.2. Chez l'Homme

Chez l'Homme, les principaux moyens expérimentaux utilisés pour induire un stress émotionnel (ou stress mental) sont notamment :

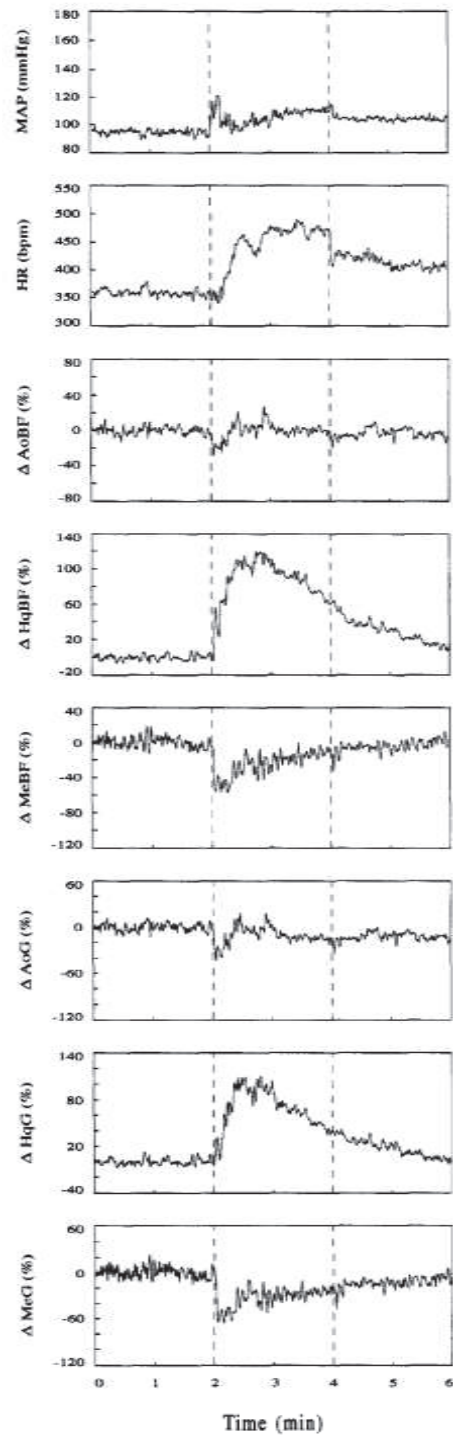
- le test de Stroop, fondé sur l'interférence entre la lecture du nom d'une couleur et la couleur avec laquelle est écrite ce nom (Naqvi & Hyuhn, 2009 ; Fechir et coll., 2010) ;
- le calcul mental (Ito et coll., 2003 ; Shapiro et coll., 2000 ; Carter et coll., 2005 ; Szirmai et coll., 2005 ; Wang et coll., 2007 ; Naqvi & Hyuhn, 2009 ; Debreczeni et coll., 2009) ;
- le stress acoustique (Holand et coll., 1999).

## **2. Effets du stress émotionnel**

### **2.1. Aspects généraux**

Des augmentations de PA et de fréquence cardiaque ont été rapportées à la fois chez l'Homme et chez le rat au cours de l'exposition à un stress émotionnel. Des augmentations d'ANS, rénale chez le rat (Lundin et coll., 1984 ; Randall et coll., 1994 ; Barrès et coll., 2004) et musculaire chez l'Homme (Anderson et coll., 1991) ont aussi été rapportées.

Toujours chez le rat, sur le plan hémodynamique, la réponse au stress du jet d'air se caractérise par une vasodilatation dans le territoire musculaire squelettique des membres postérieurs et une vasoconstriction mésentérique (Zhang et coll., 1996 ; figure 29) et rénale (Kirby et coll., 1987). Un profil similaire de réponses hémodynamiques au jet d'air est rapporté chez le lapin (Schadt & Hasser, 1998, 2004). Chez l'Homme, le territoire musculaire de l'avant-bras vasodilate pendant le calcul mental (Carter et coll., 2005).



**Figure 29 :** Exemple chez un rat des effets cardio-vasculaires de l'application d'un stress émotionnel modéré induit par un jet d'air sur la pression artérielle moyenne (MAP), la fréquence cardiaque (HR), les débits sanguins (BF) et les conductances (G) au niveau de l'aorte sous diaphragmatique (Ao), de l'aorte distale (Hq) et de l'artère mésentérique supérieure (Me). Modifié d'après Zhang et coll., 1996.

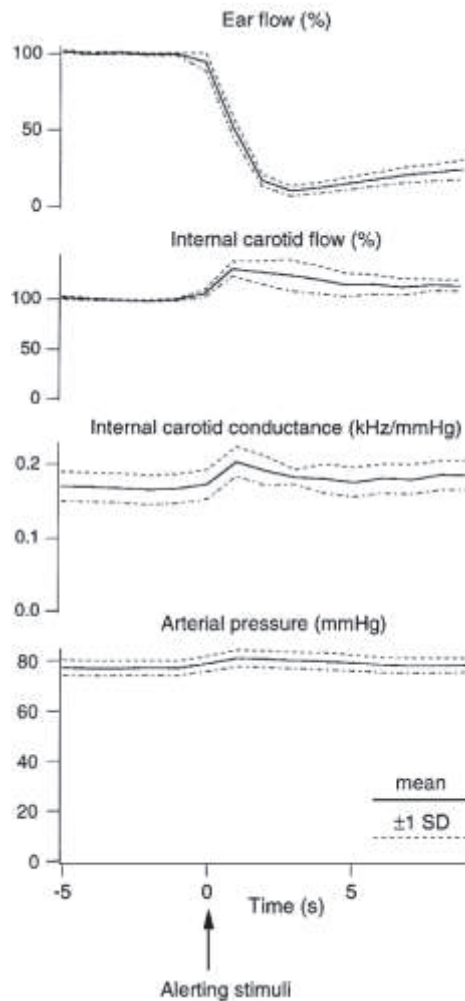
## **2.2. Cas particulier du lit vasculaire cérébral**

Le comportement du DSC lors d'un stress mental ou émotionnel n'a été que peu étudié bien qu'un lien épidémiologique ait été démontré entre la réactivité de la PA au stress et la survenue d'AVC (Everson et coll., 2001). De plus, une corrélation entre les réponses aux stress expérimentaux et la survenue de lésions cérébrovasculaires silencieuses a été rapportée par Waldstein et coll. (2004).

La première mention d'un effet du stress sur le DSC a été faite par Kety en 1950 dans une revue sur le métabolisme cérébral et sa fonction chez l'Homme. Cet auteur rapporte qu'un sujet, présentant une appréhension marquée dans une situation de test, avait une consommation cérébrale en oxygène inhabituellement élevée ( $5 \text{ ml O}_2 \text{ } 100 \text{ g}^{-1} \text{ min}^{-1}$ ) comparé à sa consommation normale de  $3,2 \text{ à } 4,5 \text{ ml O}_2 \text{ } 100 \text{ g}^{-1} \text{ min}^{-1}$ , ce qui suggère une modification du débit sanguin cérébral en relation avec une augmentation du métabolisme cérébral.

L'immobilisation pendant 5 à 30 minutes de rats conscients ventilés artificiellement et paralysés par un relaxant musculaire, double à la fois la consommation du cerveau en oxygène et le DSC global mesuré par la technique des microsphères (Carlsson et coll., 1975, 1977). Suite à ces études, Ohata et collaborateurs ont reproduit ce stress de l'immobilisation chez des rats conscients respirant spontanément (Ohata et coll., 1981). Les rats diminuent alors significativement leur DSC régional dans 7 des 14 régions du cerveau étudiées après 5 minutes d'immobilisation ; les autres régions cérébrales diminuant leur débit de façon non significative. Les auteurs ont attribué la totalité de ce déclin des débits sanguins cérébraux régionaux à la réduction de la  $\text{PaCO}_2$  induite par l'hyperventilation. Cependant, dans cette étude, bien que la fréquence cardiaque soit augmentée pendant le stress, la PA reste inchangée. Une dernière étude rapporte une brève augmentation d'environ 30% du DSC (représenté par le débit de l'artère carotide interne) chez le lapin lors de différents stimuli d'alerte. Cette augmentation du DSC est accompagnée d'une augmentation modeste de la PA et d'une vasodilatation du lit vasculaire cérébral, alors qu'à l'inverse, le débit sanguin de l'artère de l'oreille diminue (Yu & Blessing, 1997 ; figure 30).

À notre connaissance, ces quatre études sont les seules publiées sur l'effet du stress sur le DSC chez l'animal.



**Figure 30** : Effet moyen chez 6 lapins d'un stimulus d'alerte sur le débit sanguin de l'oreille, le débit dans la carotide interne, la conductance vasculaire carotidienne et la pression artérielle. D'après Yu & Blessing, 1997.

Chez l'Homme, quelques études se sont intéressées à l'effet du stress sur le DSC, mais rapportent souvent des résultats contradictoires. Par exemple, une étude a montré que le DSC total mesuré par la clairance du  $^{133}\text{Xe}$  était augmenté pendant un test mental de mémorisation et de raisonnement (Risberg & Ingvar, 1973), tandis qu'une autre étude n'a trouvé aucun changement du DSC global, également mesuré par la clairance du  $^{133}\text{Xe}$ , en relation avec un stress mental confirmé par une augmentation de la concentration plasmatique d'adrénaline (Madsen et coll., 1992). L'absence de modifications du DSC au cours du stress observée dans cette dernière étude a été confirmée et affinée par Ito et coll. (2003). En effet, dans cette étude réalisée sur 10 volontaires sains, le DSC global mesuré

par tomographie d'émission de positons n'est significativement pas différent entre les conditions de base et lors d'un stress provoqué par du calcul mental, sans changement de PaCO<sub>2</sub> entre les deux conditions.

Szirmai et coll. (2005) et Debreczeni et coll. (2009) ont enregistré la vitesse du flux sanguin des artères cérébrales moyennes par Doppler transcrânien lors d'un test d'arithmétique. Szirmai et coll. ont montré une augmentation transitoire de la vitesse du DSC suivi d'un retour au niveau initial malgré une PA et une fréquence cardiaque augmentées. Ces observations suggèrent une vasoconstriction des vaisseaux cérébraux peut-être liée à l'hyperventilation provoquée par le stress. Le groupe de Debreczeni a vérifié que l'hyperventilation volontaire diminuait la vitesse du flux sanguin des artères cérébrales moyennes. Enfin, il a été montré que trois tests de stress (test de Stroop, calcul mental et rappel de colère) causent une vasodilatation soutenue des artères carotidiennes communes mesurée par échographie avec une augmentation de la vitesse du flux sanguin des carotides mesurée par méthode Doppler et des artères cérébrales moyennes mesurée par Doppler transcrânien chez le sujet sain (Naqvi & Hyuhn, 2009).

L'effet du stress sur le DSC global n'a donc que peu été étudié chez l'animal. Les résultats chez l'Homme ne sont pas concordants et aucune étude n'a été menée sur le rôle du système nerveux sympathique dans le contrôle du DSC au cours du stress, bien que ce système soit très fortement activé dans cette situation physiologique.

# MÉTHODES D'ÉTUDE DE L'HÉMODYNAMIQUE CÉRÉBRALE

L'augmentation continue des connaissances sur la régulation du DSC est parallèle à l'évolution des méthodes développées pour étudier l'hémodynamique cérébrale.

## 1. Méthodes statiques

### *1.1. Approches basées sur des mesures de clairance de gaz inertes*

#### **1.1.1. Méthode de Kety et Schmidt**

Cette méthode, utilisant la clairance d'un gaz inerte ( $N_2O$ ), met en application le principe décrit par Fick en 1870 qui explique que la consommation ou la libération totale d'une substance par un organe est égale au débit sanguin traversant cet organe multiplié par la différence de concentration artério-veineuse de cette substance. Cette technique a été modifiée en utilisant des substances radioactives telles que le  $^{133}Xe$  et le  $^{85}Kr$  comme traceur. Cette méthode permet la mesure du métabolisme et du DSC *in vivo* chez l'Homme (Kety & Schmidt, 1945) et l'animal (James et coll., 1969 ; Fitch et coll., 1975). Les principaux avantages de ces techniques sont qu'elles permettent des mesures multiples et quantitatives du DSC global chez le même animal.

#### **1.1.2. Clairance à l'hydrogène**

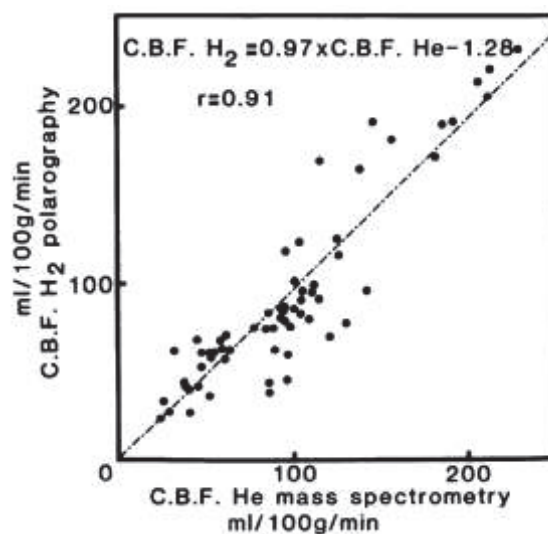
La méthode de la clairance à l'hydrogène est basée sur la vitesse d'élimination d'hydrogène généré localement ou d'hydrogène inhalé jusqu'à un point de saturation mesuré avec une électrode intracérébrale (Pasztor et coll., 1973 ; Iadecola, 1997). Cette méthode est une façon peu coûteuse de mesurer le DSC à des temps multiples. Cependant, cette technique peut sous-estimer le débit (Rosenblum, 1977 ; Iadecola, 1997) et la mesure devient inexacte pour les mesures de débit supérieur à  $100 \text{ ml } 100 \text{ g}^{-1} \text{ min}^{-1}$  (Iadecola, 1997). Elle est utilisée



à la fois chez l'Homme (Meyer et coll., 1977) et chez l'animal anesthésié (Pasztor et coll., 1973 ; Rosenblum, 1977 ; Tanaka et coll., 1989).

### 1.1.3. Clairance à l'hélium

Cette méthode est basée sur la clairance tissulaire d'hélium inhalé (Seylaz et coll., 1983), détecté en utilisant une canule de prélèvement de gaz implantée chroniquement dans la région cérébrale d'intérêt et connectée à un spectromètre de masse. La caractéristique attractive et unique de cette méthode est que les pressions partielles en oxygène et en dioxyde de carbone sont déterminées en même temps que la pression partielle de l'hélium. Cette méthode permet de déterminer le DSC régional chez l'animal éveillé (Seylaz et coll., 1983 ; Aubineau et coll., 1985 ; Pinard et coll., 1987) de façon quantitative et multiple (toutes les 2-3 minutes, Pinard et coll., 1987). Chez le lapin, les valeurs de DSC obtenues par les méthodes de clairance à l'hélium et de clairance à l'hydrogène (Seylaz et coll., 1983) ont montré une forte corrélation ( $r = 0,91$ , figure 31).



**Figure 31** : Comparaison du DSC mesuré simultanément chez 9 lapins au niveau du noyau caudé par clairance à l'hydrogène ( $CBF_{H_2}$ ) et par clairance à l'hélium ( $CBF_{He}$ ) détectée par spectrométrie de masse. Les changements de débits ont été provoqués par des changements de la pression partielle en  $CO_2$ . Une relation linéaire est montrée entre les 48 paires de mesures de débit avec un coefficient de corrélation linéaire élevé ( $r = 0,91$ ). D'après Seylaz et coll., 1983.

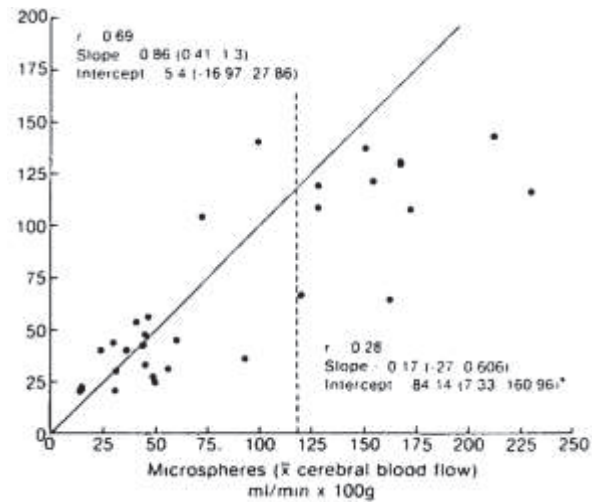
#### **1.1.4. Traceurs radioactifs intra-carotidien avec détection externe**

Cette technique est basée sur le suivi de la clairance locale d'un traceur radioactif ( $^{133}\text{Xe}$  ou  $^{85}\text{Kr}$ ), injecté dans l'artère carotide (Barry et coll., 1982), approche décrite par Lassen et Ingvar en 1961 pour le  $^{85}\text{Kr}$ . Si cette méthode est utilisable chez l'Homme (Obrist & Wilkinson, 1990), elle n'est pas utilisable dans les espèces animales présentant de nombreuses anastomoses entre les artères carotides internes et externes sans une ligature des anastomoses. Cette méthode permet donc des mesures simultanées et répétées du débit de différentes régions. Cependant, la mesure simultanée de débits sanguins cérébraux régionaux chez les petits animaux est difficile du fait de la taille des détecteurs comparée à la taille du cerveau de ces animaux (Iadecola, 1997).

### **1.2. Technique des microsphères**

Cette technique est basée sur le principe de fractionnement d'un indicateur, ici des microsphères marquées. Ces microsphères sont injectées dans le cœur gauche et se distribuent aux différents organes du corps proportionnellement au débit sanguin régional. En faisant l'hypothèse qu'il y a un mélange homogène des microsphères dans le sang, le nombre de microsphères piégées dans un organe est proportionnel au débit sanguin qui traverse cet organe (Edvinsson et coll., 1993b ; Iadecola, 1997). L'injection de microsphères marquées par différents isotopes à des temps différents permet de mesurer le DSC à différents temps chez le même animal après euthanasie de l'animal. Cependant, cette méthode ne permet pas un réel suivi dynamique du DSC. Les DSC régionaux et le DSC global ainsi que le débit dans d'autres organes peuvent être mesurés simultanément chez le même animal.

Cette méthodologie comparée avec la technique de la clairance au  $^{133}\text{Xe}$  injecté par voie intra-artérielle chez le singe (Marcus et coll., 1981 ; figure 32) a montré une bonne corrélation pour les valeurs de débit inférieures à  $120 \text{ ml min}^{-1} 100 \text{ g}^{-1}$ .



**Figure 32 :** Comparaison du débit sanguin cérébral chez le singe estimé par la clairance au  $^{133}\text{Xe}$  et par la méthode des microsphères. À un débit sanguin cérébral inférieur à 120 ml/min/100g, une bonne corrélation est montrée entre les mesures par ces deux méthodes ( $r = 0,69$ ). Dans ces conditions, la pente et l'intersection de la régression linéaire ne sont pas respectivement différentes de 1 et 0. À des débits supérieurs à 120 ml/min/100g, la corrélation entre les deux méthodes devient faible ( $r = 0,27$ ). À ces hauts débits, la clairance au  $^{133}\text{Xe}$  sous-estime constamment le débit sanguin cérébral mesuré par les microsphères. D'après Marcus et coll., 1981.

### 1.3. L'autoradiographie

Cette technique est fondée sur l'accumulation flux dépendante dans le cerveau d'un traceur radioactif diffusible non volatile, habituellement l'iodoantipyrine marquée au carbone 14, infusé par voie intraveineuse. À la fin de l'injection, l'animal est sacrifié et la radioactivité locale est mesurée en utilisant l'autoradiographie quantitative (Edvinsson et coll., 1993b ; Iadecola, 1997). Cette technique permet de mesurer le DSC à un temps donné dans des régions de tailles inférieures à un millimètre.

## **2. Méthodes dynamiques**

### ***2.1. Mesure du calibre des artères***

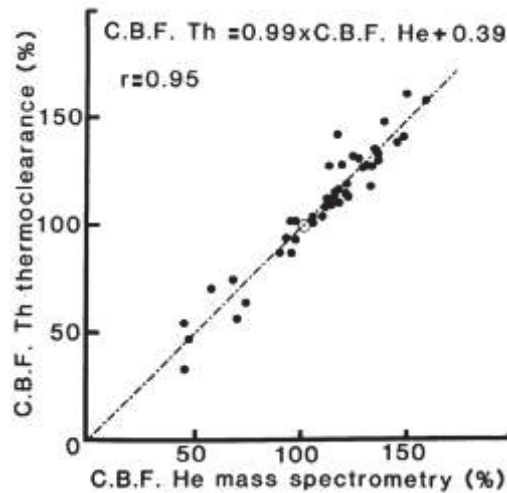
L'observation directe et indirecte des vaisseaux intracrâniens a été la première technique utilisée pour aborder les variations rapides de l'hémodynamique cérébrale (Edvinsson et coll., 1993b). Cependant, la mesure du diamètre vasculaire ne permet pas d'estimer correctement la variation de perfusion tissulaire cérébrale (Edvinsson et coll., 1993b). En effet, une hypotension modérée provoque une dilatation marquée des artérioles piales alors même que le débit sanguin cérébral reste inchangé principalement du fait des phénomènes d'autorégulation.

L'observation directe des artères intracérébrales est réalisée grâce à une craniotomie qui expose les vaisseaux intracérébraux (Kontos et coll., 1977b ; Auer et coll., 1981 ; Gotoh et coll., 1982). Cette technique permet également l'application directe d'agents vasoactifs.

Les techniques indirectes sont plus couramment utilisées dans les situations cliniques et incluent l'angiographie et la résonance magnétique nucléaire pour déterminer le diamètre des grosses artères.

### ***2.2. Clairance thermique***

Cette méthode utilise une sonde à thermistance insérée dans le cerveau (Betz, 1972). Le principe de cet enregistrement continu du DSC est fondé sur la mesure du transport de la chaleur par le sang, la différence de température entre l'élément chauffant et le thermocouple diminuant lorsque le débit sanguin augmente. Le principal avantage de cette méthode est de pouvoir mesurer le DSC en continu. Cusick & Myklebust en 1980 ont proposé de calibrer cette méthode de mesure avec la méthode de la clairance à l'hydrogène afin d'obtenir des valeurs absolues de débit. Mais en routine, cette méthode nécessite une recalibration itérative qui a limité son utilisation. De plus, une non-linéarité a été mise en évidence entre la clairance thermique et le débit dans certaines régions du cerveau (Iadecola, 1997), bien qu'une relation linéaire avec un coefficient de corrélation élevé ait été observé entre les valeurs de DSC obtenues par la clairance thermique et celles obtenues par la clairance à l'hélium (Seylaz et coll., 1983 ; Cusick & Myklebust, 1980 ; figure 33).



**Figure 33 :** Comparaison du DSC mesuré simultanément chez 5 lapins au niveau du noyau caudé par la méthode de la clairance thermique et par la méthode de la clairance à l'hélium détecté par spectrométrie de masse. Les changements de débit ont été provoqués par des hypercapnies, des hypoxies et des hypocapnies. Une relation linéaire étroite est mise en évidence entre les deux méthodes. D'après Seylaz et coll., 1983.

### 2.3. Doppler transcrânien

Le Doppler transcrânien est une technique de Doppler pulsé qui permet d'enregistrer le flux ou la vitesse des globules rouges dans les gros troncs artériels intracrâniens, principalement les artères cérébrales moyennes, antérieures et postérieures (Aaslid et coll., 1982). La différence de fréquence entre les ultrasons émis et les ultrasons reçus par la sonde Doppler est proportionnelle à la vitesse des hématies. Cet examen permet donc la mesure d'une vitesse sanguine exprimée en cm/s. Le débit dans les gros troncs artériels est le produit de la vitesse et de la surface de section du vaisseau étudié. En l'absence de variation du diamètre du vaisseau, le débit est donc proportionnel à la vitesse. Cette méthode emploie des sondes directionnelles qui émettent des sons de basses fréquences (1 - 2,5 MHz) à travers les zones minces du crâne comme la « fenêtre temporale » ou à travers les divers trous du crâne (trou occipital, trou orbitaire) ou des craniotomies pour certains animaux (Murkin & Lee, 1991 ; Iadecola, 1997). Cette craniotomie n'est pas nécessaire chez les animaux avec un crâne fin (Iadecola, 1997). Le Doppler transcrânien est la seule technique qui permet la mesure du DSC sans pénétration du cerveau. Cette technique est utilisée couramment en clinique chez l'Homme, tous les travaux actuels de recherche sur le DSC utilisant cette méthode. La vitesse du sang dans l'artère cérébrale moyenne à travers la fenêtre temporale est la plus souvent mesurée, le débit sanguin dans cette artère étant estimé à 60 % du débit sanguin de la circulation hémisphérique homolatérale (Granry 1991).

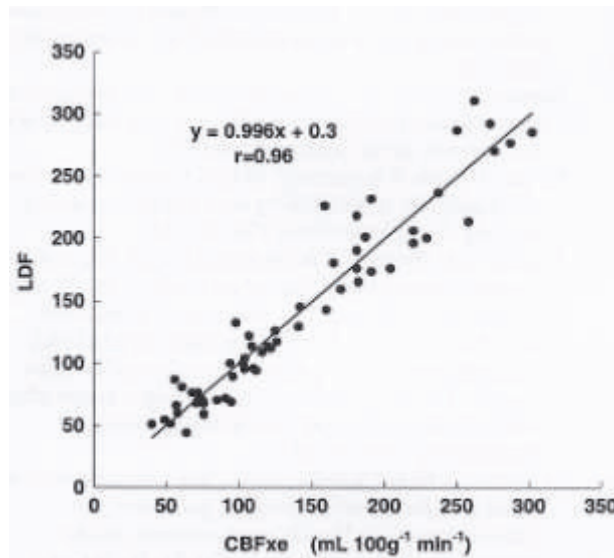
La vélocité du sang dans l'artère cérébrale antérieure (Vianna et coll., 2009) et postérieure (Gierthmülhen et coll., 2011) peut, elle aussi, être étudiée.

Cette technique a été adaptée chez l'animal et permet même la mesure du flux sanguin cortical chez le rat éveillé (Gu et coll., 1999). Du fait de la taille des sondes, elle ne permet cependant pas un enregistrement simultané de ce flux cortical dans les deux hémisphères cérébraux (figure 34).



**Figure 34** : Photographie montrant le système laser Doppler adapté pour mesurer le flux sanguin cortical chez le rat éveillé et non restreint. D'après Gu et coll., 1999.

Cette méthode de débitmétrie laser Doppler a été validée en la comparant à d'autres méthodes de mesure du DSC, incluant l'autoradiographie au [ $^{14}\text{C}$ ]iodoantipyrine (Eyre et coll., 1988 ; Fabricius & Lauritzen, 1996), les microsphères (Müller et coll., 2002 ; Bishai et coll., 2003), la clairance à l'hydrogène (Haberl et coll., 1989 ; Fukuda et coll., 1995) et la méthode au  $^{133}\text{Xe}$  intra-carotidien (Tonnesen et coll., 2005). Pour ces différentes études, les variations du DSC étaient provoquées par diverses manipulations incluant la réactivité à l' $\text{O}_2\text{-CO}_2$  (Haberl et coll., 1989 ; Fukuda et coll., 1995 ; Fabricius & Lauritzen, 1996 ; Müller et coll., 2002 ; Bishai et coll., 2003 ; Tonnesen et coll., 2005) et l'hémorragie (Eyre et coll., 1988). Ces études ont montré que les valeurs relatives de DSC obtenues par la débitmétrie laser Doppler étaient en général bien corrélées (figure 35) avec celles obtenues par les méthodes plus anciennes.

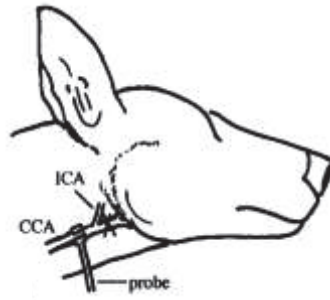


**Figure 35 :** Comparaison du DSC obtenu par la méthode du xénon ( $CBF_{Xe}$ ) et de la vitesse du flux sanguin cortical obtenue par Doppler transcrânien (LDF). Une bonne corrélation est obtenue entre LDF et  $CBF_{Xe}$  lorsque la  $PaCO_2$  varie entre 25 et 70 mmHg. D'après Tonnesen et coll., 2005.

#### **2.4. Débitmétrie Doppler et transit-time**

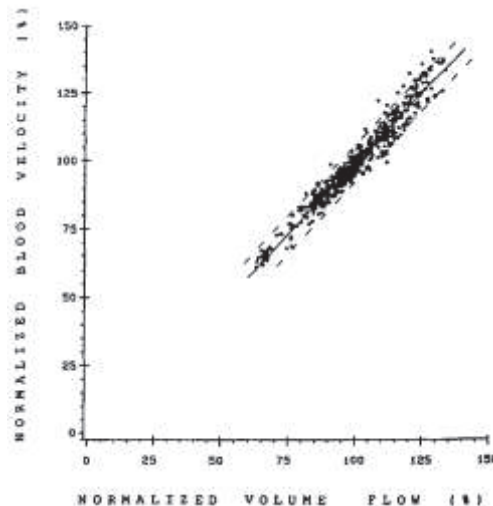
Afin de mesurer le DSC global, différentes procédures ont été utilisées chez l'animal. Cette mesure du DSC global nécessite l'implantation de sondes autour d'une artère en amont de la zone d'intérêt. Le choix du type de sonde se fait selon différents critères qui sont la taille de l'artère et le fait que l'animal soit conscient ou anesthésié. Deux méthodes débitométriques peuvent être utilisées : la débitmétrie transit-time fondée sur la mesure du temps de transit qui permet d'obtenir des valeurs absolues de débit, et la débitmétrie Doppler qui ne mesure qu'une vitesse sanguine.

Certains auteurs ont mesuré le débit sanguin dans l'artère carotide interne de diverses espèces animales de taille variée (Hernandez-Perez et coll., 1975 ; Gardiner et coll., 1990a,b ; Waller et coll., 1994 ; Fukushima et coll., 1999) en plaçant une sonde autour de l'artère carotide commune et en ligaturant l'artère carotide externe (figure 36).



**Figure 36 :** Schéma représentant la localisation d'une sonde de débit transit-time autour d'une artère carotide commune chez le chien avec ligature de l'artère carotide externe. D'après Fukushima et coll., 1999.

Cependant, l'artère carotide interne n'irrigue pas seulement des tissus cérébraux mais également des tissus extracérébraux (voir chap. I, 1.1. p. 12). Mais ceci n'est apparemment pas une grosse source d'erreur puisqu'il a été montré qu'il existe une bonne proportionnalité (figure 37) entre les débits sanguins dans la carotide interne et dans l'artère cérébrale moyenne chez l'Homme (Lindegard et coll., 1987 ; Hellström et coll., 1996) et chez le chien (Fukushima et coll., 1999).



**Figure 37 :** Comparaison des valeurs relatives du débit sanguin dans l'artère carotide interne (sonde électromagnétique placée autour de l'artère carotide commune avec ligature de l'artère carotide externe) et des valeurs relatives de la vitesse sanguine dans l'artère cérébrale moyenne (Doppler transcrânien) obtenues chez 7 patients pendant une endartériectomie carotidienne. D'après Lindegard et coll., 1987.



Cette approche avec ligature de la carotide externe présente un inconvénient qui est le développement d'anastomoses pendant la période postopératoire pour les expérimentations chroniques. Cette limitation peut être contournée en plaçant la sonde directement sur l'artère carotide interne (Yu et coll., 1996 ; Yu & Blessing, 1997 ; Kolb et coll., 2007) ou en mesurant le débit dans la carotide commune en considérant que le débit mesuré est un index « grossier » du DSC (Omar & Marshall, 2010a, b). Yu et coll., dans leur étude de 1996 ont d'ailleurs validé cette méthode de mesure en montrant une forte corrélation entre les signaux de la carotide interne et du sinus sagittal, obtenus par méthode Doppler. Bien que nécessitant des chirurgies extensives, ces méthodes permettent de mesurer en continu le DSC chez l'animal anesthésié (Fukushima et coll., 1999 ; Kolb et coll., 2007) ou conscient (Gardiner et coll., 1990a, b ; Waller et coll., 1994 ; Yu & Blessing, 1997). Depuis le développement de la méthode transit-time, le choix de la sonde se portera directement vers cette méthode pour les espèces de grande taille comme le chien puisque cette méthode fournit une valeur absolue du débit. Cependant, pour l'enregistrement du débit sanguin dans les carotides internes chez l'animal éveillé de plus petite taille comme le rat ou le lapin (Yu & Blessing, 1996, 1997), le choix de la sonde se portera vers la méthode Doppler car les sondes Doppler et leur connecteur sont plus petits et les câbles de connexion sont plus souples.

Chez la chèvre, des particularités anatomiques (réseau admirable et artère maxillaire ; voir chap. I, 1.2.4. p. 19) ont permis le développement d'un modèle d'étude du DSC qui a été principalement utilisé par l'équipe de Lluch dans les années 1970 (Reimann et coll., 1972 ; Lluch et coll., 1973 ; Lluch et coll., 1975 ; Alborch et coll., 1977). En effet, le placement d'une sonde de débit sur l'artère maxillaire interne, combinée à une occlusion des vaisseaux en provenance de l'artère maxillaire interne qui irriguent les territoires extracrâniens, permet de mesurer le DSC global d'un hémisphère cérébral chez l'animal éveillé. Dans ces études anciennes, les sondes utilisées étaient des sondes électromagnétiques car les sondes Doppler et transit-time n'étaient pas développées.

Enfin, le DSC est parfois mesuré en implantant une sonde débitmétrique autour d'un sinus veineux comme Cassaglia et coll. (2009) chez l'agneau, qui ont implanté une sonde transit-time autour du sinus sagittal supérieur, sinus le plus important drainant le sang veineux des deux hémisphères cérébraux. En effet, une augmentation du débit sanguin artériel s'accompagne d'une augmentation du débit sanguin veineux du fait que le cerveau est contenu dans une « boîte » incompressible.

Deuxième partie

## **TRAVAIL PERSONNEL**



# MATÉRIEL ET MÉTHODES

Le protocole de l'étude a été validé par le Comité d'Expérimentation Animale de l'université Claude Bernard Lyon I (annexe1).

## 1. Animaux

Des rats mâles de souche Sprague-Dawley âgés de 10 à 12 semaines (Laboratoires Charles River, L'Arbresle, France) sont utilisés. Leur poids corporel est compris entre 350 et 400 g. Ils sont stabulés dans des conditions constantes de température ( $21 \pm 1$  °C), d'humidité ( $60 \pm 10$  %) et d'éclairage (8h à 20h). Ils reçoivent de l'eau de ville et une nourriture standard *ad libitum*.

Les animaux sont répartis en trois groupes :

- un groupe de 13 rats, chez lesquels une exérèse unilatérale du GCS est réalisée ;
- un groupe de 5 rats, chez lesquels une exérèse bilatérale du GCS est réalisée ;
- un groupe de 6 rats contrôles, chez lesquels les GCS sont laissés intacts.

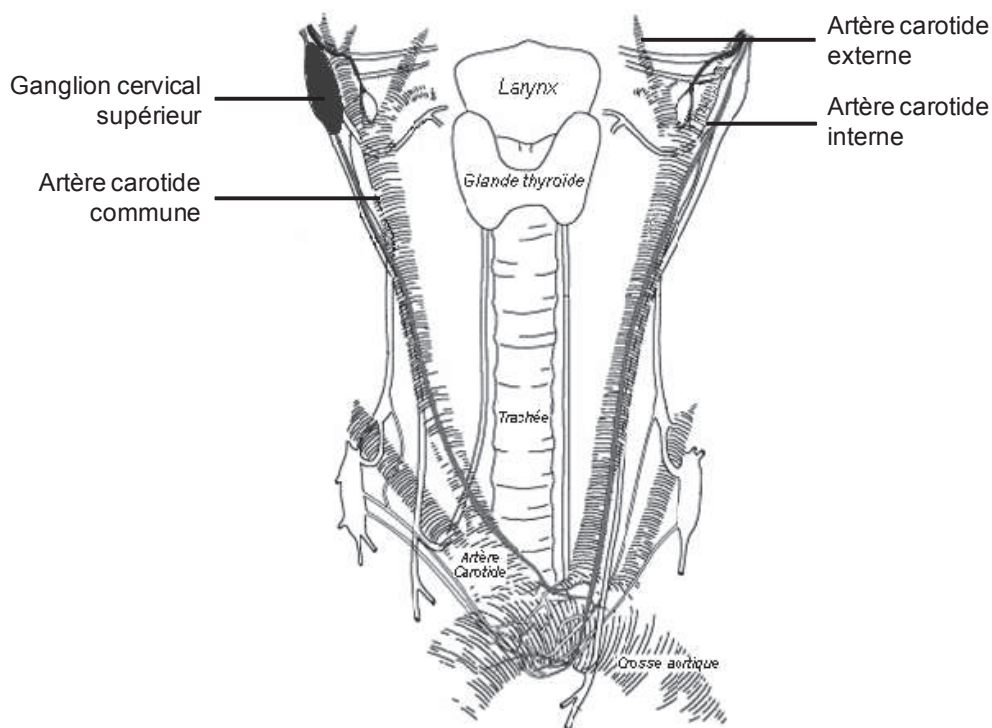
## 2. Procédures chirurgicales

### ***2.1. Exérèse du ganglion cervical supérieur***

L'objectif de l'exérèse du GCS est d'obtenir une dénervation sympathique des vaisseaux cérébraux. Il a été montré que, chez le rat, l'excision du GCS provoque une sympathectomie ipsilatérale presque complète (Kobayashi et coll., 1983 ; Handa et coll., 1991). Ainsi, l'exérèse unilatérale du GCS fournit un modèle permettant de comparer les profils hémodynamiques des hémisphères cérébraux avec et sans innervation sympathique alors

que la ganglionectomie cervicale bilatérale fournit un modèle de dénervation totale des vaisseaux des deux hémisphères cérébraux.

L'exérèse du GCS correspond à une partie de la technique de dénervation sino-aortique décrite par Krieger (1964) avec quelques modifications. Il faut noter qu'en 2010, Savastano et coll., ont publié une méthode d'exérèse du GCS qui permet de ne pas léser les muscles du cou grâce à une dissection minimale mais qui, de ce fait, ne permet pas l'implantation des sondes Doppler nécessaire à notre étude.



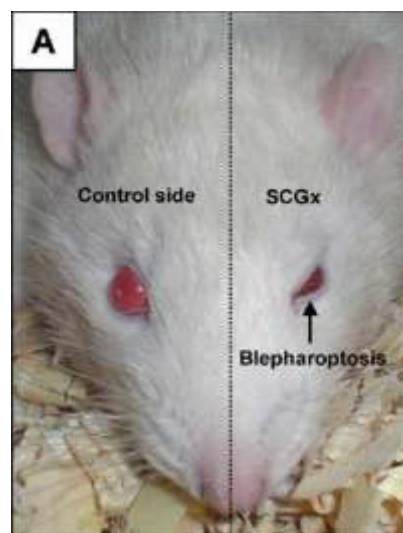
**Figure 38** : Anatomie de la région du cou montrant le ganglion cervical supérieur. Modifié d'après Chan et coll., 2000.

L'anesthésie est obtenue par l'administration intra-péritonéale d'un mélange de xylazine (8 mg/kg), de maléate d'acépromazine (4 mg/kg) et de chlorhydrate de kétamine (40 mg/kg). Avant l'implantation, le rat reçoit une injection prophylactique sous-cutanée de 50 000 UI de Pénicilline G et une injection sous-cutanée de kétoprofène à la dose de 5 mg/kg, anti-inflammatoire non-stéroïdien dont l'injection est répétée le lendemain et le surlendemain de la chirurgie. Une incision médiane de la peau dans la région du cou est réalisée et le muscle sterno-hyoïdien est rétracté afin de visualiser la région comprenant les artères carotides, les nerfs vagues et les nerfs laryngés supérieurs. Dans le cas de l'exérèse unilatérale des GCS,

réalisée chez 8 rats, seul le GCS droit est exposé par une dissection du carrefour carotidien (figure 38). Le GCS est soigneusement séparé des tissus avant d'être extrait à l'aide de pinces fines. Pour la procédure de dénervation bilatérale, réalisée chez 5 rats, le GCS gauche est également exposé avant d'être excisé de la même manière que le GCS droit. La durée de la procédure d'exérèse bilatérale est d'environ 1h.

Il a été montré qu'une semaine de récupération est une durée nécessaire et suffisante pour que les terminaisons sympathiques dégénèrent sans qu'il y ait une réinnervation significative (Kobayashi et coll., 1983 ; Handa et coll., 1991). Cette durée convient également pour une récupération totale de la chirurgie.

Un signe physique de la réussite de la dénervation sympathique est l'apparition d'une ptôse palpébrale unilatérale persistante du côté où a été pratiquée l'exérèse du GCS. Cet effet apparaît 30 h environ après la chirurgie (Savastano et coll., 2010 ; figure 39).



**Figure 39** : Illustration de l'effet de l'exérèse unilatérale chronique du ganglion cervical supérieur gauche (SGCx) chez un rat. Une ptôse palpébrale persistante se développe du côté de la ganglionectomie. D'après Savastano et coll., 2010.

## 2.2. Mesure du débit sanguin dans l'artère carotide interne

### 2.2.1. Principe du Doppler pulsé

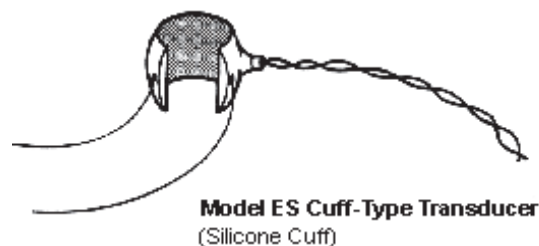
La mesure d'un débit sanguin par la méthode du Doppler pulsé repose sur l'effet Doppler : quand le faisceau d'une onde sonore est réfléchi par une cible en mouvement, la fréquence du signal en écho est différente de la fréquence d'émission. Dans le cas des débits sanguins, le principe de la mesure est fondé sur le changement de la fréquence ultrasonore après réflexion sur les globules rouges en mouvement.

Cette théorie peut être exprimée par l'équation doppler :  $\Delta f = 2f_0 V/c \cos\theta$

où  $\Delta f$  est la différence entre la fréquence du signal émis et la fréquence du signal réfléchi (décalage Doppler) ;  $f_0$  est la fréquence d'émission ;  $V$  est la vitesse des hématies ;  $c$  est la célérité de la propagation des ultrasons dans le sang (1565 m/s) ;  $\theta$  est l'angle entre le faisceau ultrasonore et l'axe du vaisseau (considéré parallèle au vecteur du débit sanguin). Comme les paramètres  $f_0$ ,  $c$  et  $\theta$  sont considérés constants, le décalage Doppler  $\Delta f$  est donc directement proportionnel à  $V$ . Comme  $Q = SV$  ( $Q$ , flux ;  $S$ , section de l'artère), si  $S$  ne varie pas au cours de la mesure, le décalage Doppler est en relation linéaire avec le flux.

L'équation Doppler est valable à la fois pour les transducteurs à émission continue (Franklin et coll., 1961) et à émission pulsée (Haywood et coll., 1981). Dans ce dernier cas, un seul cristal Doppler fonctionne alternativement comme émetteur et récepteur.

Nos études ont été réalisées grâce à un débitmètre Doppler pulsé (modèle 545C-4, Dept. of Bioengineering, University of Iowa, Iowa City, IA, USA) disposant de 4 voies simultanément opérationnelles (fréquence d'émission : 20 MHz et fréquence de répétition de l'émission : 62,5 kHz). Les sondes utilisées sont des sondes préfabriquées (Model ES, Iowa Doppler Products, Iowa City ; figure 40). Le diamètre de la lumière est 0,8 mm.



**Figure 40** : Sonde Doppler pulsé avec lien de serrage. D'après [iowadoppler.com](http://iowadoppler.com).

### **2.2.2. Implantation chronique des sondes Doppler autour des artères carotides internes**

Les sondes préalablement soudées à leur connecteur, lui-même protégé par du Silastic®, sont désinfectées par immersion pendant quelques minutes dans de la Bétadine® puis rincées avec du sérum physiologique stérile. La procédure d'implantation est réalisée juste après l'exérèse du ou des GCS.

Avant de rétracter le muscle sterno-hyoïdien, les sondes sont guidées sous la peau de chaque côté du cou à partir de la région inter-scapulaire. Après exérèse du ou des GCS, le muscle sterno-hyoïdien est relâché afin de faire traverser chaque sonde Doppler. Le muscle est ensuite à nouveau rétracté afin de placer les sondes autour des artères carotides internes. Les sondes sont maintenues en place en nouant les liens de serrage fixés dans le manchon de la sonde (figure 40). Le muscle sterno-hyoïdien est ensuite suturé. Les câbles des sondes sont ligaturés sur ce muscle de façon à maintenir les sondes en position. Le connecteur des sondes est enfin fixé sur le crâne préalablement dénudé au moyen de vis et de ciment dentaire. La durée de cette procédure d'implantation des sondes est d'environ 1h30 à 2h.

La période de récupération d'une semaine permet le développement d'une fibrose qui solidarise la sonde et le vaisseau et favorise donc la constance de l'angle entre le faisceau ultrasonore et l'axe du vaisseau.

### **2.3. Implantation des cathéters**

Les cathéters artériel et veineux sont réalisés à partir d'un cathéter en polyéthylène (PE) 10 soudé à un cathéter en PE 50. La partie intravasculaire (PE 10) du cathéter artériel est affinée en l'étirant dans de l'eau bouillante. Cet étirement réduit considérablement le risque d'ischémie dans le membre cathétérisé.

L'implantation des cathéters est réalisée la veille de l'étude sous anesthésie par l'isoflurane (2 % dans l'oxygène). Avant l'implantation, le rat reçoit une injection prophylactique sous-cutanée de 50 000 UI de Pénicilline G et de 5 mg/kg de kétoprofène. Un cathéter est introduit dans l'aorte abdominale distale via l'artère fémorale gauche pour la mesure de la PA. Deux cathéters sont également implantés dans la veine cave inférieure via l'artère fémorale gauche pour l'administration des substances. Puis, les cathéters sont guidés sous la peau du dos et sont extériorisés entre les omoplates. Le cathéter artériel est rempli d'une solution de polyvinylpyrrolidone (500 mg/ml) contenant de l'héparine (200 UI/ml) et du



thiamphénicol (0,9 mg/ml) afin d'éviter la diffusion et la coagulation du sang dans le cathéter. Les cathéters veineux sont remplis avec du sérum physiologique. Tous les cathéters sont obturés par des bouchons métalliques.

La durée de cette procédure d'implantation est d'environ 30 minutes.

### **3. Enregistrement informatisé des variables mesurées**

Le jour de l'étude, le cathéter artériel est relié à un capteur de pression (TNF-R, Becton Dickinson, Sandy, UT, USA) couplé à un amplificateur (modèle 13-4615-52 ; Gould, Cleveland, OH, USA). Le connecteur des sondes Doppler est relié au débitmètre Doppler pulsé, lui-même couplé à l'amplificateur. Les signaux amplifiés de la PA et des débits carotidiens sont simultanément enregistrés graphiquement (modèle 8802 ; Gould) et numériquement grâce à un ordinateur de type PC, équipé d'une interface analogique numérique (modèle AT-MOI-16-E-10, National Instruments, Austin TX, USA). Avant chaque enregistrement, une calibration du système de PA entre 0 et 300 mmHg est réalisée à l'aide d'un manomètre à mercure. Au cours de l'enregistrement, le cathéter artériel est perfusé en permanence (0,5 ml/h) avec une solution de glucose isotonique héparinée (25 UI/ml) afin de prévenir la diffusion du sang dans le cathéter et l'amortissement du signal.

Au moyen d'un logiciel développé au laboratoire, à partir du progiciel LabVIEW 5.1 (National Instruments), la PA et les débits carotidiens sont enregistrés à la fréquence de 500 Hz. Ce logiciel permet également la surveillance en temps réel des signaux de PA et de débits. La fréquence cardiaque est calculée chaque seconde grâce à une analyse spectrale par transformée de Fourier rapide qui fournit la fréquence moyenne du battement cardiaque à l'intérieur de fenêtres de 1 s. Les conductances vasculaires carotidiennes sont calculées en divisant le débit sanguin dans chaque carotide par la PA.

## **4. Protocole expérimental**

### ***4.1. Enregistrement des variables dans les conditions de base***

Après une période d'acclimatation de 1 à 2 heures, les variables hémodynamiques sont enregistrées en continu, dans les conditions de base pendant 246 minutes chez les 3 groupes de rats.

### ***4.2. Application d'un stress émotionnel***

Après la période de base, un stress émotionnel est provoqué en envoyant un jet d'air dans la cage du rat à travers un orifice latéral. Le jet d'air est délivré sous une pression constante de 1 bar à l'aide d'un compresseur muni d'un manomètre.

Au début du stress, le rat sursaute et tourne dans la cage pour fuir le jet d'air. En général, il s'immobilise rapidement jusqu'à l'arrêt du jet d'air. Dans nos études, la durée d'application du stress était de 5 minutes.

Dans un groupe de 6 animaux dénervés unilatéralement, ce stress du jet d'air a été appliqué après le blocage des récepteurs  $\beta_2$ -adrénergiques par le composé ICI118551 (0,4 mg/kg, puis 0,2 mg/kg/h iv). L'étendue du blocage a été vérifiée en comparant les réponses hémodynamiques à l'isoprénaline (0,5  $\mu$ g/kg iv) administrée avant et 2 heures après l'injection du composé ICI118551.

### ***4.3. Protocole pharmacologique***

Le protocole pharmacologique réalisé dans les 3 groupes de rats avait pour but d'évaluer l'effet de la dénervation sympathique sur :

1) les réponses à la tyramine, sympathomimétique indirect, administrée à 3 doses en ordre randomisé (125, 250 et 500  $\mu$ g/kg iv) ;

2) les réponses à la phényléphrine, agoniste non sélectif des récepteurs  $\alpha$ -adrénergiques, administrée à 3 doses en ordre randomisé (1,5, 3 et 6  $\mu$ g/kg iv) ;

- 3) les réponses à l'isoprénaline, agoniste non sélectif des récepteurs  $\beta$ -adrénergiques, administrée à 3 doses en ordre randomisé (0,25, 0,5 et 1  $\mu\text{g}/\text{kg}$  iv) ;
- 4) le contrôle baroréflexe de l'hémodynamique cérébrovasculaire grâce à l'administration de 3 doses de nitroprussiate de sodium en ordre randomisé (2,5, 5 et 10  $\mu\text{g}/\text{kg}$  iv) ;
- 5) le tonus sympathique vasoconstricteur grâce à l'administration d'un ganglioplégique, la chlorisondamine (2,5 mg/kg iv).

## **5. Analyse des données**

Cette analyse a été réalisée en temps différé.

### ***5.1. Analyse de l'effet du stress et des réponses pharmacologiques***

Les données individuelles de PA et des débits sanguins carotidiens initialement échantillonnées à 500 Hz sont relues et examinées soigneusement afin d'éliminer de possibles artéfacts. Ces séries temporelles sont ensuite ré-échantillonnées à la fréquence de 1 Hz par moyennage sur des périodes consécutives de 1 s. La conductance vasculaire carotidienne est calculée comme le rapport du débit sanguin carotidien à la PA.

Comme les sondes Doppler ne sont pas calibrées, elles ne fournissent pas de valeur absolue de débit. Pour effectuer les comparaisons entre les deux débits sanguins chez un même rat, de même que les comparaisons inter-animaux, il est donc nécessaire de normaliser toutes les données hémodynamiques. Chaque débit sanguin et sa conductance vasculaire associée sont normalisés par leur valeur moyenne calculée sur les 60 secondes précédant chaque injection ou l'envoi du jet d'air.

La quantification des effets des substances et des réponses au stress inclut le calcul des effets maximums ainsi que les changements globaux estimés par la somme des aires sous et sur la courbe avec la valeur moyenne de 60 secondes utilisée pour la normalisation prise comme valeur de base.

## **5.2. Analyse de la variabilité spontanée des débits carotidiens**

### **5.2.1. Analyse dans le domaine fréquentiel**

#### **Quantification de la variabilité de la PA et des DSCa**

À partir des séries chronologiques de la PA et des DSCa, la variabilité est estimée par le calcul de la puissance spectrale. La puissance spectrale est calculée grâce à une analyse spectrale utilisant un algorithme de transformée de Fourier rapide (Cerutti et coll., 1991 ; Julien et coll., 1995). Pour chaque variable, les données initialement enregistrées à 500 Hz sont rééchantillonnées à la fréquence de 20 Hz par moyennage sur des périodes consécutives de 50 ms. L'analyse spectrale est effectuée sur 17 périodes de 32768 (N) valeurs chacune, soit des périodes de 27,3 minutes, se recouvrant par moitié. Dans ces conditions, la résolution fréquentielle ( $\Delta f = 1/(N.\Delta t)$ ) est de 0,000610 Hz. Cette résolution permet l'analyse de fluctuations présentant des cinétiques lentes, de l'ordre de la dizaine de minutes. Pour chaque période de 27,3 minutes et pour chaque variable, l'analyse est appliquée après soustraction de la tendance linéaire et application d'une fenêtre de Hanning. Les 17 spectres ainsi obtenus sont ensuite moyennés. Pour chaque composante spectrale, l'analyse fournit la densité spectrale de puissance. La puissance spectrale est calculée comme l'aire sous la courbe dans 4 bandes de fréquences : 1/ une bande de basse fréquence (0,0012 - 0,01Hz), 2/ une bande de moyenne fréquence (0,01 - 0,1 Hz), 3/ une bande de haute fréquence (0,1 - 1 Hz) et une bande de très haute fréquence (1 - 10 Hz).

#### **Étude de la fonction de transfert entre les DSCa gauche et droit**

Elle utilise l'analyse spectrale croisée, en plaçant le DSCa gauche comme signal d'entrée et le DSCa droit comme signal de sortie. Cette analyse est réalisée dans des conditions identiques à celles décrites pour le calcul des spectres simples. L'analyse spectrale croisée fournit des spectres de cohérence, de gain et de phase. Notre étude a exploité les résultats de l'analyse de cohérence, ordinaire et partielle.

La cohérence ordinaire est l'équivalent dans le domaine fréquentiel du coefficient de détermination ( $r^2$ ) de la régression linéaire. Elle varie entre 0 et 1. La fonction de cohérence ordinaire  $C_{xy}^2(f)$  entre deux séries temporelles  $x(t)$  et  $y(t)$  est définie comme suit :

$$C_{xy}^2(f) = \frac{|S_{xy}(f)|^2}{S_{xx}(f) \cdot S_{yy}(f)}$$

où  $S_{xx}(f)$  et  $S_{yy}(f)$  sont les fonctions de densité spectrale de puissance, respectivement de  $x(t)$  et  $y(t)$ , et  $S_{xy}(f)$  est la fonction de densité spectrale croisée entre  $x(t)$  et  $y(t)$ .

Le seuil de significativité de la cohérence dépend du nombre de périodes adjacentes incluses dans le calcul des spectres moyens, du type de fenêtrage utilisé (Barrès et coll., 2004) et du pourcentage de recouvrement des périodes (Gallet & Julien, 2011). Ce seuil indique la valeur au dessus de laquelle la cohérence est significativement ( $P < 0,05$ ) différente de zéro et exprime donc l'existence d'une relation linéaire entre les fluctuations des deux variables. Dans notre étude, ce seuil est de 0,179.

Nous avons aussi calculé la cohérence partielle, qui permet d'éliminer mathématiquement l'influence d'une troisième variable dans les relations entre deux variables (Kocsis, 1995; Koopmans, 1995), ici l'influence de la PA dans les relations entre les deux DSCa. La fonction de cohérence partielle  $\gamma_{xy.z}^2(f)$  entre  $x(t)$  et  $y(t)$ , qui permet de prendre en compte l'influence d'une troisième série temporelle  $z(t)$ , peut être calculée à partir des fonctions de puissance spectrale et de puissance spectrale croisée de la façon suivante :

$$\gamma_{xy.z}^2(f) = \frac{|S_{yx}(f) \cdot S_{zz}(f) - S_{yz}(f) \cdot S_{zx}(f)|^2}{(S_{yy}(f) \cdot S_{zz}(f) - |S_{yz}(f)|^2)(S_{xx}(f) \cdot S_{zz}(f) - |S_{xz}(f)|^2)}$$

Les densités spectrales de puissance et la cohérence ordinaire sont calculées en utilisant les fonctions de LabVIEW 6.1, qui permet une analyse de Fourier standard avec un fenêtrage de Hanning. La cohérence partielle est ensuite calculée selon l'équation ci-dessus.

La variance des spectres de cohérence a été réduite grâce à une procédure de lissage progressif (Castiglioni *et al.* 1999).

### 5.2.2. Analyse dans le domaine temporel

Cette analyse repose sur l'étude des régressions linéaires entre les épisodes d'augmentation spontanée de PA et les variations concomitantes des DSCa gauche et droit chez les rats intacts et les rats avec dénervation unilatérale.

Les données individuelles de PA et de DSCa échantillonnées à 500 Hz dans les conditions de base (246 min) sont rééchantillonnées à la fréquence de 1 Hz par moyennage sur des périodes consécutives de 1 s. Ensuite, les augmentations continues de PA d'une durée minimale de 3 s (4 points consécutifs) avec une pente moyenne d'au moins 4 mmHg/s sont repérées automatiquement. Ces paramètres ont été choisis afin de se rapprocher de la cinétique des augmentations tensionnelles observées au début du stress du jet d'air. En effet, la pente de 4 mmHg/s est la plus faible pente mesurée dans ces conditions chez les rats intacts et dénervés unilatéralement. À partir de ces événements presseurs spontanés, les régressions linéaires PA/DSCa gauche et PA/DSCa droit ont été calculées pour chaque rat des groupes intacts ( $n = 6$ ) et dénervés unilatéralement ( $n = 8$ ).

## 6. Analyse statistique

Les résultats sont exprimés par la moyenne  $\pm$  erreur standard à la moyenne (SEM).

L'analyse statistique utilise les tests non paramétriques de Wilcoxon et de Mann-Whitney, respectivement pour les comparaisons appariées et non appariées.

Pour l'étude pharmacologique, chez les rats dénervés unilatéralement, la comparaison des débits sanguins et conductances vasculaires du côté intact par rapport au côté dénervé est réalisée par une analyse de variance (ANOVA) pour mesures répétées sur les 2 facteurs que sont les côtés intact et dénervé et les trois doses utilisées pour chaque substance testée (Vassar-Stats ; <http://faculty.vassar.edu/lowry/vassarstats.html>). Ce même test statistique est utilisé pour comparer les débits et conductances des côtés gauche et droit à l'intérieur des deux groupes de rats intacts et dénervés bilatéralement. La comparaison des réponses entre les rats intacts et les rats dénervés bilatéralement est réalisée à l'aide d'une ANOVA pour mesures répétées sur un facteur.

Le niveau de significativité pour tous les tests est  $P < 0,05$ .



### RÉSULTATS (1) :

#### RÔLE DU SYSTÈME NERVEUX SYMPATHIQUE DANS LES RÉPONSES CÉRÉBROVASCULAIRES AU STRESS DU JET D’AIR CHEZ LE RAT

Article : Role of the sympathetic nervous system in cerebrovascular responses to air-jet stress in rats.

Revel A, Oréa V, Chapuis C, Barrès C, Julien C

*Stress* 2011 Jul 26. [Epub ahead of print]

DOI: 10.3109/10253890.2011.597901

L’innervation sympathique à destinée cérébrovasculaire pourrait protéger la microcirculation cérébrale face aux augmentations de la PA (Busija et coll., 1980 ;Sadoshima et coll., 1983 ; Cassaglia et coll., 2008a,b, 2009). Or, les situations de stress provoquent une augmentation de la PA secondaire à une activation sympathique. De façon surprenante, le rôle du système nerveux sympathique dans le contrôle dynamique de la circulation cérébrale lors de situations de stress n’a, à notre connaissance, pas été étudié, ni chez l’Homme, ni chez l’animal. Dans ce contexte, l’objectif de notre étude était d’évaluer le rôle exercé par l’innervation sympathique cérébrovasculaire dans le contrôle de l’hémodynamique cérébrale chez le rat vigile exposé à un stress émotionnel aigu.

La PA et les débits sanguins dans les deux artères DSCa ont été enregistrés simultanément chez 13 rats adultes éveillés ayant subi une semaine avant l’étude l’exérèse du GCS droit. Les mesures ont été effectuées en continu avant (période de base) et pendant l’application d’un stress émotionnel d’intensité modéré induit par l’envoi d’un jet d’air dans la cage pendant 5 minutes. Ce même protocole expérimental a également été réalisé dans deux groupes de 6 rats intacts et de 5 rats ayant subi une dénervation bilatérale des GCS. Dans un souci de clarté et de concision, le choix a été fait de ne publier que les résultats obtenus chez les rats dénervés unilatéralement, les résultats obtenus dans les deux autres groupes présentant un caractère plutôt confirmatoire. Ces résultats sont présentés dans la suite du manuscrit (voir chap. VII, pp. 103-107).



La PA et les DSCa ont été échantillonnés à la fréquence de 500 Hz. Chez 5 des 13 rats dénervés unilatéralement, le stress a été appliqué après blocage des récepteurs  $\beta_2$ -adrénergiques par le composé ICI 118551 (0,4 mg/kg puis 0,2 mg/kg/h, iv). Les réponses des DSCa et des conductances vasculaires carotidiennes (CVCa) associées ont été étudiées (après rééchantillonnage à 1 Hz) par des calculs d'effet maximum et d'aires sur et sous la courbe. Ces réponses ont été comparées entre le côté gauche innervé et le côté droit dénervé, ainsi qu'entre les groupes avec et sans blocage  $\beta_2$ -adrénergique.

L'application du jet d'air augmente significativement la PA, les DSCa et les CVCa. L'effet du stress sur les débits comporte 2 phases successives. La première phase immédiate et transitoire comporte une augmentation des débits et une vasodilatation. Dans la deuxième phase, les débits se normalisent. Comme la PA reste élevée, cela indique qu'une vasoconstriction se développe progressivement. Pendant les 10 premières secondes du stress, le comportement des DSCa et de leurs conductances associées diffère selon que l'innervation sympathique est présente ou non. En effet, l'hyperémie et la vasodilatation sont significativement plus marquées du côté dénervé que du côté intact. Le blocage  $\beta_2$ -adrénergique par l'ICI 118551 ne modifie pas l'amplitude de la réponse hyperémique et vasodilatatrice initiale du côté dénervé par rapport aux 8 rats du groupe contrôle. Enfin, sous ICI 118551, l'effet presseur est augmenté, les débits sont maintenus, et donc la vasoconstriction qui succède à la vasodilatation initiale est augmentée.

Ainsi, le stress provoque une réponse biphasique des conductances vasculaires cérébrales avec une première phase vasodilatatrice suivie d'une phase vasoconstrictrice. La vasodilatation initiale n'est pas secondaire à la stimulation des récepteurs  $\beta_2$ -adrénergiques. L'étude a donc permis de mettre en évidence que l'innervation sympathique à destination cérébrovasculaire limite puissamment l'effet vasodilatateur initial induit par un stress émotionnel aigu chez le rat. Cette observation conforte l'hypothèse selon laquelle l'innervation sympathique participe à la protection de la circulation cérébrale face aux augmentations de PA pouvant survenir dans la vie courante. Si l'on admet que l'activation sympathique cérébrovasculaire au cours du stress dépend de la mise en jeu du baroréflexe artériel (Cassaglia et coll., 2008b), l'étude ouvre des perspectives physiopathologiques intéressantes quant aux relations entre la sensibilité du baroréflexe et l'accident vasculaire cérébral (Liu et coll., 2007).

## Role of the sympathetic nervous system in cerebrovascular responses to air-jet stress in rats

AURÉLIA REVEL, VALÉRIE ORÉA, BRUNO CHAPUIS, CHRISTIAN BARRÈS, & CLAUDE JULIEN

*Unité de Neurocardiologie, Faculté de Pharmacie, Université Lyon 1, F-69008 Lyon, France*

*(Received 26 January 2011; revised 19 April 2011; accepted 14 June 2011)*

### Abstract

This study examined the role of sympathetic nerves in the control of cerebral hemodynamics during air-jet stress. In adult male Sprague-Dawley rats, blood flow velocity (pulsed Doppler) was measured in both internal carotid arteries 1 week after excision of one superior cervical ganglion. Blood pressure (BP) and carotid blood flows (CBFs) were simultaneously recorded during exposure to air-jet stress. In 5 out of 13 rats, stress was applied after  $\beta_2$ -adrenoceptor blockade with ICI 118551 (0.4 mg/kg, then 0.2 mg/kg/h, i.v.). Stress evoked an immediate rise in BP, CBFs, and vascular conductances. Vasodilatation was much larger on the denervated side than on the intact side (mean  $\pm$  SEM:  $78 \pm 7$  versus  $19 \pm 4\%$ ;  $P < 0.02$ ) and lasted about 10 s. Thereafter, blood flows returned to or near normal and showed parallel variations while BP remained elevated. There was, therefore, a net vasoconstriction on both sides. In ICI 118551-treated rats, the initial vasodilatation was not significantly reduced on the denervated side ( $64 \pm 4\%$ ), but the subsequent vasoconstriction was enhanced ( $P < 0.05$ ) on both sides. In conclusion, air-jet stress evokes an immediate, short-lasting vasodilatation through a mechanism unrelated to  $\beta_2$ -adrenoceptor stimulation. Sympathetic nerves powerfully limit this phenomenon, and thus contribute to protect the cerebral circulation from stress-induced BP surges.

**Keywords:** *Air-jet stress, carotid blood flow, carotid vascular conductance, stroke, superior cervical ganglion, sympathetic nervous system*

### Introduction

It has long been suggested that the sympathetic nervous system contributes to protecting the cerebral microcirculation by facilitating vasoconstriction of cerebral resistance vessels in response to increases in blood pressure (BP) (Sadoshima et al. 1983). This concept was mainly supported by experiments carried out in anesthetized animals in which BP increases were evoked through pharmacological or mechanical interventions. In these studies, it was shown that electrical stimulation of cerebral sympathetic nerves efficiently limited the impact of the BP rises on cerebral blood flow (Busija et al. 1980). There have been few attempts to examine the protective role of the sympathetic nervous system under real-life conditions, i.e. in conscious animals during spontaneous increases in BP. In 2005, Loos et al. reported that increases in cerebral blood flow occurring during the

natural BP surges of rapid-eye-movement (REM) sleep were enhanced after removal of the superior cervical ganglia (SCG) in lambs. Recently, Cassaglia et al. (2009) have described the fluctuations of cerebral sympathetic nerve activity in sleeping lambs. They observed that sympathetic nerve activity collected from the SCG increased during the transient BP surges of REM sleep. Surprisingly, little is known about the role of sympathetic nerves in the control of cerebral hemodynamics during a most common situation of daily life, i.e. exposure to emotional stressors.

In rats, stress can readily be elicited by blowing a jet of air into the cage (Julien et al. 1988; Bajić et al. 2010). This procedure has been shown to evoke the whole pattern of cardiovascular changes typical of the defense reaction, namely increases in BP, heart rate, and renal sympathetic nerve activity, vasoconstriction in visceral organs and vasodilatation in skeletal



muscles (Zhang et al. 1996; Barrès et al. 2004). The objective of the present study was to examine the effects of cerebral sympathetic denervation on cerebrovascular responses to air-jet stress in rats, to test the hypothesis that sympathetic denervation would magnify the effects of stress-induced increases in BP on cerebral hemodynamics. For this purpose, blood flow was measured in both internal carotid arteries and was assumed to provide an approximation of cerebral blood flow in each hemisphere (Kolb et al. 2007). One SCG was excised at the time of probe implantation. It has been shown that chronic ganglionectomy achieves an almost complete unilateral sympathectomy (Kobayashi et al. 1983; Handa et al. 1991). When it is carried out in adult animals, denervation has little or no effect on vascular structure (Bevan and Tsuru 1981) and, therefore, differences in hemodynamic responses can be safely attributed to the presence or absence of sympathetic nerves. Responses of carotid blood flows (CBFs) to air-jet stress were compared in control rats and in rats under blockade of  $\beta_2$ -adrenoceptors. Stimulation of these receptors has indeed been shown to play a major role in hemodynamic adjustments accompanying air-jet stress in rats (Zhang et al. 1996).

## Materials and methods

### *Animals and chronic instrumentation*

Experiments were carried out on 10–12-week-old male Sprague-Dawley rats (Charles River Laboratories, L'Arbresle, France) and were approved by the local Animal Ethics Committee. Groups of 2–3 rats were housed under controlled conditions (temperature:  $21 \pm 1^\circ\text{C}$ , light period: 08:00–20:00 h), and had free access to food and water. After the first surgery, rats were housed in individual cages.

One week before the study, rats were anesthetized with a mixture of xylazine (8 mg/kg i.p.), acepromazine maleate (4 mg/kg i.p.), and ketamine hydrochloride (40 mg/kg i.p.), and received prophylactic injections of penicillin G (50,000 IU s.c.) and ketoprofen (5 mg/kg s.c.). Left and right internal carotid arteries were exposed, and the right SCG was excised. Pulsed Doppler flow probes with a 0.8 mm lumen diameter (Iowa Doppler Products, Iowa City, IA, USA) were placed around both internal carotid arteries. Probe wires were tied to the sternohyoideus muscles. Wires and connectors were tunneled subcutaneously to exit at the back of the neck and were fixed to the skull with dental screws and cement. Rats were allowed to recover from surgery for 6 days. On the seventh day after surgery, under isoflurane anesthesia (2% in oxygen), a polyethylene catheter was inserted into the left femoral artery for BP recording. A catheter was also inserted into the left

femoral vein for drug administration. Rats were allowed to recover from anesthesia overnight.

### *Data collection and experimental protocol*

CBF velocities (expressed in kHz of Doppler shift) were recorded by connecting the probes via the head plug to a directional pulsed Doppler flowmeter (Department of Bioengineering, University of Iowa, Iowa City, IA, USA). BP was measured using a pressure transducer (model TNF-R; Becton Dickinson, Sandy, UT, USA) coupled to an amplifier (model 13-3615-52, Gould, Cleveland, OH, USA).

After a 1- to 2-h acclimatization period, BP and both CBFs were continuously recorded by a computer equipped with a 12-bit A/D converter (model MIO-16-E-10; National Instruments, Austin, TX, USA) and LabVIEW 5.1 software (National Instruments) at 500-Hz sampling rate. Mild stress was elicited by means of a jet of air blown into the cage for 5 min with an air compressor. Stress trials were always carried out between 14:00 and 15:00 h when rats were awake in a quiet, resting state.

In a separate group of rats, the air-jet stress was applied after  $\beta_2$ -adrenoceptor blockade with ICI 118551 (0.4 mg/kg, then 0.2 mg/kg/h i.v.). Pilot experiments indicated that this dose was sufficient to almost abolish cardiovascular responses to isoprenaline (0.5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  i.v.).

At the end of the experiment, rats were euthanized with an intravenous overdose ( $>100$  mg/kg) of pentobarbital sodium.

### *Data analysis*

Individual 500-Hz data files were first replayed and carefully examined to eliminate occasionally occurring artifacts. BP and CBF time series were then resampled at 1 Hz by averaging over consecutive 1-s periods, which provided mean arterial BP and mean CBF. For comparison purpose, each CBF and corresponding carotid vascular conductance (CVC, calculated as the ratio of CBF to BP) were normalized by its mean value calculated over the 60-s period preceding application of the air-jet stress. Quantification of responses to stress included calculation of maximum changes as well as overall changes that were estimated as the sum of areas under and over the curves with the 60-s mean value used for normalization being taken as the reference baseline.

### *Statistics*

All statistical analyses were carried out using VassarStats (<http://faculty.vassar.edu/lowry/vassarstats.html>). Paired comparisons (denervated side versus intact side) were carried out using the Wilcoxon signed-rank test. The Mann-Whitney test was used



for unpaired comparisons (control group data versus ICI 118551-treated group data). Results are expressed as means  $\pm$  SEM. Values of  $P < 0.05$  were considered significant.

## Results

Air-jet stress evoked an immediate rise in BP and in both CBFs and CVCs (Figure 1). Increases in CBF and CVC were much more marked on the denervated side than on the intact side (Figure 1 and Table I).

This difference peaked at  $\sim 5$  s and lasted  $\sim 10$  s (Figure 1). Then, CBFs returned to or near normal levels whereas CVCs became lowered, pointing to a net vasoconstriction on both sides.

Infusion of ICI 118551 did not affect basal BP (1-h mean values of BP were  $108 \pm 4$  and  $109 \pm 6$  mmHg before and during infusion, respectively,  $P = 0.345$  from Wilcoxon signed-rank test). The sequence of stress-induced hemodynamic changes was not altered by  $\beta_2$ -adrenoceptor blockade. The BP increase was, however, more progressive and its overall magnitude

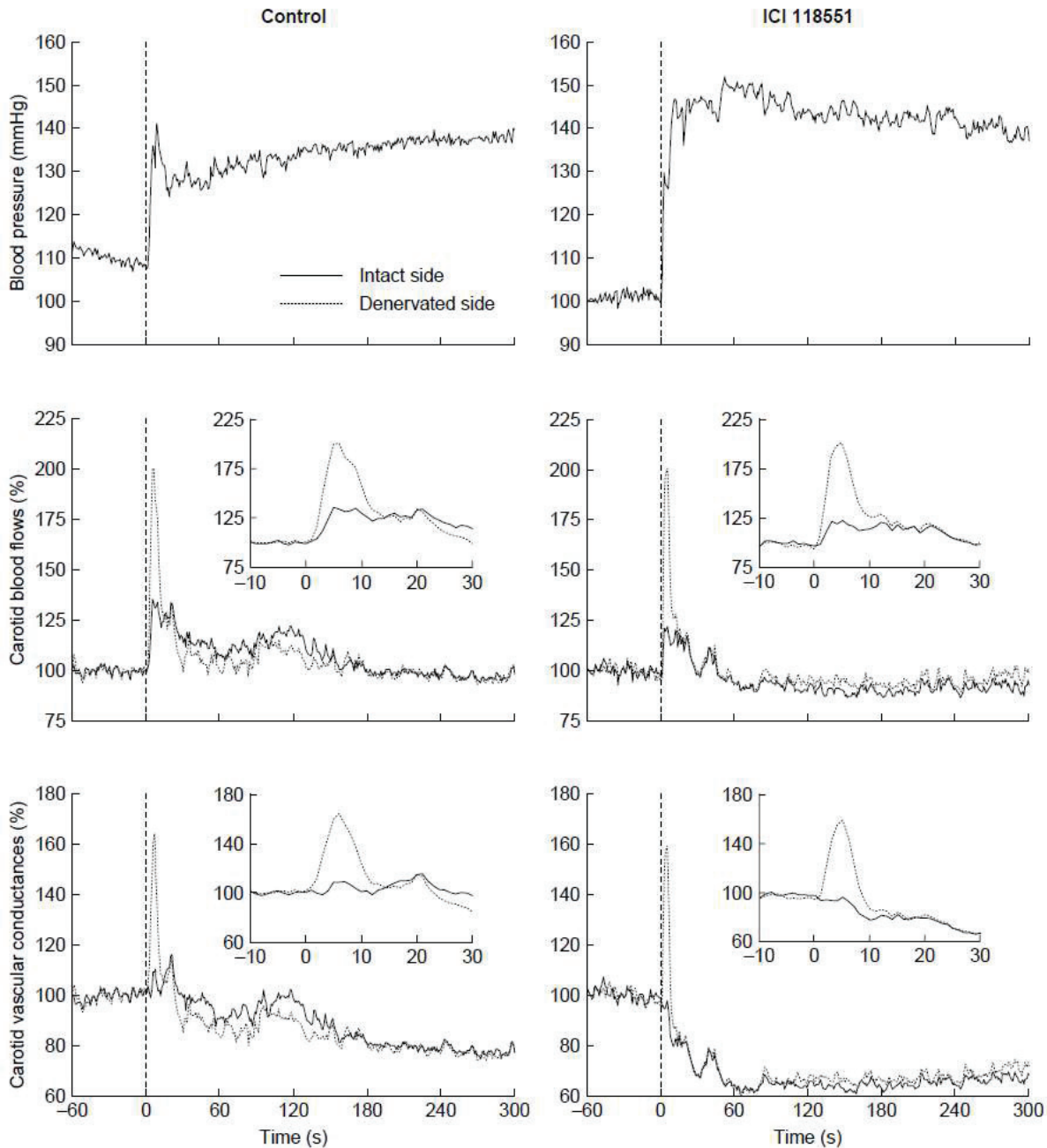


Figure 1. Effects of air-jet stress on BP, CBFs, and vascular conductances in rats with unilateral cervical ganglionectomy. Rats were either untreated (control,  $n = 8$ ) or were receiving an infusion of a  $\beta_2$ -adrenoceptor blocker (ICI 118551,  $n = 5$ ). SE lines have been omitted for legibility. Vertical dashed lines show the onset of the stress trial. The inset graphs show a zoom in of the initial response of CBFs and vascular conductances. Note the much stronger increase in flow and conductance on the denervated side.

Table I. Immediate cerebrovascular responses to air-jet stress in rats with unilateral cervical ganglionectomy.

	$\Delta_{\max}$ (%)		P
	Intact side	Denervated side	
<i>Carotid blood flows</i>			
Control	49.5 ± 8.1	129 ± 11	0.0117
ICI 118551	31.4 ± 3.7	118 ± 6	0.0431
<i>Carotid vascular conductances</i>			
Control	18.6 ± 4.3	78.4 ± 7.3	0.0117
ICI 118551	NM	64.3 ± 4.3	-

$\Delta_{\max}$ , peak increase; NM, non-measurable. Rats were either untreated (control,  $n = 8$ ) or were receiving an infusion of a  $\beta_2$ -adrenoceptor blocker (ICI 118551,  $n = 5$ ).  $P$  values refer to comparisons between intact and denervated sides carried out with the Wilcoxon signed-rank test. All comparisons between control and ICI 118551 groups were not significant by the Mann-Whitney test. Values are means ± SEM.

was significantly enhanced (Figures 1 and 2). On the intact side, the initial increase in CBF was not significantly attenuated ( $P = 0.079$  from Mann-Whitney test) and the vasodilator response was essentially abolished as compared with control rats (Figure 1 and Table I). On the denervated side, the initial increases in CBF and CVC were not significantly altered (Table I). On both sides, the late vasoconstrictor responses were enhanced (Figure 1), which was reflected in the sum of areas under and over the curves (Figure 2).

## Discussion

The main finding of this study is that the cerebrovascular sympathetic innervation limits cerebral vasodilatation at the very beginning of exposure to an emotional stressor, and thus contributes to protect the cerebral circulation from stress-induced BP surges.

### Methodological aspects

Capturing rapid changes in cerebral blood flow requires its continuous recording. In rats, laser Doppler flowmetry can provide a continuous index of cortical cerebral blood flow and this method has been adapted to the conscious freely moving animal (Gu et al. 1999). However, because of the size of the connecting device, the method can only measure blood flow on one side of the brain. As the main objective of the present study was to compare overall cerebrovascular responses to stress in intact and sympathetically denervated hemibrains, we chose to chronically implant pulsed Doppler probes on both internal carotid arteries. The pulsed Doppler technique measures blood velocity and thus does not provide absolute measures of flow, unless probes are calibrated *in situ*, preferably in the living animal, which is not possible for the internal carotid artery of the rat.

Furthermore, the strength of the Doppler signal strongly depends on the angle between probe and blood vessel (Haywood et al. 1981). Slight differences in this angle may exist from artery to artery and from animal to animal, which will result in marked differences in the signal strength. This is especially true in the chronic situation in which small changes in probe position can occur following implantation. For this reason, only acute changes in blood flow can be assessed with this technique, and these changes must be normalized, i.e. expressed as percentage of a

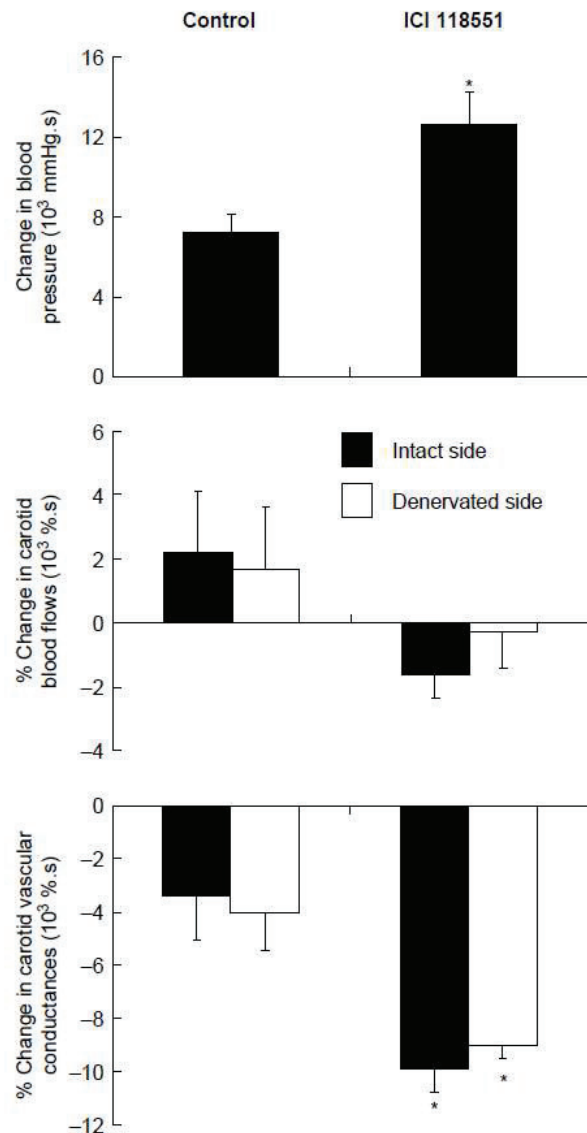


Figure 2. Overall responses of BP, CBFs, and vascular conductances to air-jet stress in conscious rats with unilateral cervical ganglionectomy. Rats were either untreated (control,  $n = 8$ ) or were receiving an infusion of a  $\beta_2$ -adrenoceptor blocker (ICI 118551,  $n = 5$ ). For each variable, stress-induced changes were estimated as the sum of areas under and over the curves that were calculated from the stress onset up to the termination of the jet of air (5 min). Values are means ± SEM. \* $P < 0.05$  versus respective control (Mann-Whitney test).



baseline value. An alternative method would have been to measure CBF with transit-time flow probes which measure true volumetric flow rate (Kolb et al. 2007). However, the size and rigidity of the transit-time probe and wire limit their use in the chronic setting. The small, soft, and flexible Doppler probes were usually well tolerated and all the rats included in the present study had regained or exceeded their initial bodyweight 6 days after surgery.

Unilateral ganglionectomy was carried out at the same time as probe implantation. The 1-week post-operative recovery time was an ideal duration to ensure complete degeneration of sympathetic nerves before the occurrence of significant reinnervation (Kobayashi et al. 1983, Handa et al. 1991).

#### *Responses to air-jet stress*

Air-jet stress evoked an immediate and short-lasting increase in CBF that was markedly enhanced on the ganglionectomized side. Yu and Blessing (1997) also reported a transient increase in CBF at the onset of various alerting stimuli in rabbits, but they did not investigate the role of adrenergic mechanisms in this response. In the present study, acute  $\beta_2$ -adrenoceptor blockade did not significantly attenuate this response on both sides, indicating that the mechanism of CBF increase was not stimulation of  $\beta_2$ -adrenoceptors by circulating adrenaline. Calculation of CVCs revealed that the increase in CBF was mostly secondary to the rise in BP on the intact side, whereas a strong vasodilatation occurred on the denervated side. The mechanism of this vasodilatation cannot be inferred from the present study. An attractive working hypothesis would involve a flow-induced mechanism. Discrepant results have been reported regarding the effect of flow on cerebral vascular tone in rats. Flow-induced constriction has been observed in isolated cerebral vessels (Bryan et al. 2001), whereas flow-induced dilatation has been observed *in vivo* (Paravicini et al. 2006). The kinetics of the vasodilatation observed in the present study would be compatible with a shear stress-induced release of nitric oxide (Nafz et al. 1997). Alternatively, or additionally, passive distension of large cerebral arteries might account for at least part of the observed increase in CVC at the onset of stress. Whatever the mechanism of the early stress-induced vasodilatation, it was efficiently blunted by sympathetic nerves, possibly through a baroreflex mechanism, as suggested by the recent observation that phenylephrine increases sympathetic nerve activity in the SCG of anesthetized lambs (Cassaglia et al. 2008). Another possibility that cannot be excluded is that vascular tone was lower in denervated vessels. Consequently, pressure-induced arterial distension would be larger on the denervated side, resulting in an enhanced increase in CVC.

After the initial stress-induced increase in CBFs, flows returned to or near normal and vasoconstriction developed on both sides. This delayed vasoconstriction might be due, at least partly, to the action of increased levels of circulating noradrenaline. Other mechanisms such as the myogenic response are likely to be involved. The kinetics of the myogenic responses of the rat cerebral vasculature has been described (Kolb et al. 2007) and would be compatible with the kinetics of stress-induced vasoconstriction. After  $\beta_2$ -adrenoceptor blockade, vasoconstrictor responses to stress were increased on both sides. It is of note that the pressor response to stress was also enhanced, most probably due to blunting of vasodilatation in skeletal muscles, as previously reported (Zhang et al. 1996). A larger stress-induced increase in BP would in turn evoke a stronger vasoconstrictor, myogenic response. Therefore,  $\beta_2$ -adrenoceptors take part in the regulation of cerebrovascular tone during air-jet stress in rats, either directly through their stimulation by circulating adrenaline in the cerebral vasculature, or indirectly through blunting of a pressure-induced myogenic response.

#### *Conclusion and perspectives*

Recently, BP variability has been recognized as a strong predictor of stroke, independent of mean BP (Rothwell et al. 2010). In rats, pressor responses to stress are positively correlated with spontaneous BP variability (Julien et al. 1988) and thus, probably contribute to this BP variability. These responses are mediated by sympathetic nervous activation (Barron and Van Loon 1989). The present study brings direct support to the hypothesis that the sympathetic nervous system plays a protective role against stress-induced BP surges. The apparent paradox is that the same system is responsible for producing BP increases and for protecting the cerebral vasculature during air-jet stress. Our hypothesis is that a common regulatory mechanism, namely the arterial baroreceptor reflex, determines both the amplitude of the pressor response (Zhang et al. 1996; Barrès et al. 2004) and the strength of the sympathetically mediated cerebral vasoconstriction during stress. This demonstration can provide an explanation for the intriguing observation that baroreflex sensitivity and life expectancy are positively correlated in stroke prone hypertensive rats (Liu et al. 2007).

**Declaration of interest:** The authors report no conflicts of interest. The authors alone are responsible for the content and writing of the paper.

#### **References**

- Bajić D, Loncar-Turukalo T, Stojčić S, Sarenac O, Bojić T, Murphy D, Paton JF, Japundžić-Zigon N. 2010. Temporal analysis of the



- spontaneous baroreceptor reflex during mild emotional stress in the rat. *Stress* 13:142–154.
- Barrès C, Cheng Y, Julien C. 2004. Steady-state and dynamic responses of renal sympathetic nerve activity to air-jet stress in sinoaortic denervated rats. *Hypertension* 43:629–635.
- Barron BA, Van Loon GR. 1989. Role of sympathoadrenomedullary system in cardiovascular response to stress in rats. *J Auton Nerv Syst* 28:179–187.
- Bevan RD, Tsuru H. 1981. Functional and structural changes in the rabbit ear artery after sympathetic denervation. *Circ Res* 49:478–485.
- Bryan RM, Marrelli SP, Steenberg ML, Schildmeyer LA, Johnson TD. 2001. Effects of luminal shear stress on cerebral arteries and arterioles. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 280:H2011–H2022.
- Busija DW, Heistad DD, Marcus ML. 1980. Effects of sympathetic nerves on cerebral vessels during acute, moderate increases in arterial pressure in dogs and cats. *Circ Res* 46:696–702.
- Cassaglia PA, Griffiths RI, Walker AM. 2008. Sympathetic nerve activity in the superior cervical ganglia increases in response to imposed increases in arterial pressure. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 294:R1255–R1261.
- Cassaglia PA, Griffiths RI, Walker AM. 2009. Cerebral sympathetic nerve activity has a major regulatory role in the cerebral circulation in REM sleep. *J Appl Physiol* 106:1050–1056.
- Gu WG, Jiang W, Brännström T, Wester P. 1999. Long-term cortical CBF recording by laser-Doppler flowmetry in awake freely moving rats subjected to reversible photothrombotic stroke. *J Neurosci Methods* 90:23–32.
- Handa Y, Nojyo Y, Hayashi M. 1991. Patterns of reinnervation of denervated cerebral arteries by sympathetic nerve fibers after unilateral ganglionectomy in rats. *Exp Brain Res* 86:82–89.
- Haywood JR, Shaffer RA, Fastenow C, Fink GD, Brody MJ. 1981. Regional blood flow measurement with pulsed Doppler flowmeter in conscious rat. *Am J Physiol* 241:H273–H278.
- Julien C, Cerutti C, Kandza P, Barrès C, Su D, Vincent M, Sassard J. 1988. Cardiovascular response to emotional stress and spontaneous blood pressure variability in genetically hypertensive rats of the Lyon strain. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 15:533–538.
- Kobayashi S, Tsukahara S, Tsuji T, Sugita K, Nagata T. 1983. Histochemical studies on the regeneration of aminergic nerves in rat cerebral artery after superior cervical ganglionectomy. *Histochemistry* 77:57–62.
- Kolb B, Rotella DL, Stauss HM. 2007. Frequency response characteristics of cerebral blood flow autoregulation in rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 292:H432–H438.
- Liu AJ, Ma XJ, Shen FM, Liu JG, Chen H, Su DF. 2007. Arterial baroreflex: A novel target for preventing stroke in rat hypertension. *Stroke* 38:1916–1923.
- Loos N, Grant DA, Wild J, Paul S, Barfield C, Zoccoli G, Franzini C, Walker AM. 2005. Sympathetic nervous control of the cerebral circulation in sleep. *J Sleep Res* 14:275–283.
- Nafz B, Wagner CD, Persson PB. 1997. Endogenous nitric oxide buffers blood pressure variability between 0.2 and 0.6 Hz in the conscious rat. *Am J Physiol* 272:H632–H637.
- Paravicini TM, Miller AA, Drummond GR, Sobey CG. 2006. Flow-induced cerebral vasodilation *in vivo* involves activation of phosphatidylinositol-3 kinase, NADPH-oxidase, and nitric oxide synthase. *J Cereb Blood Flow Metab* 26:836–845.
- Rothwell PM, Howard SC, Dolan E, O'Brien E, Dobson JE, Dahlöf B, Sever PS, Poulter NR. 2010. Prognostic significance of visit-to-visit variability, maximum systolic blood pressure, and episodic hypertension. *Lancet* 375:895–905.
- Sadoshima S, Busija DW, Heistad DD. 1983. Mechanisms of protection against stroke in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Am J Physiol* 244:H406–H412.
- Yu YH, Blessing WW. 1997. Acute increases in forebrain blood flow during alerting responses in conscious rabbits. *Brain Res* 767:1–7.
- Zhang ZQ, Julien C, Barrès C. 1996. Baroreceptor modulation of regional haemodynamic responses to acute stress in rat. *J Auton Nerv Syst* 60:23–30.

### **RÉSULTATS COMPLÉMENTAIRES DE L'ÉTUDE DES EFFETS DU STRESS (1):**

L'étude des effets du stress a été réalisée aussi dans des groupes de rats intacts (n = 6) et dénervés bilatéralement (n = 5), ceci, afin de vérifier, notamment, si les effets hémodynamiques observés sont équivalents entre les hémisphères gauche et droit dans ces groupes de rats. Ces deux groupes ont permis également une comparaison non appariée des effets hémodynamiques du stress qui vérifie les effets observés chez les rats dénervés unilatéralement.

Cette partie du travail expérimental n'a pas été publiée.

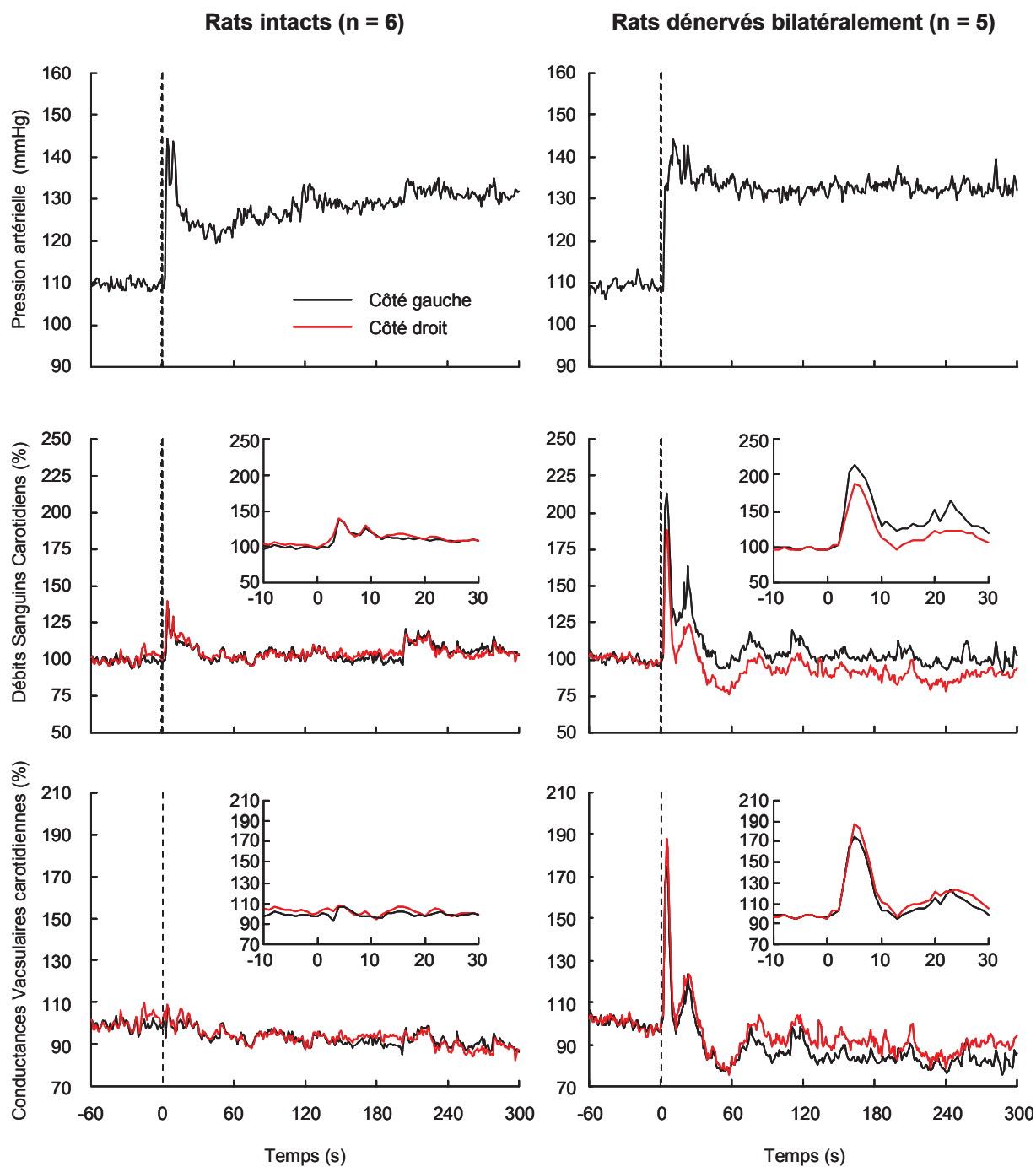
#### **Résultats**

Chez les animaux intacts, comme chez les animaux dénervés, le stress du jet d'air provoque une augmentation immédiate de la PA et des DSCa (figure 41). Cependant le comportement des CVCa entre les groupes de rats intacts et dénervés diffère, une vasodilatation initiale étant présente chez les rats dénervé et absente chez les rats intacts (figure 41).

Au sein de chaque groupe, les réponses des circulations gauche et droite ne sont pas significativement différentes (tableau 1). Cependant, l'hyperémie et la vasodilatation sont significativement plus marquées chez les rats dénervés bilatéralement que chez les rats intacts (figure 41 et tableau 1). Cette différence, comme chez les rats dénervés unilatéralement, est maximale environ 5 secondes après le début du stress et dure environ 10 secondes (figure 41).

Par la suite, les DSCa retournent globalement à leur niveau moyen. Comme la PA reste augmentée, il se développe progressivement une vasoconstriction des deux côtés dans chaque groupe de rats (figure 41 et figure 42) de la même façon que chez les rats dénervés unilatéralement. Les réponses globales au stress des DSCa et des CVCa ne diffèrent pas entre les côtés pour chaque groupe et entre les groupes de rats pour chaque variable (figure 42).





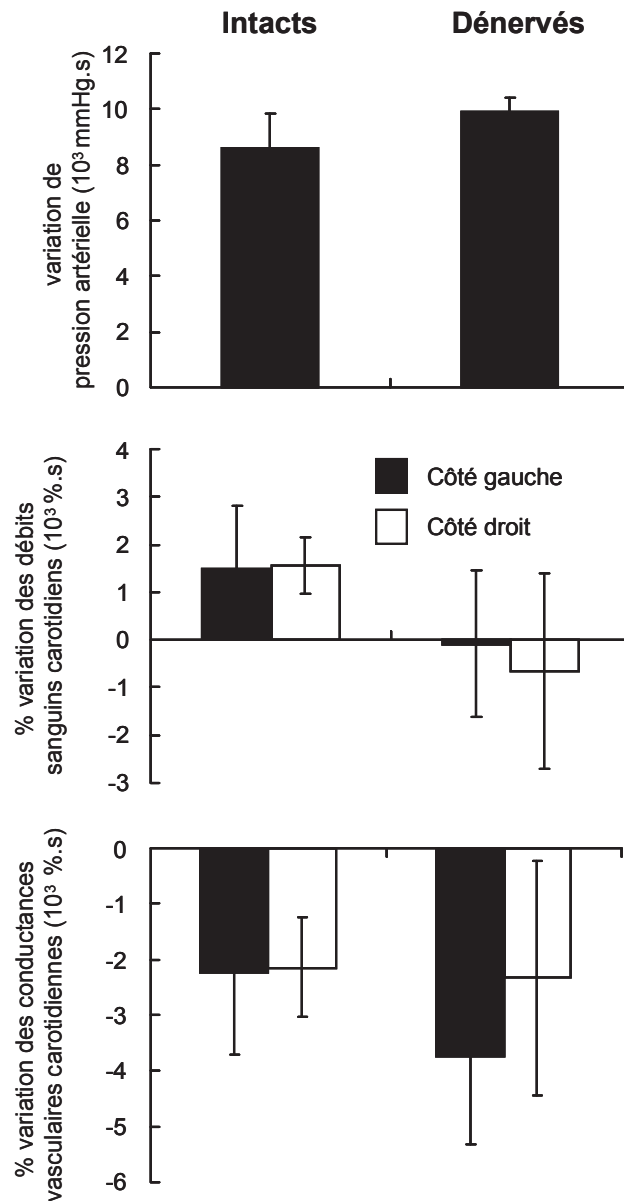
**Figure 41** : Effet du stress du jet d'air sur la pression artérielle, les débits sanguins carotidiens et les conductances vasculaires carotidiennes dans les groupes de rats intacts et dénervés bilatéralement. Les SEM n'ont pas été représentées dans un souci de lisibilité. Les lignes pointillées verticales représentent le début du test de stress. Les graphiques insérés présentent un agrandissement de la réponse initiale des débits sanguins carotidiens et de leurs conductances vasculaires associées. **Noter que dans chaque groupe de rats, les réponses des débits sanguins carotidiens et de leurs conductances vasculaires associées ne diffèrent pas significativement entre les hémisphères gauche et droit.**

**Tableau 1**

Réponses cérébrovasculaires immédiates au stress du jet d'air chez des rats intacts ( $n = 6$ ) et des rats avec ganglionectomie bilatérale ( $n = 5$ ).

	$\Delta_{\max}$ (%)		<i>P</i>
	Rats intacts	Rats dénervés bilatéralement	
Débits sanguins carotidiens			
Côté gauche	42 ± 16	128 ± 12	0,0062
Côté droit	43 ± 15	141 ± 3	0,0062
Conductances vasculaires carotidiennes			
Côté gauche	11,6 ± 7,3	82 ± 9	0,0062
Côté droit	12,6 ± 6,3	95 ± 7	0,0062

$\Delta_{\max}$ , effet maximum. La valeur de *P* fait référence aux comparaisons entre rats intacts et rats dénervés réalisées à l'aide d'un test de Mann et Whitney. Toutes les comparaisons entre les côtés gauche et droit à l'intérieur de chaque groupe ne sont pas significatives selon le test de rang de Wilcoxon. Les valeurs sont des moyennes ± SEM.



**Figure 42 :** Réponses globales au stress du jet d'air de la pression artérielle, des débits sanguins carotidiens et des conductances vasculaires carotidiennes dans le groupe de 6 rats intacts et de 5 rats avec ganglionectomie cervicale bilatérale. Pour chaque variable, la variation induite par le stress est estimée comme la somme des aires sous et sur la courbe qui ont été calculées à partir du début du stress jusqu'à l'arrêt du jet d'air (5 min). Les valeurs sont des moyennes  $\pm$  SEM. Les comparaisons des côtés et des groupes pour chaque variable n'ont pas fait apparaître de différences significatives..

## **Discussion**

La similitude des réponses hémodynamiques au stress dans chaque hémisphère cérébral au sein des deux groupes de rats intacts et dénervés confirme que les différences observées entre les deux côtés chez les rats dénervés unilatéralement sont bien dues à la dénervation sympathique.

De plus, les différences observées entre les réponses hémodynamiques des rats intacts et celles des rats dénervés sont parfaitement cohérentes avec les résultats obtenus chez les rats dénervés unilatéralement.

Au total, cette partie non publiée du travail expérimental confirme pleinement les résultats et conclusions de l'étude publiée.



### **RÉSULTATS COMPLÉMENTAIRES DE L'ÉTUDE DES EFFETS DU STRESS (2):**

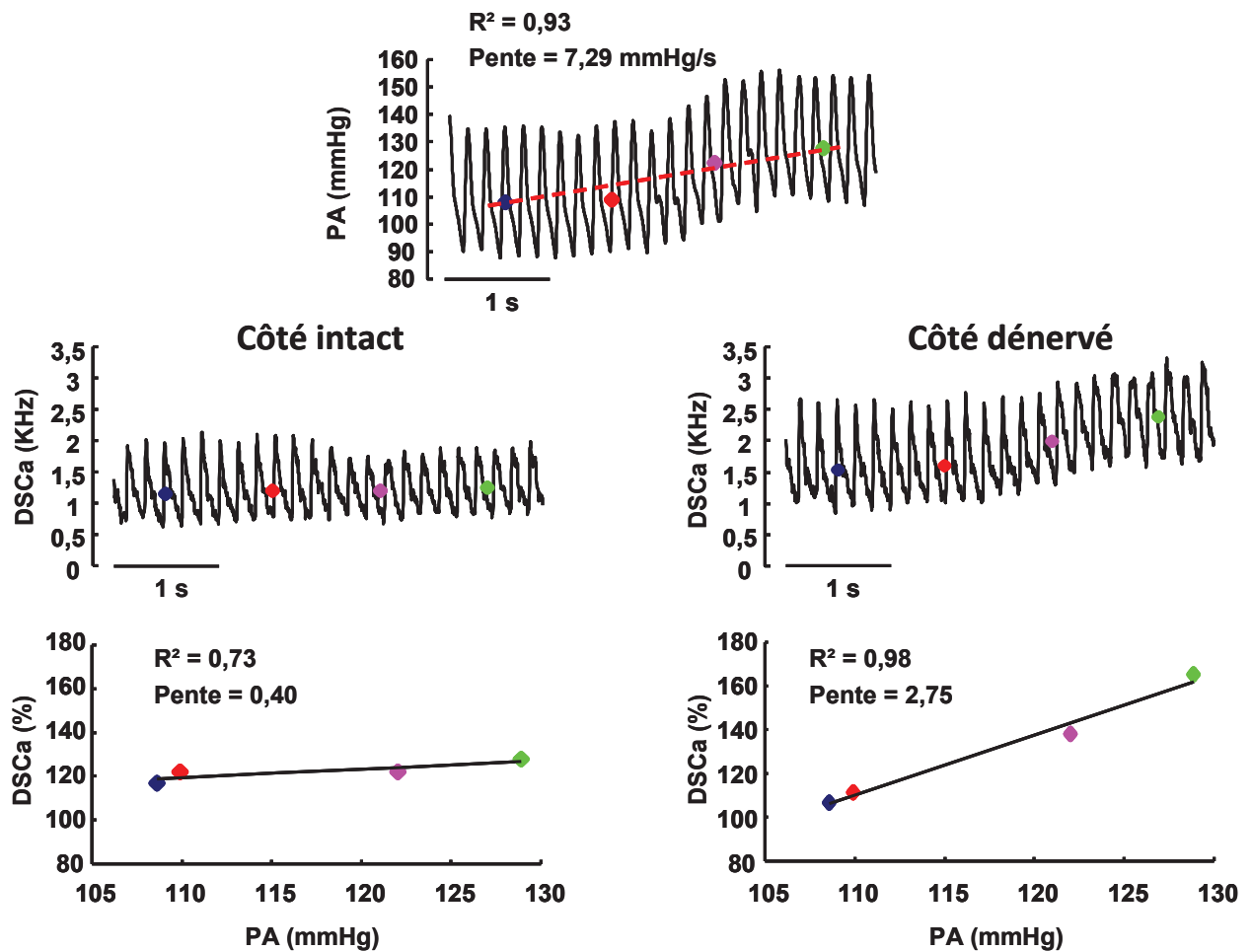
#### **ANALYSE DANS LE DOMAINE TEMPOREL DE LA VARIABILITÉ SPONTANÉE DES DÉBITS CAROTIDIENS**

Nous avons recherché si les différences de comportement des DSCa observées au cours du stress entre les côtés intact et dénervé se produisent spontanément dans les conditions de base, c'est-à-dire lorsque les animaux sont maintenus dans un environnement calme en l'absence de tout stress provoqué.

L'analyse des données est présentée dans la partie Matériel et Méthodes (voir chap. V, 5.2.2. p. 93) et repose sur l'étude des corrélations entre les épisodes d'augmentation spontanée de PA et les variations concomitantes des DSCa gauche et droit dans les deux groupes de rats intacts et avec dénervation unilatérale (figure 43).

#### **Résultats**

Comme l'indique le tableau 2, le nombre moyen d'épisodes presseurs (3 s, pente  $\geq 4$  mmHg/s) est de l'ordre de la trentaine dans chaque groupe pour une période d'environ 4h. Ce nombre d'épisodes presseurs n'est pas significativement différent ( $P = 0,5$ ) entre les deux groupes de rats intacts et dénervés unilatéralement.



**Figure 43 :** (A) Exemple d'enregistrement d'une augmentation continue de la PA (3s, pente  $\geq 4$  mmHg/s) et des variations concomitantes des DSCa des côtés intact et dénervé chez un rat avec dénervation unilatérale. (B) Régressions linéaires PA/DSCa côté intact et PA/DSCa côté dénervé obtenues à partir des enregistrements rééchantillonnés à 1Hz. Les valeurs de DSCa sont normalisées par la valeur moyenne calculée sur toute la période d'enregistrement, soit 246 min.

Dans les deux groupes de rats, les coefficients de détermination ( $R^2$ ) obtenus ne diffèrent pas pour les régressions linéaires entre la PA et les débits gauche et droit. Les  $R^2$  ne sont également pas significativement différents entre les groupes (tableau 2). Dans le groupe de rats intacts les pentes des droites de régression linéaire PA/DSCa ne sont pas différentes entre les côtés gauche et droit, alors que dans le groupe de rats dénervés, la pente de la régression PA/DSCa du côté dénervé est significativement plus élevée que celle de la régression PA/DSCa du côté intact (tableau 2).

**Tableau 2**

Corrélations moyennes entre les augmentations spontanées de PA et les variations concomitantes de DSCa

	Corrélation PA/DSCa gauche	Corrélation PA/DSCa droit	<i>P</i>
Rats intacts ( <i>n</i> = 6)			
Nombre d'épisodes		28 ± 7	
R <sup>2</sup>	0,76 ± 0,03	0,77 ± 0,04	0,6002
Pente (un/mmHg)	0,87 ± 0,07	0,93 ± 0,02	0,7532
Rats dénervés ( <i>n</i> = 8)			
Nombre d'épisodes		37 ± 8	
R <sup>2</sup>	0,77 ± 0,02	0,69 ± 0,04	0,1235
Pente (un/mmHg)	0,79 ± 0,07	1,08 ± 0,08	0,0117

*Les valeurs sont des moyennes ± SEM. Les valeurs de P font référence à la comparaison entre les côtés gauche et droit effectuée avec le test des rangs de Wilcoxon.*

*Dans le groupe de rats dénervés, l'exérèse du GCS est réalisée du côté droit.*

## Discussion

Sur la période d'enregistrement d'environ 4h dans les conditions de base d'environ 4h, le nombre d'épisodes presseurs spontanés avec une pente supérieure ou égale à 4mmHg/s pendant 3 s est faible, de l'ordre de 5 à 10 par heure selon les animaux. Cette observation était attendue puisque l'enregistrement des variables a été réalisé dans un environnement calme, avec un minimum d'interventions extérieures pouvant perturber l'animal.

L'analyse des corrélations PA/DSCa des côtés gauche et droit a révélé, pour les rats dénervés unilatéralement, une pente plus forte pour la corrélation PA/DSCa du côté dénervé que pour la corrélation PA/DSCa du côté intact alors que les pentes des corrélations ne sont pas significativement différentes dans le groupe de rats intacts. Les résultats de cette analyse sont en accord avec l'observation que le DSCa augmente plus du côté dénervé que



du côté intact au cours de l'augmentation initiale de PA induite par le stress du jet d'air (Revel et coll., 2011).

Cette étude révèle donc que l'innervation sympathique à destinée cérébrale, atténuée l'augmentation de DSCa au cours d'augmentations importantes et rapides de la PA survenant spontanément. Cette observation conforte l'hypothèse d'un rôle protecteur de l'innervation sympathique cérébrovasculaire face aux augmentations de PA.

Par ailleurs, il serait intéressant de reproduire cet enregistrement dans une situation où l'animal n'est pas placé dans des conditions de calme peu favorables au déclenchement d'événements presseurs.

### RÉSULTATS (2) :

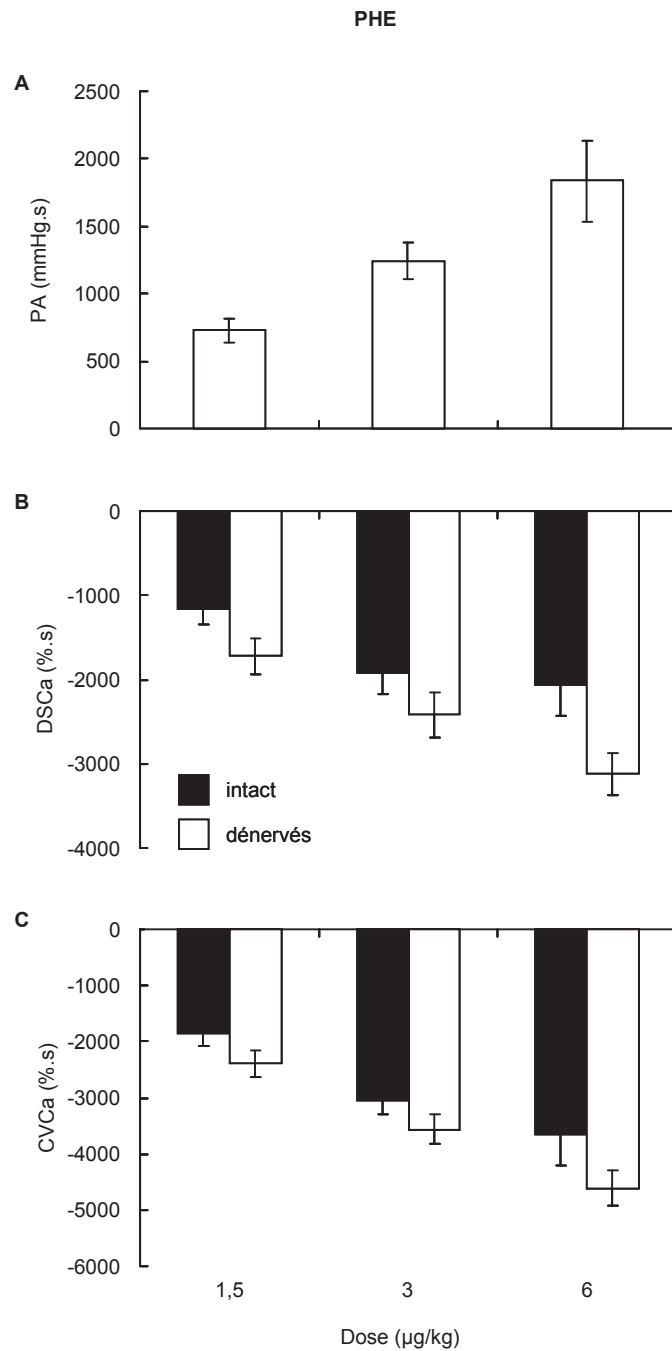
#### EFFETS D'UNE SYMPATHECTOMIE CERVICALE UNILATÉRALE OU BILATÉRALE CHRONIQUE SUR LES RÉPONSES CÉRÉBROVASCULAIRES À DES SUBSTANCES VASOACTIVES CHEZ LE RAT VIGIL

Cette étude pharmacologique a été réalisée afin de 1/ valider le modèle du rat éveillé avec exérèse unilatérale du GCS et 2/ obtenir des éléments d'interprétation des conséquences fonctionnelles de la dénervation sympathique. Le protocole pharmacologique a été réalisé après l'application du stress du jet d'air dans les trois groupes de rats intacts, dénervés bilatéralement et unilatéralement.

Cette étude n'a pas pour l'instant fait l'objet d'une publication et seuls les résultats obtenus chez les rats avec dénervation unilatérale sont présentés dans le manuscrit.

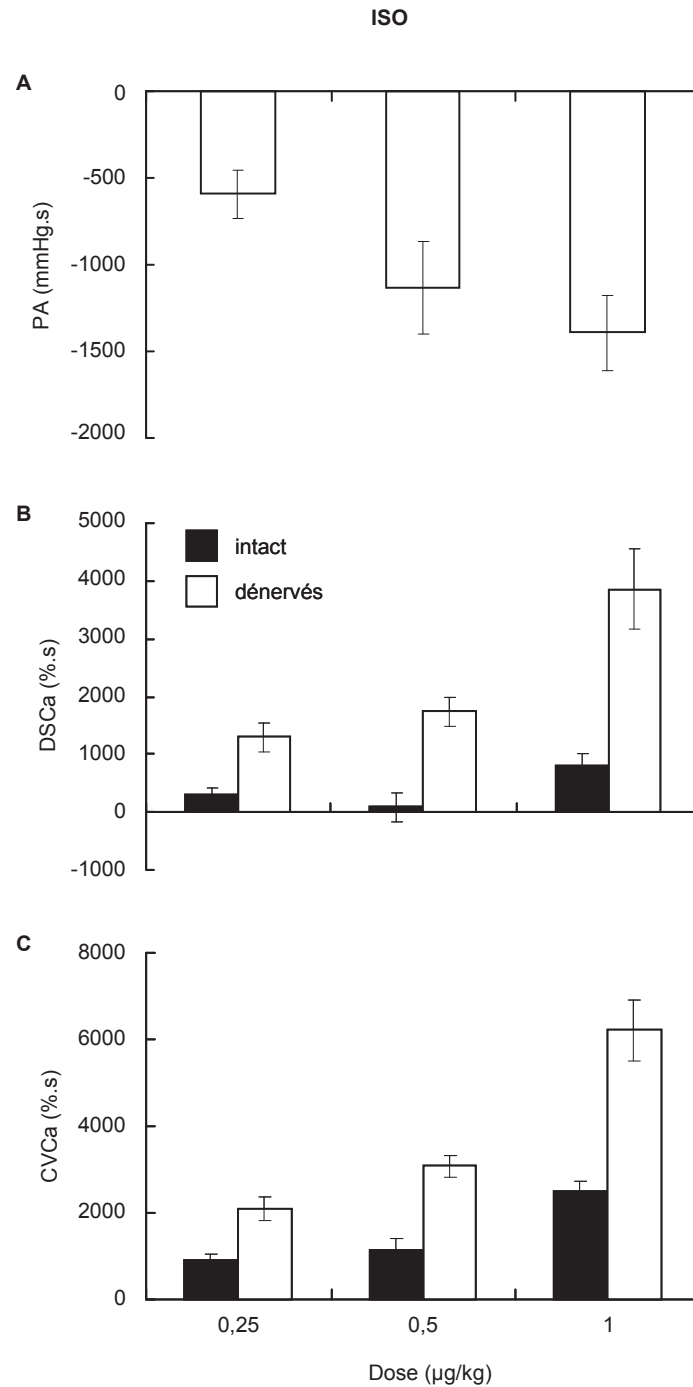
#### **Résultats**

La phényléphrine augmente la PA et diminue les DSCa et les CVCa (figure 44) dans les trois groupes de rats. Les réponses vasoconstrictrices sont significativement ( $P < 0,02$ ) augmentées du côté dénervé comparé au côté intact.



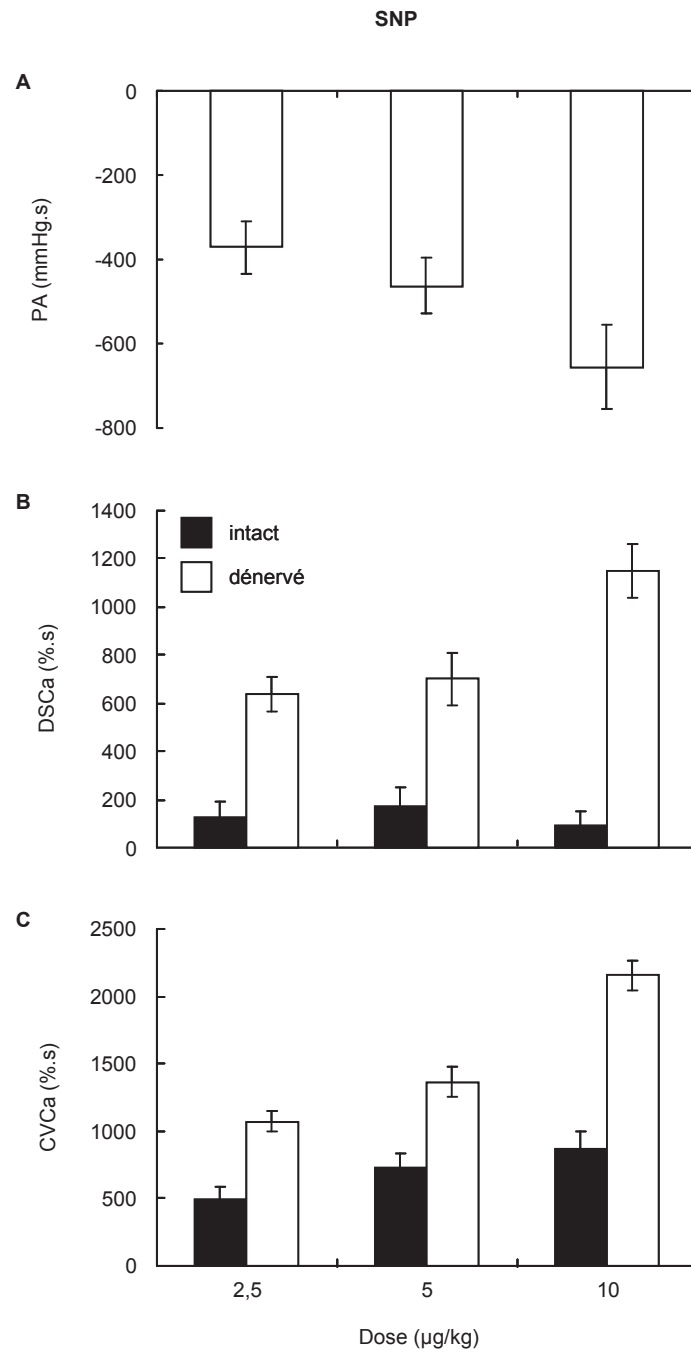
**Figure 44** : (A) Réponses de la pression artérielle (PA), (B) des débits sanguins carotidiens (DSCa) et (C) des conductances vasculaires carotidiennes (CVCa) à l'administration i.v. de doses croissantes de phényléphrine (PHE) chez des rats conscients ( $n = 8$ ) ayant subi une ganglionectomie cervicale unilatérale chronique. Pour chaque variable, la réponse est estimée comme la somme des aires sur et sous la courbe calculée à partir du temps d'injection jusqu'au retour à la valeur de base. Les valeurs sont des moyennes  $\pm$  SEM.

L'isoprénaline diminue la PA et augmente les DSCa et les CVCa (figure 45). Les réponses vasodilatatrices sont plus que doublées ( $P < 0,0001$ ) du côté dénervé comparé au côté intact.

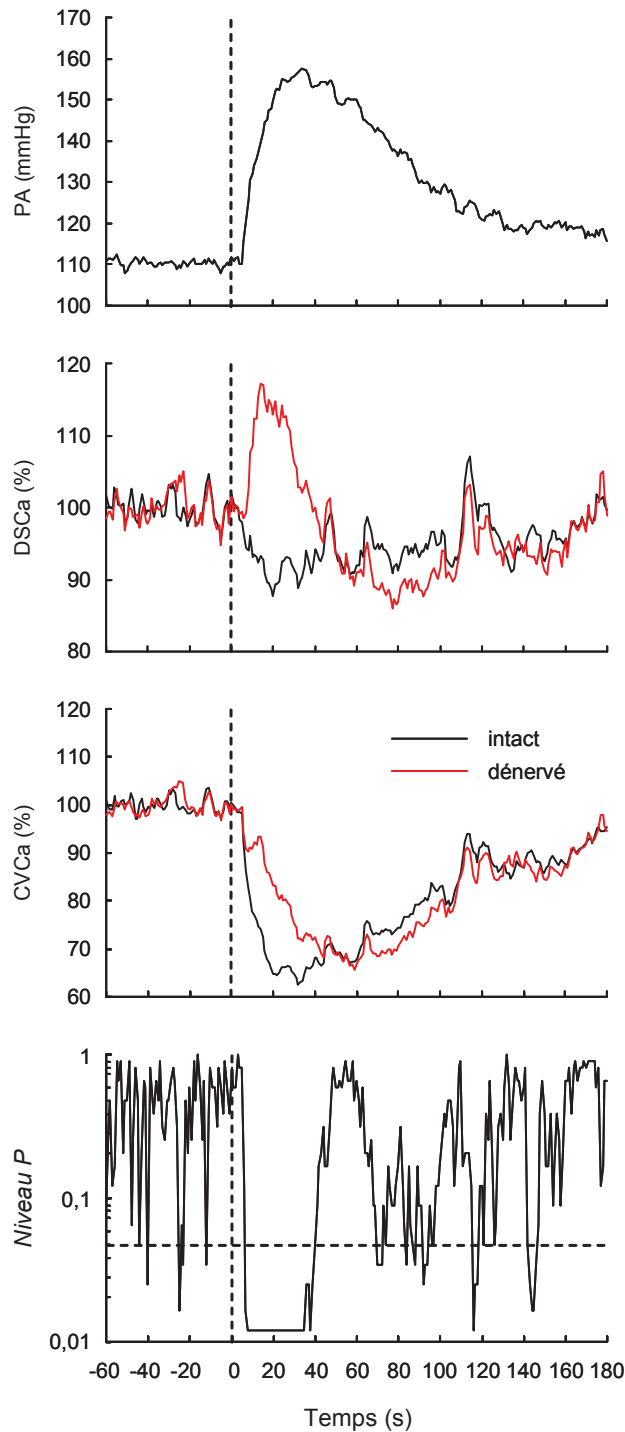


**Figure 45 :** (A) Réponses de la pression artérielle (PA), (B) des débits sanguins carotidiens (DSCa) et (C) des conductances vasculaires carotidiennes (CVCa) à l'administration i.v. de doses croissantes d'isoprénaline (ISO) chez des rats conscients ( $n = 8$ ) ayant subi une ganglionectomie cervicale unilatérale chronique. Pour chaque variable, la réponse est estimée comme la somme des aires sur et sous la courbe calculée à partir du temps d'injection jusqu'au retour à la valeur de base. Les valeurs sont des moyennes  $\pm$  SEM.

Le nitroprussiate de sodium diminue la PA et augmente les DSCa et les CVCa (figure 46). Les réponses vasodilatatrices sont plus que doublées ( $P < 0,0001$ ) du côté dénervé comparé au côté intact.



**Figure 46 :** (A) Réponses de la pression artérielle (PA), (B) des débits sanguins carotidiens (DSCa) et (C) des conductances vasculaires carotidiennes (CVCa) à l'administration i.v. de doses croissantes de nitroprussiate de sodium (SNP) chez des rats conscients ( $n = 8$ ) ayant subi une ganglionectomie cervicale unilatérale chronique. Pour chaque variable, la réponse est estimée comme la somme des aires sur et sous la courbe calculée à partir du temps d'injection jusqu'au retour à la valeur de base. Les valeurs sont des moyennes  $\pm$  SEM.



**Figure 47 :** Effet de l'administration i.v. de tyramine (250  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) sur la pression artérielle (PA), les débits sanguins carotidiens (DSCa) et les conductances vasculaires carotidiennes (CVCa) chez des rats conscients ayant subi une ganglionectomie cervicale unilatérale chronique. Les SEM ne sont pas représentées dans un souci de lisibilité. Le temps d'injection est représenté par la ligne pointillée verticale. Le graphe du bas montre les valeurs de P de la comparaison statistique effectuée point par point à l'aide du test de Wilcoxon entre la CVCa du côté intact et la CVCa du côté dénervé. La différence est significative chaque fois que la valeur de P est en dessous de la ligne pointillée horizontale ( $P=0,05$ ). Les tracés sont des séries temporelles rééchantillonnées à 1Hz.

Les réponses à la tyramine diffèrent entre le côté intact et le côté dénervé. Presque immédiatement après l'injection de la tyramine, le DSCa augmente transitoirement du côté dénervé alors qu'il tend à diminuer du côté intact (figure 47). La vasoconstriction du côté dénervé est donc retardée ( $P < 0,0001$ ) par rapport au côté intact (tableau 3). Bien que l'amplitude maximale de la réponse vasoconstrictrice soit légèrement ( $P < 0,05$ ) réduite du côté dénervé, la réponse globale est presque identique des deux côtés (tableau 3).

**Tableau 3**

Effets de l'administration intraveineuse de tyramine sur les conductances vasculaires chez 8 rats conscients avec ganglionectomie cervicale unilatérale

Tyramine dose ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	$\Delta_{\text{max}}$ (%)		$t_{\text{max}}$ (s)		$\Sigma$ aires (%.s)	
	côté intact	côté dénervé	côté intact	côté dénervé	côté intact	côté dénervé
125	$-26,7 \pm 2,2$	$-22,8 \pm 2,3$	$20,8 \pm 3,2$	$45,9 \pm 4,6$	$-1739 \pm 263$	$-1712 \pm 249$
250	$-38,8 \pm 1,5$	$-35,3 \pm 1,5$	$33,0 \pm 4,6$	$61,6 \pm 4,0$	$-3395 \pm 282$	$-3228 \pm 206$
500	$-46,1 \pm 3,0$	$-38,8 \pm 4,3$	$36,8 \pm 7,2$	$78,5 \pm 6,0$	$-3826 \pm 779$	$-3773 \pm 836$
ANOVA						
côté	$P=0,0363$		$P < 0,0001$		$P=0,7729$	
dose	$P < 0,0001$		$P=0,0133$		$P=0,0089$	
Interaction	$P=0,0722$		$P=0,1154$		$P=0,8966$	

$\Delta_{\text{max}}$ , variation maximum de la CVCa;  $t_{\text{max}}$ , délai pour atteindre la variation maximum;  $\Sigma$  aires, variation globale de la CVCa estimée par la somme des aires sous et sur la courbe calculée à partir du temps d'injection jusqu'au retour à la valeur de base. Les valeurs sont des moyennes  $\pm$  SEM.

La chlorisondamine induit une forte chute de la PA accompagnée d'une vasodilatation marquée. L'augmentation maximale des CVCa est observée 2 min environ après l'injection de chlorisondamine. Cette vasodilatation est diminuée de près de 50 % ( $P < 0,02$ ) du côté dénervé ( $37 \pm 8$  %) par rapport au côté intact ( $69 \pm 13$  %).

## Discussion

L'une des caractéristiques de la circulation cérébrale est la présence de la BHE. De ce fait, il est communément admis qu'une majorité de substances pharmacologiques, dont les catécholamines et le nitroprussiate de sodium n'ont pas d'effet sur la circulation cérébrale (Tzeng et coll., 2010). Pour la phényléphrine, le point de vue classique est que la BHE empêche les catécholamines circulantes de se lier aux récepteurs  $\alpha$ -adrénergiques des artérioles cérébrales. Cependant, les larges artères cérébrales, qui n'ont pas de BHE, contribuent fortement aux résistances vasculaires cérébrales totales (Faraci & Heistad, 1990) et répondent à la noradrénaline (Omar et Marshall, 2010). L'une des raisons de cette controverse sur les effets des catécholamines sur l'hémodynamique cérébrale provient en partie de la difficulté de mesurer le débit sanguin global de cette circulation particulière que ce soit chez l'Homme ou chez l'animal. En effet, la majorité des méthodes utilisées pour mesurer le débit sanguin cérébral sont des méthodes statiques, ne permettant pas la mesure en continu du débit, et/ou mesurant seulement un débit local. Or, la cinétique des effets cardiovasculaires d'injections intraveineuses de substances comme la phényléphrine, le nitroprussiate de sodium ou encore la tyramine est rapide (de l'ordre de 2-3 minutes), d'où la nécessité d'enregistrer en continu les variables cardiovasculaires considérées. Ainsi, la mesure du DSC global est préférable pour ce type d'étude. En effet, comme cela a déjà été mentionné (voir chap. IV, 2.4. p. 80), chez le lapin la mesure du débit sanguin dans l'artère carotide interne fournit un bon index du débit sanguin dans l'hémisphère cérébral ipsilatéral (Yu et coll., 1996).

Dans notre étude, l'injection intraveineuse de phényléphrine induit un effet vasoconstricteur cérébral. Il faut noter que la phényléphrine induit une diminution immédiate des DSCa, indiquant un effet vasoconstricteur direct puissant de la stimulation  $\alpha$ -adrénergique sur les vaisseaux cérébraux chez le rat vigile. Il a été observé que cette vasoconstriction était légèrement plus marquée du côté dénervé que du côté intact, dans le groupe ayant subi une exérèse unilatérale du GCS. Cette différence pourrait s'expliquer par une hypersensibilité de dénervation.

Les réponses hyperémiques et vasodilatatrices à l'isoprénaline sont fortement augmentées du côté dénervé par rapport au côté intact, ce qui là aussi pourrait traduire, au moins en partie, une hypersensibilité de dénervation des récepteurs  $\beta_2$ -adrénergiques.

L'administration intraveineuse du nitroprussiate de sodium, donneur de NO, induit une hyperémie et une vasodilatation cérébrales. Cette observation est compatible avec un effet vasodilatateur direct du nitroprussiate de sodium sur les vaisseaux cérébraux (Schumann-



Bard et coll., 2005). La vasodilatation est plus marquée du côté dénervé que du côté intact. L'explication la plus simple serait qu'une activation sympathique baroréflexe s'opposerait à l'effet vasodilatateur induit par le nitroprussiate de sodium. Cette interprétation pourrait aussi rendre compte des effets vasodilatateurs augmentés de l'isoprénaline du côté dénervé. Cependant, cette interprétation n'est pas en accord avec les observations de Cassaglia et coll. (2008b) chez des agneaux anesthésiés. Ces auteurs ont rapporté que l'injection de nitroprussiate de sodium n'augmente pas l'ANS enregistrée au niveau du GCS. Cependant, aucune étude ne montre que le nitroprussiate de sodium exerce un effet vasodilatateur direct sur la circulation cérébrale d'agneaux anesthésiés par le chloralose.

Concernant les effets de la tyramine, le résultat attendu était une réduction de la réponse vasoconstrictrice du côté dénervé (Alborch et coll., 1977), réduction qui n'a pas été observée chez nos rats. La seule différence marquante observée entre les deux côtés est un retard de l'effet vasoconstricteur. La tyramine, lorsqu'elle est administrée par voie intraveineuse, induit, après un certain délai, une augmentation de la concentration plasmatique de noradrénaline (Leenen et coll., 1992). Notre hypothèse est que la réponse vasoconstrictrice retardée observée après ganglionectomie est le résultat de l'action de la noradrénaline circulante, action retardée donc par rapport à l'action immédiate de la noradrénaline neuronale libérée par la tyramine du côté intact.

Enfin, la présence d'un tonus sympathique vasoconstricteur de base est démontrée par une réponse vasodilatatrice à la chlorisondamine environ deux fois supérieure du côté intact que du côté dénervé. Un tonus adrénergique vasoconstricteur a déjà été rapporté pour la circulation cérébrale de chèvres éveillées (Fernández et coll., 2001). Une ANS tonique a également été enregistrée au niveau du GCS d'agneaux non anesthésiés (Cassaglia et coll., 2009). La vasodilatation résiduelle observée du côté dénervé pourrait être le résultat d'une réponse myogénique à la chute de PA.

L'ensemble de ces résultats est en accord avec un rôle fonctionnel significatif de l'innervation sympathique cérébrovasculaire chez le rat vigilant.

### RÉSULTATS (3) :

#### EFFETS D'UNE SYMPATHECTOMIE CERVICALE CHRONIQUE SUR L'HÉMODYNAMIQUE CÉRÉBRALE CHEZ LE RAT VIGIL

Article : Effect of chronic cervical ganglionectomy on the spontaneous variability of internal carotid blood flow in the conscious rat  
Revel A, Gallet C, Oréa V, Chapuis C, Barrès C, Julien C  
*J Exp Physiol* soumis pour publication.

À notre connaissance, le rôle du système nerveux sympathique dans le contrôle des fluctuations spontanées du DSC n'a, jusqu'à maintenant, pas été étudié. Dans ce contexte, l'objectif de cette étude était donc d'évaluer l'implication de l'innervation sympathique dans les fluctuations spontanées du DSC chez le rat conscient.

L'approche expérimentale consistait à évaluer chez le rat éveillé les variations spontanées du DSC en présence et en l'absence d'innervation sympathique. Pour ce faire, nous avons mesuré simultanément la PA et les débits sanguins dans les deux carotides internes (DSCa) chez 14 rats adultes éveillés dont 8 ont subi l'exérèse du GCS droit une semaine avant l'étude et 6 chez lesquels les GCS ont été conservés intacts. Les mesures ont été réalisées en continu au cours d'une période d'activité normale d'environ 4 heures.

La PA et les DSCa ont été enregistrés à la fréquence de 500 Hz. Après rééchantillonnage à la fréquence de 20 Hz, la variabilité des DSCa a été étudiée par analyse spectrale simple et croisée au moyen d'algorithmes de transformée de Fourier rapide sur une période de 246 min divisée en 9 périodes consécutives de 27,3 min.

Dans le groupe intact, l'analyse spectrale ne montre aucune différence de variabilité entre les débits gauche et droit quelles que soient les fréquences étudiées, comme l'indique le calcul des puissances spectrales dans les différentes bandes. Chez les rats avec ganglionectomie, la puissance spectrale du DSCa est augmentée d'environ 40% du côté

dénervé dans les basses fréquences ( $< 1$  Hz). L'analyse des cohérences entre les DSCa gauche et droit montre un découplage des DSCa chez les rats avec ganglionectomie dans la bande de fréquences 0,01-0,1 Hz. En effet, dans cette bande, la cohérence est significativement plus faible dans le groupe de rats dénervés que dans le groupe de rats intacts. La cohérence DSCa gauche – DSCa droit reste significativement plus faible, dans cette bande de fréquences, chez les rats dénervés comparés aux rats intacts après élimination mathématique de l'influence de la PA (partialisation).

L'innervation sympathique atténue donc la variabilité spontanée du DSCa chez le rat vigilant. Le rôle modulateur de cette innervation est particulièrement important dans la bande de fréquence 0,01-0,1 Hz et n'apparaît pas relié aux fluctuations tensionnelles.

# **Effect of chronic cervical ganglionectomy on the spontaneous variability of internal carotid blood flow in the conscious rat**

Aurélia Revel, Clément Gallet, Valérie Oréa, Bruno Chapuis, Christian Barrès and  
Claude Julien

*Unité de Neurocardiologie, Faculté de Pharmacie, Université Lyon 1, F-69008 Lyon, France*

Running title: Sympathectomy and carotid blood flow variability

Keywords: carotid blood flow; spectral analysis; sympathetic nervous system

Word count: 2585

Subject area: Autonomic neuroscience

Corresponding author:

Claude Julien

Faculté de Pharmacie

8, avenue Rockefeller

69373 Lyon Cedex 08, France

Email: [claud.julien@univ-lyon1.fr](mailto:claud.julien@univ-lyon1.fr)

## Abstract

The role of sympathetic innervation in the control of spontaneous fluctuations of cerebral blood flow is still poorly understood. In conscious, unrestrained rats, blood flow velocity (pulsed Doppler) was measured in both internal carotid arteries one week after either excision of the right superior cervical ganglion ( $n = 8$ ) or sham surgery ( $n = 6$ ). Using Fourier-based techniques, spectral power of each carotid blood flow (CBF) was computed over the whole recording period (246 min) that was segmented into 9 consecutive 27.3-min periods. Variability of CBF (spectral power) was ~40% higher ( $P < 0.02$ ) on the denervated than on the intact side at frequencies  $< 1$  Hz. Coherence between left and right CBFs was similar in the 2 groups of rats, except in the 0.01-0.1 Hz frequency range where it was lower ( $P < 0.05$ ) in rats with unilateral sympathectomy ( $0.54 \pm 0.03$ ) as compared with intact ( $0.74 \pm 0.06$ ) rats. In this frequency range, mathematically removing the influence of arterial pressure had little effect on coherence between CBFs in both groups of rats so that coherence remained significantly lower in rats with unilateral sympathectomy ( $0.52 \pm 0.03$ ) than in intact ( $0.70 \pm 0.06$ ) rats. This study indicates that sympathetic innervation has an overall buffering influence on CBF variability. This modulating role is especially important in a frequency range corresponding to slow fluctuations of CBF (lasting from 10 to 100 s) which are essentially unrelated to fluctuations of AP.

## Introduction

Since the advent of non invasive techniques for its continuous monitoring, it has been recognized that cerebral blood flow shows a marked, spontaneous variability in healthy humans. Both time and frequency domain methods have revealed that most of this variability consists of slow, apparently random fluctuations (reviewed in Panerai, 2009). The mechanisms responsible for these fluctuations remain, however, somewhat elusive. In particular, the role of the sympathetic innervation of cerebral blood vessels is still controversial (van Lieshout & Secher, 2008).

In animals, studies on cerebral blood flow variability are very scarce. Yu & Blessing (1997) have reported that in conscious rabbits exposed to undefined alerting stimuli (busy laboratory), 1-h beat-to-beat recordings of forebrain blood flow yielded coefficients of variation near 25-30 %. In the latter study, forebrain blood flow was estimated by measuring blood velocity in the internal carotid artery with a chronically implanted pulsed Doppler probe. This technique has been validated in the rabbit (Yu *et al.* 1996). In anesthetized rats, assessment of dynamic cerebral autoregulation has also been performed by using internal carotid blood flow measurements (Kolb *et al.* 2007). This seems justified because the anatomy of the cerebral circulation of rabbits and rats share striking similarities (Edvinsson *et al.* 1993).

In a previous study, we examined the effects of emotional stress (air jet) on cerebral hemodynamics in rats (Revel *et al.* 2011). Blood flow was measured simultaneously in both internal carotid arteries with pulsed Doppler probes. To assess the role of the sympathetic innervation in cerebrovascular responses to stress, one superior cervical ganglion (SCG) had been excised at the time of probe implantation, i.e. one week prior to the study. This technique is a validated procedure to achieve an extensive, ipsilateral sympathectomy (Kobayashi *et al.* 1983; Handa *et al.* 1991).

In the present study, we aimed at assessing the role of cerebral sympathetic nerves in the spontaneous variability of cerebral blood flow of conscious rats. Data collected under

baseline conditions in rats of our previous study (Revel *et al.* 2011) were compared with those collected in rats with an intact sympathetic innervation by using frequency domain methods.

## Methods

### Animals

Experiments were performed on 10 to 12 weeks old male Sprague-Dawley rats (Charles River Laboratories, L'Arbresle, France). Animals were housed under controlled conditions (temperature:  $21 \pm 1$  °C, lights on: 08:00-20:00 h) and had free access to food and water.

All experiments were approved by the Lyon 1 University's Animal Ethics Committee (protocol n° BH2009-21).

### Chronic instrumentation

One week before the study, rats were anesthetized with a mixture of xylazine ( $8 \text{ mg kg}^{-1}$  I.P.), acepromazine maleate ( $4 \text{ mg kg}^{-1}$  I.P.) and ketamine hydrochloride ( $40 \text{ mg kg}^{-1}$  I.P.), and received injections of penicillin G (50,000 i.u. S.C.) and ketoprofen ( $5 \text{ mg kg}^{-1}$  S.C.). After a ventral midline incision of the neck and bilateral retraction of the sternohyoideus muscles, left and right internal carotid arteries were dissected carefully, and the right SCG was excised in the group of denervated rats ( $n = 8$ ), and left intact in the group of intact rats ( $n = 6$ ). Pulsed Doppler flow probes with a 0.8 mm lumen diameter (Iowa Doppler Products, Iowa City, IA, USA) were placed around the isolated portion of both internal carotid arteries. Probe wires were tied to the sternohyoideus muscles. Connectors were tunnelled subcutaneously to exit at the back of the neck and were fixed to the skull with dental screws and cement. Rats were allowed to recover from surgery for 6 days. On the seventh day, rats were anesthetized with isoflurane (2% in oxygen), and a catheter (heat-stretched PE-10 fused to a PE-50 extension) was inserted into the abdominal aorta through the left femoral artery for arterial pressure (AP) recording. The arterial catheter was led under the skin to exit between the scapulae and was filled with a solution of polyvinylpyrrolidone ( $500 \text{ mg ml}^{-1}$ ) to prevent blood diffusion. Rats were allowed to recover from anaesthesia overnight so that experiments were started 20-22 h after catheter implantation.



## Data collection and experimental protocol

AP was measured using a pressure transducer (model TNF-R; Becton Dickinson, Sandy, UT, USA) coupled to an amplifier (model 13-3615-52, Gould, Cleveland, OH, USA). Carotid blood flow velocities (referred to as carotid blood flows [CBFs] in the following text) were recorded by connecting the head plug to a directional pulsed Doppler flowmeter (Department of Bioengineering, University of Iowa, Iowa city, IA, USA).

After a 1- to 2-h acclimatization period, AP and both CBFs were continuously sampled (500 Hz) by a computer equipped with an analog-to-digital interface (model MIO-16-E-10; National Instruments, Austin, TX, USA) and LabVIEW 5.1 software (National Instruments). The recording session lasted at least 246 min and took place between 9:00 and 14:00 h.

At the end of the experiment, rats were euthanized with a lethal dose of pentobarbital sodium ( $> 100 \text{ mg kg}^{-1}$  I.V.).

## Data analysis

Individual 500-Hz data files were first replayed and inspected to remove occasional artefacts. AP and both CBFs were then resampled at 20 Hz by averaging over consecutive 50-ms periods. As probes were not calibrated, all CBF data were normalized by their respective means that were calculated over the whole recording period chosen for analysis (246 min). Spectral analysis was performed using a Fast Fourier transform algorithm, as previously described (Létienne *et al.* 1998; Pires *et al.* 2001). For a 246-min recording period, 17 data sets of 32768 points (27.3-min) overlapping by half were processed. The frequency resolution was therefore 0.0006 Hz.

The squared coherence function was calculated to quantify the strength of linear coupling between the left and right CBF in each group of rats. The significance threshold ( $P < 0.05$ ) for coherence was 0.179 in this case (Gallet *et al.* 2011). The contribution of AP to the relation between CBFs was examined by calculating the partial coherence, which mathematically removed the influence of AP from the relation (Kocsis, 1995; Koopmans,

1995). Variance of coherence spectra was reduced by using a progressive smoothing procedure (Castiglioni *et al.* 1999).

### **Statistics**

All data are presented as means  $\pm$  SEM. Paired and unpaired comparisons were performed using the Wilcoxon signed-rank test and the Mann-Whitney test, respectively.  $P < 0.05$  was considered significant.

## Results

Body weight, mean AP and heart rate were similar in intact ( $375 \pm 12$  g;  $117 \pm 4$  mmHg;  $361 \pm 11$  beats  $\text{min}^{-1}$ ) and denervated ( $364 \pm 7$  g;  $116 \pm 2$  mmHg;  $357 \pm 9$  beats  $\text{min}^{-1}$ ) rats.

### Frequency domain analysis of CBF variability

In the group of intact rats, spectral power did not significantly differ between the left and right sides across all frequencies (Figure 1 and Table 1). In the group of denervated rats, variability was significantly enhanced by ~40% on the denervated (right) side in the low and very low frequency bands (< 1 Hz) (Figure 1 and Table 2).

In both intact and denervated rats, Figure 2 shows that coherence between CBFs was significant across the whole spectrum, and was especially high at heart rate (5 - 7 Hz) and Mayer waves' (~0.4 Hz) frequencies. Coherence significantly differed between the 2 groups of rats in the 0.01 - 0.1 Hz frequency band where it was lower (Figure 2) in rats with unilateral denervation ( $0.54 \pm 0.03$ ) compared with intact ( $0.74 \pm 0.06$ ) rats.

In both groups of rats, partialization with AP strongly reduced coherence at heart rate and Mayer waves' frequencies, but only slightly decreased it at low frequencies (Figure 3). In the 0.01 – 0.1 Hz frequency band, this decrease reached significance ( $P = 0.028$ ) in intact ( $0.70 \pm 0.06$ ) but not in denervated ( $0.52 \pm 0.03$ ) rats. In this particular frequency range, the between-group difference in coherence remained essentially unaltered after partialization.

## Discussion

The results of the present study indicate that the cerebrovascular sympathetic innervation attenuates the spontaneous variability of CBF in rats. Sympathetic influences are especially important in a frequency range corresponding to slow fluctuations of CBF (lasting from 10 to 100 s) which are mostly intrinsic to the cerebral circulation, i.e. are not directly caused by AP fluctuations.

In a previous study (Revel *et al.* 2011), we used this study design, where one-side sympathetic denervation of the internal carotid vascular bed was achieved by removing one SCG, so that the other side served as control. This made it possible to show that air-jet stress induced an immediate, short-lasting cerebral vasodilatation that was efficiently restricted by vascular sympathetic nerves. This finding led us to propose that the cerebrovascular sympathetic innervation contributes to protect the cerebral circulation from stress-induced AP surges. In the present study, we were interested in the role of cerebral sympathetic nerves in modulating the spontaneous variations of cerebral blood flow in conscious rats. For this purpose, we used data recorded in rats of our previous study (Revel *et al.* 2011) under baseline conditions, i.e. in undisturbed animals maintained in a quiet environment. Recordings lasted at least 4 h so that slow fluctuations could be analyzed. To help interpret the differences in variability profiles between intact and denervated sides, an additional group of rats with both SCG intact was studied. In these animals, we assumed that a strong coupling between the two CBFs would be observed so that any kind of uncoupling in denervated rats could be attributed to the absence of sympathetic nerves.

The first important finding of the present study is that CBF exhibited substantial spontaneous variability, which agrees with a previous report in rabbits (Yu & Blessing, 1997). Most of this variability (75 to 80 %, see Tables 1 and 2) was concentrated in the low and very low frequency ranges (< 0.1 Hz), and no clear peak was visible below 0.4 Hz (Mayer waves frequency). This finding accords with a series of observations made in conscious humans with the use of the transcranial Doppler ultrasound technique (Panerai, 2009). In the present

study, there was a linear trend in the power spectra of CBF data (when plotted on a log-log scale). In other words, most of CBF variability consisted of slow, non rhythmic fluctuations. While sympathetic denervation did not noticeably alter this variability profile, it did induce a significant increase (~40%) in the spectral power at low frequencies, which suggests that sympathetic nerves exert a buffering influence on slow CBF variability. Interestingly, faster fluctuations (> 1 Hz), and especially cardiac related oscillations, were not augmented on the denervated side. This finding is of importance because it provides a strong indication that mechanical properties of cerebral arteries were not altered by sympathectomy, as the transfer from the AP pulse to flow wave was unaltered. Accordingly, it is known that chronic sympathetic denervation alters vascular structure and function when it is performed in growing but not in adult animals (Bevan & Tsuru, 1981; Baumbach *et al.* 1989). We, therefore, suggest that increased low frequency variability of CBF on the denervated side was not a consequence of changes in arterial distensibility. The mechanism of the buffering influence of sympathetic innervation at low frequencies is unclear. It may be that sympathetic activity facilitates myogenic responses at frequencies < 0.1 Hz (Meininger & Faber, 1991; Kolb *et al.* 2007) and thus contributes to stabilize CBF in the face of AP fluctuations. At frequencies > 0.1 Hz, the main cause of variability in regional blood flows derives from AP Mayer waves (Julien *et al.* 1995). Mayer waves are generated by rhythmic fluctuations in several regional sympathetic activities (reviewed in Julien, 2006). It is not known, however, if cerebrovascular sympathetic activity exhibits such rhythm. In the CBF spectra, Mayer waves appeared as a break point rather than a well-defined peak. This indicates that cerebrovascular resistances showed cyclical changes at this frequency. The disappearance of such oscillations on the denervated side would result in enhanced fluctuations of CBF, which was indeed observed. It is thus likely that cerebrovascular sympathetic activity oscillates to some extent at the frequency of Mayer waves. Direct recordings in conscious animals (Cheng *et al.* 2004) are needed to definitely answer this question.

The second important finding relates to the effect of unilateral sympathectomy on the coherence computed between the two CBFs. As expected, ordinary coherence was quite

high in control, intact rats, especially at heart rate and Mayer waves' frequency. Coherence was also strong at frequencies  $< 0.1$  Hz. Interestingly, partialization of coherence using the AP signal had little effect in the low frequency range, indicating that the mechanisms responsible for the coupling between the two CBFs were largely unrelated to AP. Accordingly, coherence between AP and CBFs was low in this frequency range (data not shown). Many factors operating with long time constants can be involved in slow CBF variability, such as metabolic autoregulation and changes in arterial  $p\text{CO}_2$ . In rats with unilateral ganglionectomy, coherence was also high at low frequencies and was unaltered after partialization. However, both ordinary and partial coherences in the 0.01-0.1 Hz frequency band were significantly lowered by denervation. This observation indicates that cerebral sympathetic activity produces a specific pattern of variations which are responsible for part of the spectral power in this frequency band. After denervation, partial uncoupling occurred between the two internal carotid vascular beds. Because it was still observed after partialization with AP, this effect was unrelated to AP fluctuations.

In conclusion, the present study indicates that the cerebrovascular sympathetic innervation modulates the spontaneous cerebral hemodynamics under conditions of low environmental stress, apart from being involved in buffering acute stress-induced AP increases (Revel *et al.* 2011). Its action is especially important in a frequency range where a large number of factors can act to alter cerebral blood flow. Direct recordings of cerebral sympathetic activity will allow clarifying its precise mechanisms of action.

## References

- Baumbach GL, Heistad DD & Siems JE (1989). Effect of sympathetic nerves on composition and distensibility of cerebral arterioles in rats. *J Physiol* **416**, 123-40.
- Bevan RD & Tsuru H (1981). Functional and structural changes in the rabbit ear artery after sympathetic denervation. *Circ Res* **49**, 478-85.
- Castiglioni P, Parati G, Omboni S, Mancina G, Imholz BP, Wesseling KH & Di Rienzo M (1999). Broad-band spectral analysis of 24 h continuous finger blood pressure: comparison with intra-arterial recordings. *Clin Sci (Lond)* **97**, 129-139.
- Cheng Y, Cohen B, Oréa V, Barrès C & Julien C (2004). Baroreflex control of renal sympathetic nerve activity and spontaneous rhythms at Mayer wave's frequency in rats. *Auton Neurosci* **111**, 80-88.
- Edvinsson L, MacKenzie ET & McCulloch J (1993). General and comparative anatomy of the cerebral circulation. In *Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 1st edn, ed. Edvinsson L & Krause DN, pp. 3-39. Lippincott Williams & Wilkins, New York.
- Gallet C & Julien C (2011). The significance threshold for coherence when using the Welch's periodogram method: effect of overlapping segments. *Biomed Signal Process Control* **6**, 405-409.
- Handa Y, Nojyo Y, Hayashi M (1991). Patterns of reinnervation of denervated cerebral arteries by sympathetic nerve fibers after unilateral ganglionectomy in rats. *Exp Brain Res* **86**, 82-89.
- Julien C (2006). The enigma of Mayer waves: Facts and models. *Cardiovasc Res* **70**, 12-21.
- Julien C, Zhang ZQ, Cerutti C & Barrès C (1995). Hemodynamic analysis of arterial pressure oscillations in conscious rats. *J Auton Nerv Syst* **50**, 239-252.

- Kobayashi S, Tsukahara S, Tsuji T, Sugita K, Nagata T (1983). Histochemical studies on the regeneration of aminergic nerves in rat cerebral artery after superior cervical ganglionectomy. *Histochemistry* **77**, 57–62.
- Kocsis B (1995). Baroreceptor influence on the relationships between discharges of different sympathetic nerves of the cat. *J Physiol* **482**, 687-696.
- Kolb B, Rotella DL & Stauss HM (2007). Frequency response characteristics of cerebral blood flow autoregulation in rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* **292**, H432-H438.
- Koopmans LH (1995). *The Spectral Analysis of Time Series*, 2nd Edition. Academic Press, San Diego.
- Létienne R, Barrès C, Cerutti C & Julien C (1998). Short-term haemodynamic variability in the conscious areflexic rat. *J Physiol* **506**, 263-274.
- Meininger GA & Faber JE (1991). Adrenergic facilitation of myogenic response in skeletal muscle arterioles. *Am J Physiol* **260**, H1424-H1432.
- Panerai RB (2009). Complexity of the human cerebral circulation. *Philos Transact A Math Phys Eng Sci* **367**, 1319-1336.
- Pires SL, Barrès C, Sassard J & Julien C (2001). Renal blood flow dynamics and arterial pressure lability in the conscious rat. *Hypertension* **38**, 147-152.
- Revel A, Oréa V, Chapuis C, Barrès C & Julien C (2011). Role of the sympathetic nervous system in cerebrovascular responses to air-jet stress in rats. *Stress*, DOI: 10.3109/10253890.2011.597901.
- van Lieshout JJ, Secher NH (2008). Point:Counterpoint: Sympathetic activity does/does not influence cerebral blood flow. Point: Sympathetic activity does influence cerebral blood flow. *J Appl Physiol* **105**, 1364-1366.



Yu YH, Blessing WW (1997). Acute increases in forebrain blood flow during alerting responses in conscious rabbits. *Brain Res* 767: 1-7.

Yu YH, Zhu BS, Blessing WW (1996). Continuous measurement of change in internal carotid and vertebral arterial blood flow with chronically implanted ultrasonic Doppler probes in anesthetized and conscious rabbits . *J Cereb Blood Flow Metab* 16: 1058-1076.

**Table 1. Spectral analysis of internal carotid blood flows in 6 conscious intact rats**

spectral powers (nu <sup>2</sup> )	left side	right side	<i>P</i>
0.0012 - 0.01 Hz	51 ± 11	68 ± 13	0.2489
0.01 - 0.1 Hz	36 ± 5	42 ± 6	0.5282
0.1 - 1 Hz	28 ± 3	31 ± 3	0.3454
1 - 10 Hz	345 ± 41	362 ± 30	0.6002

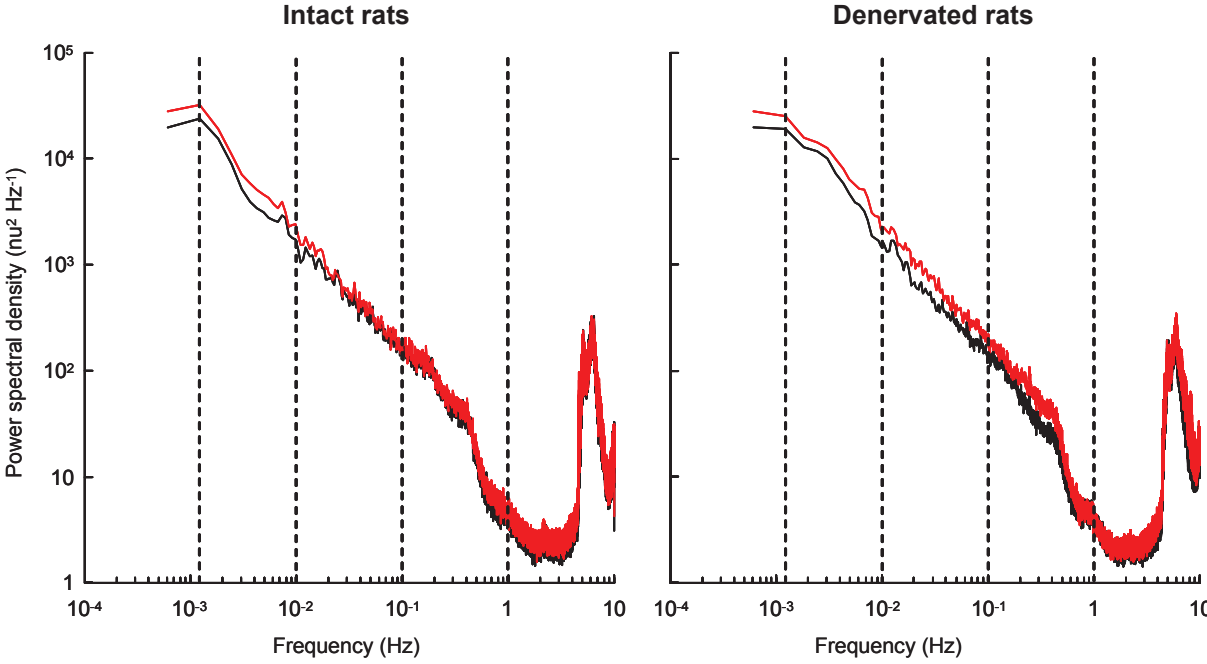
Values are means ± SEM. nu indicates normalized units. Spectral powers were calculated by integration over selected frequency bands as indicated by their boundaries. *P* values refer to the comparison between left and right sides using the Wilcoxon signed-rank test.

**Table 2. Spectral analysis of internal carotid blood flows in 8 conscious rats with right cervical ganglionectomy**

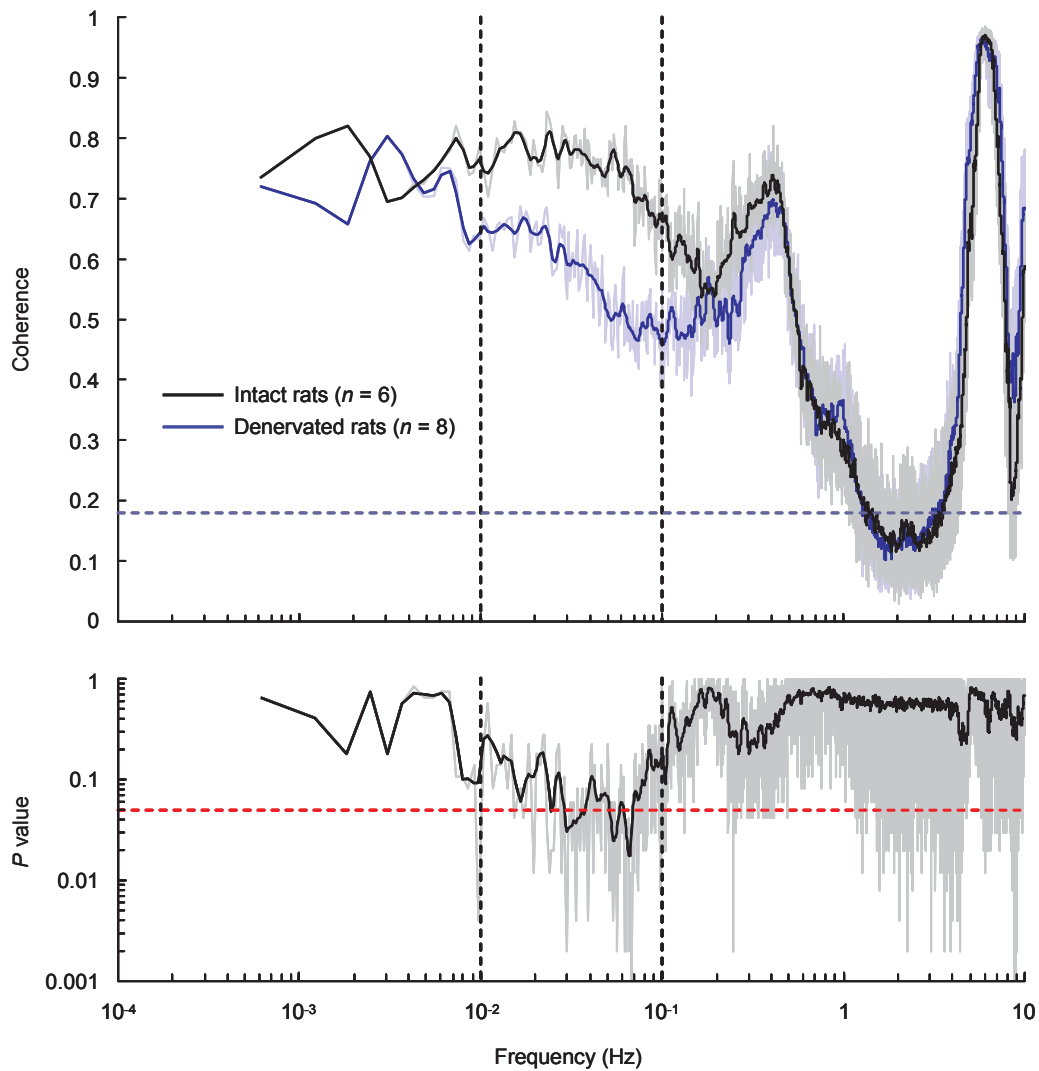
spectral powers (nu <sup>2</sup> )	left side	right side	<i>P</i> value
0.0012 - 0.01 Hz	56 ± 8	76 ± 9	0.0251
0.01 - 0.1 Hz	34 ± 3	49 ± 4	0.0117
0.1 - 1 Hz	22 ± 2	31 ± 2	0.0117
1 - 10 Hz	330 ± 32	414 ± 21	0.2076

Values are means ± SEM. nu indicates normalized units. Spectral powers were calculated by integration over selected frequency bands as indicated by their boundaries. *P* values refer to the comparison between left and right sides using the Wilcoxon signed-rank test.

# Figure and Legends

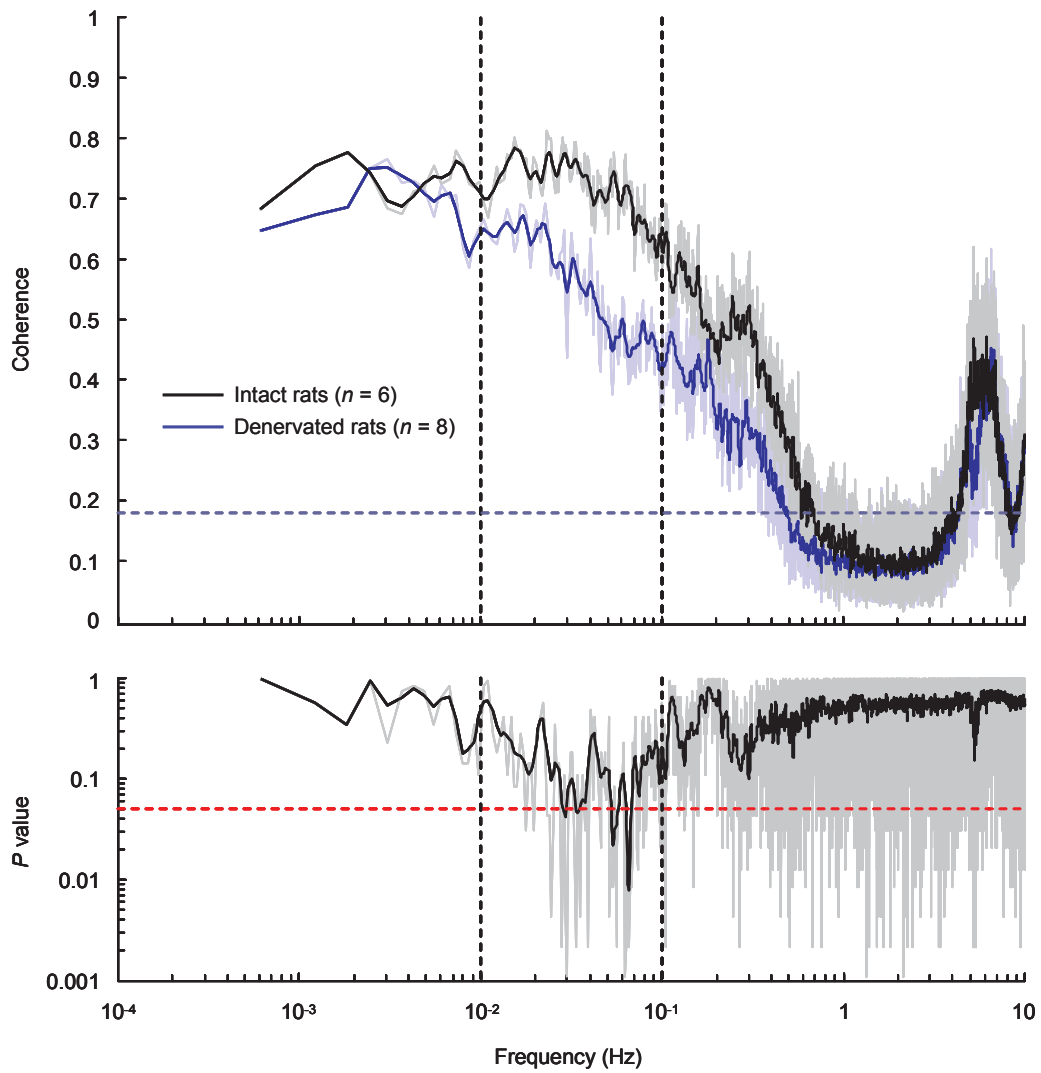


**Figure 1. Power spectra of carotid blood flows in conscious intact and denervated rats**  
Group average spectra of left (black traces) and right (red traces) CBFs were computed over 27.3 min periods in 6 intact rats (A) and 8 rats with right cervical ganglionectomy (B). Standard error lines have been omitted for legibility. Vertical dashed lines delimit frequency bands of interest. nu indicates normalized units.



**Figure 2. Ordinary coherence between left and right carotid blood flows in conscious intact and denervated rats**

In the upper panel, the horizontal dashed line shows the significance threshold ( $P < 0.05$ ) for coherence. The lower panel shows the significance of the comparison (Mann Whitney test) between coherence functions computed in groups of intact and denervated rats. Vertical dashed lines delimit the frequency band (0.01-0.1 Hz) where coherence spectra differed the most consistently. In both graphs, shaded lines represent raw data and bold lines represent data after applying the progressive smoothing procedure described by Castiglioni *et al.* (1999). Standard error lines have been omitted for legibility. nu indicates normalized units.



**Figure 3. Partial coherence between left and right carotid blood flows in conscious intact and denervated rats**

Coherence functions were computed after partialization using the arterial pressure signal. All details are as in Fig. 2.

## DISCUSSION

L'hypothèse que l'innervation sympathique ait un rôle protecteur de la circulation cérébrale, en favorisant la vasoconstriction des vaisseaux de résistance cérébraux face aux augmentations de PA, a été émise dès 1976 secondairement à deux études réalisées l'une chez le chat (Bill & Linder, 1976) et l'autre chez le rat (Edvinsson et coll., 1976). Jusqu'à présent, ce rôle protecteur a cependant été considéré comme marginal, puisqu'il a été mis en évidence dans des conditions expérimentales particulières d'augmentations aiguës de la PA induites par des moyens pharmacologique ou mécanique (Bill & Linder, 1976 ; Edvinsson et coll., 1976 ; Cassaglia et coll., 2008b) et d'hypertension chronique (Sadoshima & Heistad 1982 ; Mayhan et coll., 1987). Néanmoins, il paraît aussi être important dans au moins une situation physiologique, qui est le sommeil paradoxal (Loos et coll., 2005 ; Cassaglia et coll., 2009).

Dans ce contexte, notre projet était, dans un premier temps, d'évaluer le rôle des nerfs sympathiques à destinée cérébrovasculaire sur les réponses de la circulation cérébrale au cours d'un stress émotionnel qui s'accompagne d'une augmentation de PA. Dans un second temps, nous avons cherché à mettre en évidence l'influence de cette même innervation sur l'hémodynamique cérébrale dans des conditions d'activité normale chez le rat vigile et non stressé.

### ***Aspects méthodologiques***

Aucune méthode d'enregistrement du DSC chez le rat n'était disponible au laboratoire au début de ce travail de thèse. Parmi les méthodes proposées pour étudier le DSC, nous avons choisi la mesure de la vitesse du flux sanguin dans les artères carotides internes au moyen de sondes Doppler pulsé. En effet, comme il est décrit dans le chapitre IV, il existe de nombreuses méthodes d'études de l'hémodynamique cérébrale qui peuvent se classer en deux catégories bien distinctes, celles qui fournissent des mesures statiques et celles qui permettent des mesures dynamiques. Notre projet nécessitait un enregistrement en continu du DSC, les différentes méthodes de mesure statique du DSC qui nécessitent 10 à 20 minutes pour obtenir un point de mesure étaient donc à exclure. La méthode dynamique qui tend à s'imposer comme la méthode de « référence », notamment du fait de sa spécificité, et bien qu'elle ne renseigne que sur un débit local, est celle du Doppler transcrânien. Cette méthode, bien qu'étant applicable chez le rat vigile (Gu et coll., 1999), a été écartée

principalement du fait de l'impossibilité d'enregistrer le débit sanguin dans les deux hémisphères simultanément, comme nous l'avons discuté dans notre premier article (Revel et coll., 2011). Nous avons donc choisi d'enregistrer en continu le débit sanguin dans les artères carotides internes. Bien que ces artères irriguent quelques territoires extra-cérébraux (Heistad et coll., 1978), l'œil en particulier, il ne semble pas que cela soit une source importante d'erreur pour la mesure du DSC. En effet, cette méthode a été validée chez le lapin vigile en comparant les variations du DSCa avec les variations du débit dans le sinus sagittal supérieur (Yu et coll., 1996). Par ailleurs, chez l'homme, une bonne proportionnalité a été démontrée entre le DSCa et le flux sanguin dans l'artère cérébrale moyenne ipsilatérale (Lindgaard et coll., 1987 ; Hellström et coll., 1996). Compte tenu de la remarquable similitude de l'anatomie de la vascularisation artérielle cérébrale du lapin, du rat et de l'homme, nous considérons que la mesure du DSCa fournit une bonne approximation du DSC. Une approche plus simple techniquement aurait été l'enregistrement du débit sanguin dans l'artère carotide commune après ligature de l'artère carotide externe (Gardiner et coll., 1990a,b). Cependant, cette dernière approche présente une limitation importante qui est le développement d'anastomoses pendant la période post-opératoire. De plus, le diamètre de l'artère carotide commune varie pendant les changements de PA (Hellström et coll., 1996 ; Naqvi & Hyuhn, 2009), ce qui rend hasardeuse l'extrapolation des changements de vitesse sanguine aux changements de débit sanguin.

Dans nos études, le DSCa a donc été enregistré en continu par la méthode Doppler chez le rat vigile et non restreint. Les signaux que nous avons obtenus par cette méthode étaient généralement robustes et présentaient un rapport signal/bruit acceptable, ceci grâce au développement rapide d'une fibrose qui stabilise la sonde par rapport à l'axe du vaisseau et limite aussi les variations de son calibre. Le principal inconvénient de la méthode Doppler est qu'elle ne fournit pas de valeur absolue du débit sanguin, à moins de calibrer les sondes *in situ*, ce qui est difficile sinon impossible pour la carotide interne du rat compte tenu de sa taille et de sa position. Dans notre étude, il était concevable d'utiliser la méthode « transit time » (Kolb et coll., 2007) qui fournit des valeurs absolues de débit et dont les signaux présentent un meilleur rapport signal/bruit que les signaux Doppler. Cependant, la taille et la rigidité des sondes « transit-time » et de leurs câbles ne permet pas de les utiliser chez le rat vigile dans cette application.

Pour étudier le rôle de l'innervation sympathique à destinée cérébrovasculaire, nous avons utilisé un modèle d'exérèse unilatérale du GCS qui est la principale source d'innervation sympathique à destinée cérébrovasculaire (Christensen et coll., 1952 ; Arbab et coll., 1986 ; Tamamaki & Nojyo, 1987). Le GCS est une structure bien définie et son exérèse complète et sélective est une procédure reproductible qui produit une sympathectomie homolatérale

presque totale une semaine après l'intervention (Kobayashi et coll., 1983 ; Handa et coll., 1991).

### ***Aspects physiologiques***

Pour vérifier que les effets hémodynamiques du stress émotionnel et des administrations de substances vasoactives étaient équivalents entre les hémisphères gauche et droit et que les différences de comportements observées entre les deux lits vasculaires étaient secondaires à la présence ou à l'absence du GCS, nous avons effectué les mêmes enregistrements chez des rats intacts et chez des rats dénervés bilatéralement. Ces deux derniers groupes de rats ont donc permis de vérifier la validité de notre modèle de sympathectomie unilatérale.

Les principaux résultats obtenus dans le cadre de ce travail sont les suivants :

- Grâce à l'application du stress du jet d'air dans nos 3 groupes de rats, il a été possible de montrer un rôle protecteur des nerfs sympathiques à destinée cérébrovasculaire lors d'une augmentation rapide et marquée de la PA. À la suite de cette étude, il nous a paru intéressant de rechercher dans l'enregistrement réalisé dans les conditions de base des augmentations spontanées de PA ayant une cinétique comparable à celle observée lors du stress. Bien que peu fréquents dans nos conditions d'enregistrement, ces événements presseurs existent. L'analyse de corrélation entre les épisodes presseurs et les variations concomitantes des DSCa avec et sans innervation sympathique indique que l'innervation sympathique à destinée cérébrovasculaire atténue l'augmentation du DSCa au cours d'augmentations spontanées de la PA. Il resterait à déterminer l'origine de ces épisodes presseurs spontanés grâce à une étude comportementale soignée.

- Le second résultat important de ce travail de thèse a été obtenu grâce à l'analyse spectrale des variabilités spontanées des DSCa et à l'analyse des cohérences DSCa gauche – DSCa droit dans les groupes de rats intacts et avec sympathectomie unilatérale. L'analyse spectrale révèle un rôle stabilisateur global de l'innervation sympathique sur le DSCa. L'analyse des cohérences ordinaire et partielle met en évidence un rôle modulateur spécifique de l'innervation sympathique dans la bande des fréquences comprises entre 0,01 et 0,1 Hz, ce qui correspond à des événements d'une durée comprise entre 10 et 100 s. De plus, ce rôle modulateur ne paraît pas être dépendant des fluctuations tensionnelles de même cinétique. Afin d'éclaircir les mécanismes par lesquels l'innervation sympathique contribue à stabiliser le DSC et module sa variabilité dans une bande de basses fréquences, il faudrait disposer d'approches directes telles que l'enregistrement de l'ANS des fibres nerveuses en provenance du GCS. Cette technique a été utilisée par le groupe de Walker



(Cassaglia et coll. 2008b,c, 2009) chez l'agneau anesthésié et éveillé. Cependant, cette technique n'a pas été développée chez le rat, et paraît difficile à mettre en œuvre dans cette espèce, particulièrement chez l'animal éveillé bien sûr.

### ***Conclusions et perspectives***

En conclusion, nos travaux chez le rat Sprague-Dawley normotendu vérifient l'hypothèse selon laquelle le système nerveux sympathique aurait un rôle protecteur de la circulation cérébrale face aux augmentations de PA liées au stress. Un paradoxe apparaît car le même système est alors responsable des augmentations de PA liées au stress et de la vasoconstriction protectrice de la circulation cérébrale au cours de ce même stress. Une hypothèse à tester serait que le système baroréflexe détermine à la fois l'amplitude des réponses pressives au stress et l'intensité de la vasoconstriction cérébrale au cours du stress. En effet, l'un des plus puissants systèmes de contrôle des activités nerveuses sympathiques régionales est le baroréflexe artériel (Kanbar et coll., 2008). Ce contrôle est d'ailleurs particulièrement important au cours des stress psychologiques et émotionnels (Julien, 2009). Dans ces circonstances, on observe une augmentation simultanée de la PA et des activités nerveuses sympathiques, au moins dans les circulations musculaire chez l'homme (Anderson et coll., 1991) et rénale chez le rat (Barrès et coll., 2004). Ce profil de variation n'est possible que si le baroréflexe artériel se réajuste vers des valeurs de PA et d'ANS plus élevées (DiCarlo & Bishop, 2001), ce qui a été démontré pour l'ANS rénale du rat au cours du stress (Kanbar et coll., 2007a). Le système baroréflexe détermine donc largement l'amplitude des réponses sympatho-excitatrices et pressives au stress. En son absence, ces réponses sont accrues (Barrès et coll., 2004). Il est par ailleurs vraisemblable que ce rôle du baroréflexe explique la relation inverse qui existe entre la variabilité tensionnelle spontanée et la sensibilité du baroréflexe sympathique chez le rat vigile (Kanbar et coll., 2007b).

Une étude au moins a démontré un lien entre la fonction baroréflexe et l'AVC (Liu et coll., 2007). En effet, dans une population de rats hypertendus développant spontanément des AVC hémorragiques (SHR-SP), la sensibilité de la composante cardiaque du baroréflexe était prédictive de l'espérance de vie. De plus, dans cette même souche de rats, l'amélioration de la sensibilité du baroréflexe cardiaque, obtenue par l'administration chronique de kétansérine, diminuait la survenue des AVC, même à une faible dose n'ayant pas d'effet antihypertenseur (Liu et coll., 2007). Cependant, une limitation de ce travail est que la composante sympathique vasculaire du baroréflexe n'a pas été investiguée, alors qu'il

est établi chez le rat que les composantes vasculaire et cardiaque du baroréflexe ne sont pas nécessairement corrélées entre elles (Miki et coll., 2003).

Ainsi, un déficit de la fonction baroréflexe pourrait laisser se développer une réponse hypertensive exagérée au cours d'un stress émotionnel. Dans ce cas, il serait possible que les mécanismes protecteurs de la circulation cérébrale, la réponse myogénique et la vasoconstriction sympathique cérébrovasculaire, soient dépassés et qu'un AVC survienne.

La suite logique de mon travail de thèse serait d'évaluer, chez le rat éveillé, si la limite supérieure de l'autorégulation cérébrale peut être dépassée au cours d'épisodes hypertenseurs spontanés ou provoqués par le stress émotionnel, et ceci en présence et en l'absence d'innervation sympathique cérébrovasculaire. Pour ce faire, les enregistrements dans les conditions de base et pendant le stress devraient être reproduits chez des rats dénervés unilatéralement ayant un déficit de la fonction baroréflexe. Un déficit de la fonction baroréflexe peut-être obtenu chez le rat par dénervation chirurgicale chronique des barorécepteurs aortiques, seule (Kanbar et coll., 2007b) ou combinée à celle des barorécepteurs sino-carotidiens (Barrès et coll., 2004). Dans ces deux conditions, la variabilité tensionnelle est augmentée, notamment du fait de la survenue fréquente d'épisodes hypertenseurs (Pires et coll., 2001). Dans un second temps, cette même expérimentation pourrait être conduite chez des rats SHR-SP.

Enfin, une dernière perspective de ce travail serait de montrer que l'amélioration de la fonction baroréflexe permet de prévenir la rupture de la barrière autorégulatrice au cours du stress émotionnel. Il a été montré chez le rat SHR-SP que la fonction baroréflexe cardiaque peut être améliorée par l'administration chronique de kétansérine, antagoniste mixte des récepteurs 5-HT<sub>2A</sub> et  $\alpha_1$ -adrénergiques (Liu et coll., 2007), et chez le patient avec insuffisance cardiaque post-ischémique par la supplémentation en acides gras polyinsaturés (Radaelli et coll., 2006). L'expérimentation consisterait donc à évaluer chez le rat SHR-SP et son contrôle l'effet de ces interventions pharmacologique et/ou diététique sur la composante sympathique du baroréflexe par l'enregistrement simultané de la PA et de l'ANS rénale (Barrès et coll., 2004 ; Kanbar et coll., 2007a,b). La sensibilité du baroréflexe pourrait être évaluée à la fois par la méthode pharmacologique classique (mesure des réponses réflexes à l'administration de substances vasoactives) et par la méthode dite « spontanée » (calcul du gain de la fonction de transfert entre la PA et l'ANS rénale à la fréquence cardiaque ; Kanbar et coll., 2007b).



## RÉFÉRENCES

1. **Aaslid R, Markwalder TM, Nornes H.** Noninvasive transcranial Doppler ultrasound recording of flow velocity in basal cerebral arteries. *J Neurosurg* 57: 769-774, 1982.
2. **Abbott NJ.** Astrocyte-endothelial interactions and blood-brain barrier permeability. *J Anat* 200: 629-638, 2002.
3. **Ainslie PN.** Comments on Point:Counterpoint: Sympathetic activity does/does not influence cerebral blood flow. *J Appl Physiol* 105: 1370, 2008.
4. **Ainslie PN, Ogoh S.** Regulation of cerebral blood flow in mammals during chronic hypoxia: a matter of balance. *Exp Physiol* 95: 251-262, 2010.
5. **Alborch E, Gómez B, Dieguez G, Marin J, Lluch S.** Cerebral blood flow and vascular reactivity after removal of the superior cervical sympathetic ganglion in the goat. *Circ Res* 41: 278-282, 1977.
6. **Anderson EA, Sinkey CA, Mark AL.** Mental stress increases sympathetic nerve activity during sustained baroreceptor stimulation in humans. *Hypertension* 17: 43-49, 1991.
7. **Andresen J, Shafi NI, Bryan RM.** Endothelial influences on cerebrovascular tone. *J Appl Physiol* 100: 318-327, 2006.
8. **Arbab MA, Wiklund L, Svendgaard NA.** Origin and distribution of cerebral vascular innervation from superior cervical, trigeminal and spinal ganglia investigated with retrograde and anterograde WGA-HRP tracing in the rat. *Neuroscience* 19: 695-708, 1986.
9. **Attwell D, Buchan AM, Charpak S, Lauritzen M, Macvicar BA, Newman EA.** Glial and neuronal control of brain blood flow. *Nature* 468: 232-243, 2010.
10. **Aubineau P, Reynier-Rebuffel AM, Bouchaud C, Jousseau O, Seylaz J.** Long-term effects of superior cervical ganglionectomy on cortical blood flow of non-anesthetized rabbits in resting and hypertensive conditions. *Brain Res* 338: 13-23, 1985.
11. **Auer LM, Edvinsson L, Johansson BB.** Effect of sympathetic nerve stimulation and adrenoceptor blockade on pial arterial and venous calibre and on intracranial pressure in the cat. *Acta Physiol Scand* 119: 213-217, 1983.
12. **Auer LM, Ishiyama N.** Pial vascular behavior during bilateral and contralateral cervical sympathetic stimulation. *J Cereb Blood Flow Metab* 6: 298-304, 1986.
13. **Auer LM, Johansson BB, Lund S.** Reaction of pial arteries and veins to sympathetic stimulation in the cat. *Stroke* 12: 528-531, 1981.
14. **Barber BJ, Martin JS, Rapela CE.** Analysis of the effect of bilateral sympathetic stimulation of cerebral and cephalic blood flow in the dog. *Stroke* 9: 29-34, 1978.

15. **Barrès C, Cheng Y, Julien C.** Steady-state and dynamic responses of renal sympathetic nerve activity to air-jet stress in sinoaortic denervated rats. *Hypertension* 43: 629-635, 2004.
16. **Barry DI, Strandgaard S, Graham DI, Braendstrup O, Svendsen UG, Vorstrup S, Hemmingsen R, Bolwig TG.** Cerebral blood flow in rats with renal and spontaneous hypertension: resetting of the lower limit of autoregulation. *J Cereb Blood Flow Metab* 2: 347-353, 1982.
17. **Baudrie V, Laude D, Chaouloff F, Elghozi JL.** Genetic influences on cardiovascular responses to an acoustic startle stimulus in rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 28: 1096-1099, 2001.
18. **Baudrie V, Tulen JH, Blanc J, Elghozi JL.** Autonomic components of the cardiovascular responses to an acoustic startle stimulus in rats. *J Auton Pharmacol* 17: 303-309, 1997.
19. **Baumbach GL, Heistad DD.** Effects of sympathetic stimulation and changes in arterial pressure on segmental resistance of cerebral vessels in rabbits and cats. *Circ Res* 52: 527-533, 1983.
20. **Baumbach GL, Heistad DD, Siems JE.** Effect of sympathetic nerves on composition and distensibility of cerebral arterioles in rats. *J Physiol (Lond)* 416: 123-140, 1989.
21. **Bayliss WM.** On the local reaction of the arterial wall to changes of internal pressure. *J Physiol* 28: 220-231, 1902.
22. **Betz E.** Cerebral blood flow: its measurement and regulation. *Physiol Rev* 52: 595-630, 1972.
23. **Bevan JA, Bevan RD.** Localized neurogenic vasoconstriction of the basilar artery. *Stroke* 4: 760-763, 1973.
24. **Bevan JA, Duckles SP, Lee TJ.** Histamine potentiation of nerve- and drug-induced responses of a rabbit cerebral artery. *Circ Res* 36: 647-653, 1975.
25. **Bevan JA, Duckworth J, Laher I, Oriowo MA, McPherson GA, Bevan RD.** Sympathetic control of cerebral arteries: specialization in receptor type, reserve, affinity, and distribution. *FASEB J* 1: 193-198, 1987.
26. **Bevan RD, Tsuru H, Bevan JA.** Cerebral artery mass in the rabbit is reduced by chronic sympathetic denervation. *Stroke* 14: 393-396, 1983.
27. **Bevan RD, Tsuru H.** Functional and structural changes in the rabbit ear artery after sympathetic denervation. *Circ Res* 49: 478-485, 1981.
28. **Bill A, Linder J.** Sympathetic control of cerebral blood flow in acute arterial hypertension. *Acta Physiol Scand* 96: 114-121, 1976.
29. **Bishai JM, Blood AB, Hunter CJ, Longo LD, Power GG.** Fetal lamb cerebral blood flow (CBF) and oxygen tensions during hypoxia: a comparison of laser Doppler and microsphere measurements of CBF. *J Physiol (Lond)* 546: 869-878, 2003.
30. **Bralet AM, Rochette L, Bralet J.** Étude, à l'aide de microsphères, de la distribution de l'irrigation carotidienne chez le rat. *Experientia* 33: 350-352, 1977.

31. **Brassard P, Seifert T, Secher NH.** Is cerebral oxygenation negatively affected by infusion of norepinephrine in healthy subjects? *Br J Anaesth* 102: 800-805, 2009.
32. **Bryan RM, Marrelli SP, Steenberg ML, Schildmeyer LA, Johnson TD.** Effects of luminal shear stress on cerebral arteries and arterioles. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 280: H2011-H2022, 2001.
33. **Busija DW.** Sympathetic nerves reduce cerebral blood flow during hypoxia in awake rabbits. *Am J Physiol* 247: H446-H451, 1984.
34. **Busija DW, Heistad DD.** Factors involved in the physiological regulation of the cerebral circulation. *Rev Physiol Biochem Pharmacol* 101: 161-211, 1984a.
35. **Busija DW, Heistad DD.** Effects of activation of sympathetic nerves on cerebral blood flow during hypercapnia in cats and rabbits. *J Physiol (Lond)* 347: 35-45, 1984b.
36. **Busija DW, Leffler CW.** Postjunctional alpha 2-adrenoceptors in pial arteries of anesthetized newborn pigs. *Dev Pharmacol Ther* 10: 36-46, 1987.
37. **Busija DW, Heistad DD, Marcus ML.** Effects of sympathetic nerves on cerebral vessels during acute, moderate increases in arterial pressure in dogs and cats. *Circ Res* 46: 696-702, 1980.
38. **Callahan MF, da Rocha MJ, Morris M.** Sinoaortic denervation does not increase cardiovascular/endocrine responses to stress. *Neuroendocrinology* 56: 735-744, 1992.
39. **Carlsson C, Hägerdal M, Kaasik AE, Siesjö BK.** A catecholamine-mediated increase in cerebral oxygen uptake during immobilisation stress in rats. *Brain Res* 119: 223-231, 1977.
40. **Carlsson C, Hägerdal M, Siesjö BK.** Increase in cerebral oxygen uptake and blood flow in immobilization stress. *Acta Physiol Scand* 95: 206-208, 1975.
41. **Carter JR, Kupiers NT, Ray CA.** Neurovascular responses to mental stress. *J Physiol (Lond)* 564: 321-327, 2005.
42. **Cassaglia PA, Griffiths RI, Walker AM.** Comments on Point:Counterpoint: Sympathetic activity does/does not influence cerebral blood flow. Sympathetic nerves influence cerebral blood flow. *J Appl Physiol* 105: 1372, 2008a.
43. **Cassaglia PA, Griffiths RI, Walker AM.** Sympathetic nerve activity in the superior cervical ganglia increases in response to imposed increases in arterial pressure. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 294: R1255-1261, 2008b.
44. **Cassaglia PA, Griffiths RI, Walker AM.** Sympathetic withdrawal augments cerebral blood flow during acute hypercapnia in sleeping lambs. *Sleep* 31: 1729-34, 2008c.
45. **Cassaglia PA, Griffiths RI, Walker AM.** Cerebral sympathetic nerve activity has a major regulatory role in the cerebral circulation in REM sleep. *J Appl Physiol* 106: 1050-1056, 2009.

46. **Castiglioni P, Parati G, Omboni S, Mancia G, Imholz BP, Wesseling KH, Di Rienzo M.** Broad-band spectral analysis of 24 h continuous finger blood pressure: comparison with intra-arterial recordings. *Clin Sci (Lond)* 97: 129-39, 1999.
47. **Cerutti C, Gustin MP, Paultre CZ, Lo M, Julien C, Vincent M, Sassard J.** Autonomic nervous system and cardiovascular variability in rats: a spectral analysis approach. *Am J Physiol* 261: H1292-1299, 1991.
48. **Chan RK, Jarvine EV, Sawchenko PE.** Effects of selective sinoartical denervations on phenylephrine-induceds activational responses in the nucleus solitary tract. *Neuroscience* 101: 165-178, 2000
49. **Chillon J-M, Baumbach GL.** Autoregulation of cerebral blood flow. In: *Primer on cerebrovascular diseases*, edited by Welch KMA., Caplan LR, Reis DJ, Siesjö BK and Weir B. San Diego: Academic Press, p. 51-54, 1997.
50. **Christensen K, Polley EH, Lewis E.** The nerves along the vertebral artery and innervation of the blood vessels of the hindbrain of the cat. *J Comp Neurol* 96: 71-91, 1952.
51. **Conde, Marín J, Salaíces M, Marco EJ, Gómez B, Lluch S.** Adrenergic vasoconstriction of the goat middle cerebral artery. *Am J Physiol* 235: H131-H135, 1978.
52. **Coyle P.** Arterial patterns of the rat rhinencephalon and related structures. *Exp Neurol* 49: 671-690, 1975.
53. **Coyle P.** Spatial features of the rat hippocampal vascular system. *Exp Neurol* 58: 549-561, 1978.
54. **Crawford RA, Gregory PC, Griffiths IR.** The response of feline spinal pial arterioles to norepinephrine. *J Neurosurg* 52: 60-63, 1980.
55. **Cusick JF, Myklebust J.** Continuous quantitative local cerebral blood flow measurement. Calibration of thermal conductivity measurements by the hydrogen clearance method. *Stroke* 11: 661-664, 1980.
56. **Dacey RG, Duling BR.** A study of rat intracerebral arterioles: methods, morphology, and reactivity. *Am J Physiol* 243: H598-606, 1982.
57. **Debreczeni R, Amrein I, Kamondi A, Szirmai I.** Hypocapnia induced by involuntary hyperventilation during mental arithmetic reduces cerebral blood flow velocity. *Tohoku J Exp Med* 217: 147-154, 2009.
58. **DiBona GF, Jones SY.** Analysis of renal sympathetic nerve responses to stress. *Hypertension* 25: 531-538, 1995.
59. **DiCarlo SE, Bishp VS.** Central baroreflex resetting as a means of increasing and decreasing sympathetic outflow and arterial pressure. *Ann N Y Acad Sci* 940: 324-337, 2001.
60. **Duckles SP.** Neurogenic dilator and constrictor responses of pial arteries in vitro. Differences between dogs and sheep. *Circ Res* 44: 482-490, 1979.



61. **Duckles SP, Bevan JA.** Pharmacological characterization of adrenergic receptors of a rabbit cerebral artery in vitro. *J Pharmacol Exp Ther* 197: 371-378, 1976.
62. **Dunning HS, Wolff GH.** The relative vascularity of various parts of the central and peripheral nervous system of the cat and its relation to function. *J Comp Neurol* 67: 433-450, 1937.
63. **Dupui P, Géraud G.** Régulation de la circulation cérébrale. *Neurologie* 17-003-C-10, 2006.
64. **Edvinsson L.** Comments on Point:Counterpoint: Sympathetic activity does/does not influence cerebral blood flow. Sympathetic nerves influence the cerebral circulation. *J Appl Physiol* 105: 1370-1371, 2008.
65. **Edvinsson L, MacKenzie ET.** Amine mechanisms in the cerebral circulation. *Pharmacol Rev* 28: 275-348, 1976.
66. **Edvinsson L, MacKenzie ET and McCulloch J.** Adrenergic mechanisms. In: *Cerebral Blood Flow and Metabolism*, first edition, edited by Edvinsson L and Krause DN. New York: Lippincott Williams & Wilkins, p.183-230, 1993a.
67. **Edvinsson L, MacKenzie ET and McCulloch J.** Aspect of methods used in vivo. In: *Cerebral Blood Flow and Metabolism*, first edition, edited by Edvinsson L and Krause DN. New York: Lippincott Williams & Wilkins, p. 497-523, 1993b.
68. **Edvinsson L, MacKenzie ET and McCulloch J.** Autoregulation, arterial and intracranial pressure. In: *Cerebral Blood Flow and Metabolism*, first edition, edited by Edvinsson L and Krause DN. New York: Lippincott Williams & Wilkins, p. 553-580, 1993c.
69. **Edvinsson L, MacKenzie ET and McCulloch J.** Changes in arterial gas tension. In: *Cerebral Blood Flow and Metabolism*, first edition, edited by Edvinsson L and Krause DN. New York: Lippincott Williams & Wilkins, p. 524-552, 1993d.
70. **Edvinsson L, MacKenzie ET and McCulloch J.** General and comparative anatomy of the cerebral circulation. In: *Cerebral Blood Flow and Metabolism*, first edition, edited by Edvinsson L and Krause DN. New York: Lippincott Williams & Wilkins, p. 3-39, 1993e.
71. **Edvinsson L, MacKenzie ET and McCulloch J.** Perivascular nerve fibers in brain vessels. In: *Cerebral Blood Flow and Metabolism*, first edition, edited by Edvinsson L and Krause DN. New York: Lippincott Williams & Wilkins, p. 57-91, 1993f.
72. **Edvinsson L, MacKenzie ET and McCulloch J.** The blood-brain barrier: permeability and substrate transport. In: *Cerebral Blood Flow and Metabolism*, first edition, edited by Edvinsson L and Krause DN. New York: Lippincott Williams & Wilkins, p. 40-56, 1993g.
73. **Edvinsson L, Owman C.** Pharmacological characterization of adrenergic alpha and beta receptors mediating the vasomotor responses of cerebral arteries in vitro. *Circ Res* 35: 835-849, 1974.
74. **Edvinsson L, Owman C, Siesjö B.** Physiological role of cerebrovascular sympathetic nerves in the autoregulation of cerebral blood flow. *Brain Res* 117: 519-523, 1976.



75. **Edvinsson L, Owman C, Sjöberg NO.** Autonomic nerves, mast cells, and amine receptors in human brain vessels. A histochemical and pharmacological study. *Brain Res* 115: 377-393, 1976.
76. **Eklöf B, Ingvar DH, Kågström E, Olin T.** Persistence of cerebral blood flow autoregulation following chronic bilateral cervical sympathectomy in the monkey. *Acta Physiol Scand* 82: 172-176, 1971.
77. **Ermisch A, Rühle HJ, Landgraf R, Hess J.** Blood-brain barrier and peptides. *J Cereb Blood Flow Metab* 5: 350-357, 1985.
78. **Everson SA, Lynch JW, Kaplan GA, Lakka TA, Sivenius J, Salonen JT.** Stress-induced blood pressure reactivity and incident stroke in middle-aged men. *Stroke* 32: 1263-1270, 2001.
79. **Eyre JA, Essex TJ, Flecknell PA, Bartholomew PH, Sinclair JI.** A comparison of measurements of cerebral blood flow in the rabbit using laser Doppler spectroscopy and radionuclide labelled microspheres. *Clin Phys Physiol Meas* 9: 65-74, 1988.
80. **Fabricius M, Lauritzen M.** Laser-Doppler evaluation of rat brain microcirculation: comparison with the [14C]-iodoantipyrine method suggests discordance during cerebral blood flow increases. *J Cereb Blood Flow Metab* 16: 156-161, 1996.
81. **Faraci FM.** Role of nitric oxide in regulation of basilar artery tone in vivo. *Am J Physiol* 259: H1216-1221, 1990.
82. **Faraci FM, Heistad DD.** Regulation of large cerebral arteries and cerebral microvascular pressure. *Circ Res* 66: 8-17, 1990.
83. **Faraci FM, Mayhan WG, Schmid PG, Heistad DD.** Effects of arginine vasopressin on cerebral microvascular pressure. *Am J Physiol* 255: H70-76, 1988.
84. **Fechir M, Gamer M, Blasius I, Bauermann T, Breimhorst M, Schlindwein P, Schlereth T, Birklein F.** Functional imaging of sympathetic activation during mental stress. *Neuroimage* 50: 847-854, 2010.
85. **Fernández N, Martínez MA, Monge L, García-Villalón AL, Diéguez G.** Adrenergic vasoconstrictor activity in the cerebral circulation after inhibition of nitric oxide synthesis in conscious goats. *Auton Neurosci* 89: 16-23, 2001.
86. **Fitch W, MacKenzie ET, Harper AM.** Effects of decreasing arterial blood pressure on cerebral blood flow in the baboon. Influence of the sympathetic nervous system. *Circ Res* 37: 550-557, 1975.
87. **Franklin DL, Schlegel W, Rushmer RF.** Blood flow measured by Doppler frequency shift of back-scattered ultrasound. *Science* 134: 564-565, 1961.
88. **Fujii K, Heistad DD, Faraci FM.** Flow-mediated dilatation of the basilar artery in vivo. *Circ Res* 69: 697-705, 1991.
89. **Fukuda O, Endo S, Kuwayama N, Harada J, Takaku A.** The characteristics of laser-Doppler flowmetry for the measurement of regional cerebral blood flow. *Neurosurgery* 36: 358-364, 1995.

90. **Fukui MB, Meltzer CC, Kanal E, Smirniotopoulos JG.** MR imaging of the meninges. Part II. Neoplastic disease. *Radiology* 201: 605-612, 1996.
91. **Fukushima U, Sasaki S, Okano S, Takase K, Hagio M.** The comparison between the cerebral blood flow directly measures and cerebral blood flow velocity in the middle and basilar cerebral arteries measured by transcranial Doppler ultrasonography. *J Vet Med Sci* 61: 1293-1297, 1999.
92. **Gallet C, Julien C.** The significance threshold for coherence when using the Welch's periodogram method: effect of overlapping segments. *Biomed Signal Process Control* 6: 405-409, 2011.
93. **Garcia-Roldan JL, Bevan JA.** Flow-induced constriction and dilation of cerebral resistance arteries. *Circ Res* 66: 1445-1448, 1990.
94. **Gardiner SM, Compton AM, Bennett T, Kemp PA, Ney U.** Synergistic internal carotid vasodilator effects of human alpha-calcitonin gene-related peptide and nimodipine in conscious rats. *Br J Pharmacol* 99: 830-834, 1990a.
95. **Gardiner SM, Compton AM, Bennett T, Palmer RM, Moncada S.** Control of regional blood flow by endothelium-derived nitric oxide. *Hypertension* 15: 486-492, 1990b.
96. **Gierthmühlen J, Allardt A, Sawade M, Baron R, Wasner G.** Dynamic cerebral autoregulation in stroke patients with a central sympathetic deficit. *Acta Neurol Scand* 123: 332-338, 2011.
97. **Girouard H, Iadecola C.** Neurovascular coupling in the normal brain and in hypertension, stroke, and Alzheimer disease. *J Appl Physiol* 100: 328-335, 2006.
98. **Goadsby PJ, Edvinsson L.** Extrinsic Innervation: Transmitters, receptors, and functions – The sympathetic nervous system. In: *Primer on cerebrovascular diseases*, edited by Welch KMA., Caplan LR, Reis DJ, Siesjö BK and Weir B. San Diego: Academic Press, p. 60-63, 1997a.
99. **Goadsby PJ, Edvinsson L.** Extrinsic Innervation: Transmitters, receptors, and functions – The parasympathetic nervous system. In: *Primer on cerebrovascular diseases*, edited by Welch KMA., Caplan LR, Reis DJ, Siesjö BK and Weir B. San Diego: Academic Press, p. 63-67, 1997b.
100. **Goadsby PJ, Edvinsson L.** extrinsic Innervation: Transmitters, receptors, and functions – The trigeminovascular system. In: *Primer on cerebrovascular diseases*, edited by Welch KMA., Caplan LR, Reis DJ, Siesjö BK and Weir B. San Diego: Academic Press, p. 67-70, 1997c.
101. **Goldstein GW, Betz AL.** The blood-brain barrier. *Sci Am* 255: 74-83, 1986.
102. **Gotoh F, Fukuuchi Y, Amano T, Tanaka K, Uematsu D, Suzuki N, Kobari M, Obara K.** Comparison between pial and intraparenchymal vascular responses to cervical sympathetic stimulation in cats. Part 1. Under normal resting conditions. *J Cereb Blood Flow Metab* 6: 342-347, 1986.
103. **Gotoh F, Muramatsu F, Fukuuchi Y, Okayasu H, Tanaka K, Suzuki N, Kobari M.** Video camera method for simultaneous measurement of blood flow velocity and pial vessel diameter. *J Cereb Blood Flow Metab* 2: 421-428, 1982.

104. **Granry JC.** Le Doppler transcrânien en anesthésie-réanimation. *Ann Fr Anesth Réanim.* 10: 127-136, 1991.
105. **Greene EC.** Anatomy of the rat. *Trans Am Phil Soc* 27:1-370, 1935.
106. **Gross PM, Heistad DD, Strait MR, Marcus ML, Brody MJ.** Cerebral vascular responses to physiological stimulation of sympathetic pathways in cats. *Circ Res* 44: 288-294, 1979.
107. **Gu WG, Jiang W, Brännström T, Wester P.** Long-term cortical CBF recording by laser-Doppler flowmetry in awake freely moving rats subjected to reversible photothrombotic stroke. *J Neurosci Methods* 90: 23-32, 1999.
108. **Haberl RL, Heizer ML, Marmarou A, Ellis EF.** Laser-Doppler assessment of brain microcirculation: effect of systemic alterations. *Am J Physiol* 256: H1247-1254, 1989.
109. **Hamel E.** Perivascular nerves and the regulation of cerebrovascular tone. *J Appl Physiol* 100: 1059-1064, 2006.
110. **Hamner JW, Tan CO, Lee K, Cohen MA, Taylor JA.** Sympathetic control of the cerebral vasculature in humans. *Stroke* 41: 102-109, 2010.
111. **Handa Y, Nojyo Y, Hayashi M.** Patterns of reinnervation of denervated cerebral arteries by sympathetic nerve fibers after unilateral ganglionectomy in rats. *Exp Brain Res* 86: 82-89, 1991.
112. **Harder DR.** Pressure-induced myogenic activation of cat cerebral arteries is dependent on intact endothelium. *Circ Res* 60: 102-107, 1987.
113. **Harder DR, Narayanan J, Gebremedhin D.** Pressure-induced myogenic tone and role of 20-HETE in mediating autoregulation of cerebral blood flow. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 300: H1557-1565, 2011.
114. **Harder DR, Sanchez-Ferrer C, Kauser K, Stekiel WJ, Rubanyi GM.** Pressure releases a transferable endothelial contractile factor in cat cerebral arteries. *Circ Res* 65: 193-198, 1989.
115. **Harper SL, Bohlen HG, Rubin MJ.** Arterial and microvascular contributions to cerebral cortical autoregulation in rats. *Am J Physiol* 246: H17-24, 1984.
116. **Hart MN, Heistad DD, Brody MJ.** Effect of chronic hypertension and sympathetic denervation on wall/lumen ratio of cerebral vessels. *Hypertension* 2: 419-423, 1980.
117. **Hartman BK, Zide D, Udenfriend S.** The use of dopamine-hydroxylase as a marker for the central noradrenergic nervous system in rat brain. *Proc Natl Acad Sci USA* 69: 2722-2726, 1972.
118. **Hayashi S, Miyazaki M, Toda N.** Responsiveness to vasoactive agents of cerebral and mesenteric arteries isolated from control and reserpine-treated dogs. *Br J Pharmacol* 68: 473-478, 1980.
119. **Haywood JR, Shaffer RA, Fastenow C, Fink GD, Brody MJ.** Regional blood flow measurement with pulsed Doppler flowmeter in conscious rat. *Am J Physiol* 241: H273-278, 1981.

120. **Hedger JH, Webber RH.** Anatomical study of the cervical sympathetic trunk and ganglia in the albino rat (*Mus norvegicus albinus*). *Acta Anat (Basel)* 96: 206-217, 1976.
121. **Heistad DD, Marcus ML.** Evidence that neural mechanisms do not have important effects on cerebral blood flow. *Circ Res* 42: 295-302, 1978.
122. **Heistad DD, Marcus ML, Abboud FM.** Role of large arteries in regulation of cerebral blood flow in dogs. *J Clin Invest* 62: 761-768, 1978a.
123. **Heistad DD, Marcus ML, Gross PM.** Effects of sympathetic nerves on cerebral vessels in dog, cat and monkey. *Am J Physiol* 235: H544-H522, 1978b.
124. **Hellström G, Fischer-Colbrie W, Wahlgren NG, Jogestrand T.** Carotid artery blood flow and middle cerebral artery blood flow velocity during physical exercise. *J Appl Physiol* 81: 413-418, 1996.
125. **Hernández-Pérez MJ, Raichle ME, Stone HL.** The role of the peripheral sympathetic nervous system in cerebral blood flow autoregulation. *Stroke* 6: 284-292, 1975.
126. **Hill MA, Zou H, Potocnik SJ, Meininger GA, Davis MJ.** Invited review: arteriolar smooth muscle mechanotransduction: Ca(2+) signaling pathways underlying myogenic reactivity. *J Appl Physiol* 91: 973-983, 2001.
127. **Hilton SM.** The defence-arousal system and its relevance for circulatory and respiratory control. *J Exp Biol* 100: 159-174, 1982.
128. **Holand S, Girard A, Laude D, Meyer-Bisch C, Elghozi JL.** Effects of an auditory startle stimulus on blood pressure and heart rate in humans. *J Hypertens* 17: 1893-1897, 1999.
129. **Hubel DH, Wiesel TN, Stryker MP.** Orientation columns in macaque monkey visual cortex demonstrated by the 2-deoxyglucose autoradiographic technique. *Nature* 269: 328-330, 1977.
130. **Iadecola C.** Regulation of the cerebral microcirculation during neural activity: is nitric oxide the missing link? *Trends Neurosci* 16: 206-214, 1993.
131. **Iadecola C.** Principles and methods for measurement of cerebral blood flow: experimental methods. In: *Primer on cerebrovascular diseases*, edited by Welch KMA., Caplan LR, Reis DJ, Siesjö BK and Weir B. San Diego: Academic Press, p. 34-37, 1997.
132. **Ignarro LJ, Buga GM, Wood KS, Byrns RE, Chaudhuri G.** Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. *Proc Natl Acad Sci USA* 84: 9265-9269, 1987.
133. **Immink RV, Passier RHA.** Comments on Point:Counterpoint: Sympathetic activity does/does not influence cerebral blood flow. The sympathetic "knock-out" model. *J Appl Physiol* 105: 1372-1373, 2008.
134. **Ito H, Kanno I, Hatazawa J, Miura S.** Changes in human cerebral blood flow and myocardial blood flow during mental stress measured by dual positron emission tomography. *Ann Nucl Med* 17: 381-386, 2003.

135. **James IM, Millar RA, Purves MJ.** Observations on the extrinsic neural control of cerebral blood flow in the baboon. *Circ Res* 25: 77-93, 1969.
136. **Jones SC, Radinsky CR, Furlan AJ, Chyatte D, Perez-Trepichio AD.** Cortical NOS inhibition raises the lower limit of cerebral blood flow-arterial pressure autoregulation. *Am J Physiol* 276: H1253-1262, 1999.
137. **Jørgensen LG, Perko M, Hanel B, Schroeder TV, Secher NH.** Middle cerebral artery flow velocity and blood flow during exercise and muscle ischemia in humans. *J Appl Physiol* 72: 1123-1132, 1992.
138. **Julien C.** Mental stress, hypertension and the baroreflex: what's new? *J Hypertens* 27: 31-33, 2009.
139. **Julien C, Cerutti C, Kandza P, Barres C, Su D, Vincent M, Sassard J.** Cardiovascular response to emotional stress and spontaneous blood pressure variability in genetically hypertensive rats of the Lyon strain. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 15: 533-538, 1988.
140. **Julien C, Sacquet J, Kandza P, Su DF, Vincent M, Barrès C.** Cardiovascular habituation to emotional stress in Lyon hypertensive rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 19: 187-192, 1992.
141. **Julien C, Zhang ZQ, Cerutti C, Barrès C.** Hemodynamic analysis of arterial pressure oscillations in conscious rats. *J Auton Nerv Syst* 50: 239-252, 1995.
142. **Kåhrström J, Hardebo JE, Owman C.** Neonatal chronic sympathectomy in normotensive rats affects pial arteries: enhanced stiffness and reduced capacity to dilate. *Acta Physiol Scand* 157: 217-224, 1996.
143. **Kanbar R, Oréa V, Barrès C, Julien C.** Baroreflex control of renal sympathetic nerve activity during air-jet stress in rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 292: R362-367, 2007a.
144. **Kanbar R, Chapuis B, Oréa V, Barrès C, Julien C.** Baroreflex control of lumbar and renal sympathetic nerve activity in conscious rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 295: R8-14, 2008.
145. **Kanbar R, Oréa V, Chapuis B, Barrès C, Julien C.** A transfer function method for the continuous assessment of baroreflex control of renal sympathetic nerve activity in rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 293: R1938-1946, 2007b.
146. **Kang C, Oh S, Chung RK, Lee H, Park C, Kim Y, Yoo JH, Kim DY, Cho Z.** Effect of stellate ganglion block on the cerebrovascular system: magnetic resonance angiography study. *Anesthesiology* 113: 936-944, 2010.
147. **Katusic ZS, Shepherd JT, Vanhoutte PM.** Vasopressin causes endothelium-dependent relaxations of the canine basilar artery. *Circ Res* 55: 575-579, 1984.
148. **Katusic ZS, Shepherd JT, Vanhoutte PM.** Oxytocin causes endothelium-dependent relaxations of canine basilar arteries by activating V1-vasopressinergic receptors. *J Pharmacol Exp Ther* 236: 166-170, 1986.

149. **Katusic ZS, Shepherd JT, Vanhoutte PM.** Endothelium-dependent contraction to stretch in canine basilar arteries. *Am J Physiol* 252: H671-673, 1987.
150. **Kawai Y, Ohhashi T.** Responses of monkey, rabbit and dog internal carotid arteries to atrial natriuretic factor. *Experientia* 43: 568-570, 1987.
151. **Kety SS.** Circulation and metabolism of the human brain in health and disease. *Am J Med* 8: 205-217, 1950.
152. **Kety SS, Schmidt CF.** The determination of cerebral blood flow in man by the use of nitrous oxide in low concentrations. *Am J Physiol* 143: 53-66, 1945.
153. **King BD, Sokoloff L, Wechsler RL.** The effects of l-epinephrine and l-norepinephrine upon cerebral circulation and metabolism in man. *J Clin Invest* 31: 273-279, 1952.
154. **Kirby RF, Callahan MF, Johnson AK.** Regional vascular responses to an acute stressor in spontaneously hypertensive and Wistar-Kyoto rats. *J Auton Nerv Syst* 20: 185-188, 1987.
155. **Knot HJ, Nelson MT.** Regulation of arterial diameter and wall [Ca<sup>2+</sup>] in cerebral arteries of rat by membrane potential and intravascular pressure. *J Physiol (Lond)* 508: 199-209, 1998.
156. **Kobari M, Fukuuchi Y, Tomita M, Tanahashi N, Takeda H.** Role of nitric oxide in regulation of cerebral microvascular tone and autoregulation of cerebral blood flow in cats. *Brain Res* 667: 255-262, 1994.
157. **Kobayashi S, Tsukahara S, Tsuji T, Sugita K, Nagata T.** Histochemical studies on the regeneration of aminergic nerves in rat cerebral artery after superior cervical ganglionectomy. *Histochemistry* 77: 57-62, 1983.
158. **Kocsis B.** Baroreceptor influence on the relationships between discharges of different sympathetic nerves of the cat. *J Physiol* 482: 687-96, 1995.
159. **Koepke JP, DiBona GF.** Central beta-adrenergic receptors mediate renal nerve activity during stress in conscious spontaneously hypertensive rats. *Hypertension* 7: 350-356, 1985.
160. **Kolb B, Rotella DL, Stauss HM.** Frequency response characteristics of cerebral blood flow autoregulation in rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 292: H432-438, 2007.
161. **Kontos HA, Raper AJ, Patterson JL.** Analysis of vasoactivity of local pH, pCO<sub>2</sub> and bicarbonate on pial vessels. *Stroke* 8: 358-360, 1977a.
162. **Kontos HA, Wei EP, Navari RM, Levasseur JE, Rosenblum WI, Patterson JL.** Responses of cerebral arteries and arterioles to acute hypotension and hypertension. *Am J Physiol* 234: H371-383, 1978.
163. **Kontos HA, Wei EP, Raper AJ, Patterson JL.** Local mechanism of CO<sub>2</sub> action of cat pial arterioles. *Stroke* 8: 226-229, 1977b.
164. **Koopmans LH.** The spectral analysis of time series. 2<sup>nd</sup> edn. Academic Press, San Diego, CA, USA, 1995.



165. **Krieger EM.** Neurogenic hypertension in the rat. *Circ Res* 31, 273-279, 1964.
166. **Kuschinsky W, Wahl M.** Alpha receptor stimulation by endogenous and exogenous norepinephrine and blockade by phentolamine in pial arteries of cats. *Circ Res* 37: 168-174, 1975.
167. **Kuschinsky W, Wahl M.** Local chemical and neurogenic regulation of cerebral vascular resistance. *Physiol Rev* 58: 656-689, 1978.
168. **Lacombe P, Miller MC, Seylaz J.** Sympathetic regulation of cerebral blood flow during reflex hypertension. *Am J Physiol* 249: H672-680, 1985.
169. **Lartaud I, Bray-des-Boscs L, Chillon JM, Atkinson J, Capdeville-Atkinson C.** In vivo cerebrovascular reactivity in Wistar and Fischer 344 rat strains during aging. *Am J Physiol* 264: H851-858, 1993.
170. **Lassen NA.** Cerebral blood flow and oxygen consumption in man. *Physiol Rev* 39: 183-238, 1959.
171. **Lassen NA, Ingvar DH.** The blood flow of the cerebral cortex determined by radioactive krypton. *Experientia* 17: 42-43, 1961.
172. **Lavi S, Egbarya R, Lavi R, Jacob G.** Role of nitric oxide in the regulation of cerebral blood flow in humans: chemoregulation versus mechanoregulation. *Circulation* 107: 1901-1905, 2003.
173. **Lazorthes G, Campan L.** Les voies veineuses. In: *La circulation cérébrale*. Editions Sandoz, p. 29, 1965.
174. **Lee TJ, Hume WR, Su C, Bevan JA.** Neurogenic vasodilation of cat cerebral arteries. *Circ Res* 42: 535-542, 1978.
175. **Lee TJ, Su C, Bevan JA.** Neurogenic sympathetic vasoconstriction of the rabbit basilar artery. *Circ Res* 39: 120-126, 1976.
176. **Leenen FH, Klement G, Yuan B.** Dietary sodium restriction and pressor responsiveness to tyramine in spontaneously hypertensive rats. *J Hypertens* 10: 929-937, 1992.
177. **Levine BD, Giler CA, Lane LD, Buckey JC, Blomqvist CG.** Cerebral versus systemic hemodynamics during graded orthostatic stress in humans. *Circulation* 90: 298-304, 1994.
178. **Levine BD, Zhang R.** Comments on Point:Counterpoint: Sympathetic activity does/does not influence cerebral blood flow. Autonomic control of the cerebral circulation is most important for dynamic cerebral autoregulation. *J Appl Physiol* 105: 1369-1373, 2008.
179. **Lindgaard KF, Lundar T, Wiberg J, Sjøberg D, Aaslid R, Nornes H.** Variations in middle cerebral artery blood flow investigated with noninvasive transcranial blood velocity measurements. *Stroke* 18: 1025-1030, 1987.
180. **Liu A-J, Ma X-J, Shen F-M, Liu J-G, Chen H, Su D-F.** Arterial baroreflex: a novel target for preventing stroke in rat hypertension. *Stroke* 38: 1916-1923, 2007.

181. **Lluch S, Conde MV, Diéguez G, López de Pablo AL, González MC, Estrada C, Gómez B.** Evidence for the direct effect of vasopressin on human and goat cerebral arteries. *J Pharmacol Exp Ther* 228: 749-755, 1984.
182. **Lluch S, Gómez B, Alborch E, Urquilla PR.** Adrenergic mechanisms in cerebral circulation of the goat. *Am J Physiol* 228: 985-989, 1975.
183. **Lluch S, Reimann C, Glick G.** Evidence for the direct effect of adrenergic drugs on the cerebral vascular bed of the unanesthetized goat. *Stroke* 4: 50-56, 1973.
184. **Loos N, Grant DA, Wild J, Paul S, Barfield C, Zoccoli G, Franzini C, Walker AM.** Sympathetic nervous control of the cerebral circulation in sleep. *J Sleep Res* 14: 275-283, 2005.
185. **Luepker RV, Arnett DK, Jacobs DR Jr, Duval SJ, Folsom AR, Armstrong C, Blackburn H.** Trends in blood pressure, hypertension control, and stroke mortality: the Minnesota Heart Survey. *Am J Med* 119: 42-49, 2006.
186. **Lundin S, Ricksten SE, Thorén P.** Interaction between mental stress and baroreceptor control of heart rate and sympathetic activity in conscious spontaneously hypertensive (SHR) and normotensive (WKY) rats. *J Hypertens Suppl* 1: 68-70, 1983.
187. **Lundin S, Ricksten SE, Thorén P.** Interaction between "mental stress" and baroreceptor reflexes concerning effects on heart rate, mean arterial pressure and renal sympathetic activity in conscious spontaneously hypertensive rats. *Acta Physiol Scand* 120: 273-281, 1984.
188. **Lundin S, Thorén P.** Renal function and sympathetic activity during mental stress in normotensive and spontaneously hypertensive rats. *Acta Physiol Scand* 115: 115-124, 1982.
189. **MacKenzie ET, McCulloch J, O'Kean M, Pickard JD, Harper AM.** Cerebral circulation and norepinephrine: relevance of the blood-brain barrier. *Am J Physiol* 231: 483-488, 1976.
190. **MacKenzie ET, McGeorge AP, Graham DI, Fitch W, Edvinsson L, Harper AM.** Effects of increasing arterial pressure on cerebral blood flow in the baboon: influence of the sympathetic nervous system. *Pflugers Arch* 378: 189-195, 1979.
191. **Macrae IM, Graham DI, McCulloch J.** Vasomotor effects of atrial natriuretic peptides on feline pial arterioles. *Brain Res* 435: 195-201, 1987.
192. **Madsen PL, Schmidt JF, Holm S, Jørgensen H, Wildschjødtz G, Christensen NJ, Friberg L, Vorstrup S, Lassen NA.** Mental stress and cognitive performance do not increase overall level of cerebral O<sub>2</sub> uptake in humans. *J Appl Physiol* 73: 420-426, 1992.
193. **Mangoni AA, Mircoli L, Giannattasio C, Mancina G, Ferrari AU.** Effect of sympathectomy on mechanical properties of common carotid and femoral arteries. *Hypertension* 30: 1085-1088, 1997.
194. **Marcus ML, Bischof CJ, Heistad DD.** Comparison of microsphere and Xenon-133 clearance method in measuring skeletal muscle and cerebral blood flow. *Circ Res* 48: 748-761, 1981.



195. **Marcus ML, Heistad DD.** Effects of sympathetic nerves on cerebral blood flow in awake dogs. *Am J Physiol* 236: H549-553, 1979.
196. **Martínez-Orgado J, González R, Alonso MJ, Rodríguez-Martínez MA, Sánchez-Ferrer CF, Marín J.** Endothelial factors and autoregulation during pressure changes in isolated newborn piglet cerebral arteries. *Pediatr Res* 44: 161-167, 1998.
197. **Mayhan WG, Werber AH, Heistad DD.** Protection of cerebral vessels by sympathetic nerves and vascular hypertrophy. *Circulation* 75: I107-112, 1987.
198. **McCalden TA.** Sympathetic control of the cerebral circulation. *J Auton Pharmacol* 1: 421-431, 1981.
199. **Meyer JS, Miyakawa Y, Ishihara N, Itoh Y, Naritomi H, Mathew NT, Welch KM, Deshmukh VD, Ericksson AD.** Effect of cerebrospinal fluid removal on cerebral blood flow and metabolism in patients with Alzheimer's disease versus recent stroke. *Stroke* 8: 44-50, 1977.
200. **Micieli G, Tassorelli C, Bosone D, Cavallini A, Viotti E, Nappi G.** Intracerebral vascular changes induced by cold pressor test: a model of sympathetic activation. *Neurol Res* 16: 163-167, 1994.
201. **Miki K, Yoshimoto M, Tanimizu M.** Acute shifts of baroreflex control of renal sympathetic nerve activity induced by treadmill exercise in rats. *J Physiol* 548: 313-322, 2003.
202. **Mitsis GD, Zhang R, Levine BD, Marmarelis VZ.** Cerebral hemodynamics during orthostatic stress assessed by nonlinear modeling. *J Appl Physiol* 101: 354-366, 2006.
203. **Moncada S, Radomski MW, Palmer RM.** Endothelium-derived relaxing factor. Identification as nitric oxide and role in the control of vascular tone and platelet function. *Biochem Pharmacol* 37: 2495-2501, 1988.
204. **Moppett IK, Sherman RW, Wild MJ, Latter JA, Mahajan RP.** Effects of norepinephrine and glyceryl trinitrate on cerebral haemodynamics: transcranial Doppler study in healthy volunteers. *Br J Anaesth* 100: 240-244, 2008.
205. **Morita Y, Hardebo JE, Bouskela E.** Influence of cerebrovascular parasympathetic nerves on resting cerebral blood flow, spontaneous vasomotion, autoregulation, hypercapnic vasodilation and sympathetic vasoconstriction. *J Auton Nerv Syst* 49 Suppl: S9-14, 1994.
206. **Morita Y, Hardebo JE, Bouskela E.** Influence of cerebrovascular sympathetic, parasympathetic, and sensory nerves on autoregulation and spontaneous vasomotion. *Acta Physiol Scand* 154: 121-130, 1995.
207. **Mountcastle VB.** Modality and topographic properties of single neurons of cat's somatic sensory cortex. *J Neurophysiol* 20: 408-434, 1957.
208. **Mueller SM, Ertel PJ, Felten DL, Overhage JM.** The chronic influence of sympathetic nerves on cerebral vessels is age-related. *Stroke* 14: 286-289, 1983.

209. **Mueller SM, Heistad DD, Marcus ML.** Total and regional cerebral blood flow during hypotension, hypertension, and hypocapnia. Effect of sympathetic denervation in dogs. *Circ Res* 41: 350-356, 1977.
210. **Mufti RE, Brett SE, Tran CHT, Abd El-Rahman R, Anfinogenova Y, El-Yazbi A, Cole WC, Jones PP, Chen SRW, Welsh DG.** Intravascular pressure augments cerebral arterial constriction by inducing voltage-insensitive Ca<sup>2+</sup> waves. *J Physiol (Lond)* 588: 3983-4005, 2010.
211. **Müller T, Löhle M, Schubert H, Bauer R, Wicher C, Antonow-Schlorke I, Sliwka U, Nathanielsz PW, Schwab M.** Developmental changes in cerebral autoregulatory capacity in the fetal sheep parietal cortex. *J Physiol (Lond)* 539: 957-967, 2002.
212. **Müller T, Löhle M, Schubert H, Bauer R, Wicher C, Antonow-Schlorke I, Sliwka U, Nathanielsz PW, Schwab M.** Developmental changes in cerebral autoregulatory capacity in the fetal sheep parietal cortex. *J Physiol (Lond)* 539: 957-967, 2002.
213. **Murkin JM, Lee DH.** Noninvasive measurement of cerebral blood flow: techniques and limitation. *Can J Anesth* 38: 805-808, 1991.
214. **Murray CJ, Lopez AD.** Mortality by cause for eight regions of the world: Global Burden of disease Study. *Lancet* 349: 1269-1276, 1997.
215. **Nafz B, Wagner CD, Persson PB.** Endogenous nitric oxide buffers blood pressure variability between 0.2 and 0.6 Hz in the conscious rat. *Am J Physiol* 272: H632-637, 1997.
216. **Naqvi TZ, Hyuhn HK.** Cerebrovascular mental stress reactivity is impaired in hypertension. *Cardiovasc Ultrasound* 7: 32, 2009.
217. **Ngai AC, Winn HR.** Modulation of cerebral arteriolar diameter by intraluminal flow and pressure. *Circ Res* 77: 832-840, 1995.
218. **Nielsen KC, Owman C.** Adrenergic innervation of pial arteries related to the circle of Willis in the cat. *Brain Res* 6: 773-776, 1967.
219. **Nielsen KC, Owman C.** Contractile response and amine receptor mechanisms in isolated middle cerebral artery of the cat. *Brain Res* 19: 33-42, 1971.
220. **Nitahara K, Dan K.** Blood flow velocity changes in carotid and vertebral arteries with stellate ganglion block: measurement by magnetic resonance imaging using a direct bolus tracking method. *Reg Anesth Pain Med* 23: 600-604, 1998.
221. **Obrist WD, Wilkinson WE.** Regional cerebral blood flow measurement in humans by xenon-133 clearance. *Cerebrovasc Brain Metab Rev* 2: 283-327, 1990.
222. **Ogoh S.** Comments on Point:Counterpoint: Sympathetic activity does/does not influence cerebral blood flow. Autonomic nervous system influences dynamic cerebral blood flow. *J Appl Physiol* 105: 1370, 2008.
223. **Ogoh S, Brothers RM, Eubank WL, Raven PB.** Autonomic neural control of the cerebral vasculature: acute hypotension. *Stroke* 39: 1979-1987, 2008.

224. **Ogoh S, Tzeng Y-C, Lucas SJE, Galvin SD, Ainslie PN.** Influence of baroreflex-mediated tachycardia on the regulation of dynamic cerebral perfusion during acute hypotension in humans. *J Physiol (Lond.)* 588: 365-371, 2010.
225. **Ohata M, Fredericks WR, Sundaram U, Rapoport SI.** Effects of immobilization stress on regional cerebral blood flow in the conscious rat. *J Cereb Blood Flow Metab* 1: 187-194, 1981.
226. **Olesen J.** The effect of intracarotid epinephrine, norepinephrine, and angiotensin on the regional cerebral blood flow in man. *Neurology* 22: 978-987, 1972.
227. **Omar NM, Marshall JM.** Age-related changes in sympathetic innervation of cerebral vessels and in carotid vascular responses to norepinephrine: in vitro and in vivo studies. *J Appl Physiol* 109: 305-313, 2010.
228. **Omar NM, Marshall JM.** Age-related changes in the sympathetic innervation of cerebral vessels and in carotid vascular responses to norepinephrine in the rat: in vitro and in vivo studies. *J Appl Physiol* 109: 314-322, 2010.
229. **Onoue H, Nakamura N, Toda N.** Endothelium-dependent and -independent responses to vasodilators of isolated dog cerebral arteries. *Stroke* 19: 1388-1394, 1988.
230. **Osol G, Halpern W.** Myogenic properties of cerebral blood vessels from normotensive and hypertensive rats. *Am J Physiol* 249: H914-921, 1985.
231. **Owman C, Edvinsson L, Nielsen KC.** Autonomic neuroreceptor mechanisms in brain vessels. *Blood Vessels* 11: 2-31, 1974.
232. **Panerai RB.** Complexity of the human cerebral circulation. *Philos Transact A Math Phys Eng Sci* 367: 1319-1336, 2009.
233. **Paravicini TM, Miller AA, Drummond GR, Sobey CG.** Flow-induced cerebral vasodilatation in vivo involves activation of phosphatidylinositol-3 kinase, NADPHoxidase, and nitric oxide synthase. *J Cereb Blood Flow Metab* 26:836-845, 2006.
234. **Pardridge WM.** Blood – Brain barrier transport mechanisms. In: *Primer on cerebrovascular diseases*, edited by Welch KMA., Caplan LR, Reis DJ, Siesjö BK and Weir B. San Diego: Academic Press, p. 21-25, 1997.
235. **Pasztor E, Symon L, Dorsch NW, Branston NM.** The hydrogen clearance method in assessment of blood flow in cortex, white matter and deep nuclei of baboons. *Stroke* 4: 556-567, 1973.
236. **Paulson OB, Knudsen GM.** Comments on Point:Counterpoint: Sympathetic activity does/does not influence cerebral blood flow. Role of a rudimentary sympathetic nervous system on cerebral blood flow. *J Appl Physiol* 105: 1371-1372, 2008.
237. **Paulson OB, Strandgaard S, Edvinsson L.** Cerebral autoregulation. *Cerebrovasc Brain Metab Rev* 2: 161-192, 1990.

238. **Paulson OB, Waldemar G, Andersen AR, Barry DI, Pedersen EV, Schmidt JF, Vorstrup S.** Role of angiotensin in autoregulation of cerebral blood flow. *Circulation* 77: 155-58, 1988.
239. **Peerless SJ, Yasargil MG.** Adrenergic innervation of the cerebral blood vessels in the rabbit. *J Neurosurg* 35: 148-154, 1971.
240. **Pham YT, Gimenez F.** Capture, efflux et modulation du transport des médicaments au niveau cérébral. *J Pharm Clin* 20: 52-53, 2001.
241. **Pinard E, Rigaud AS, Riche D, Naquet R, Seylaz J.** Continuous determination of the cerebrovascular changes induced by bicuculline and kainic acid in unanaesthetized spontaneously breathing rats. *Neuroscience* 23: 943-952, 1987.
242. **Pires SL, Barrès C, Sassard J, Julien C.** Renal blood flow dynamics and arterial pressure lability in the conscious rat. *Hypertension* 38: 147-152, 2001.
243. **Prakash ES.** Comments on Point:Counterpoint: Sympathetic activity does/does not influence cerebral blood flow. When noradrenergic restraint of cerebral blood flow makes homeostatic sense. *J Appl Physiol* 105: 1373, 2008.
244. **Purdy RE, Bevan JA.** Adrenergic innervation of large cerebral blood vessels of the rabbit studied by fluorescence microscopy. Absence of features that might contribute to non-uniform change in cerebral blood flow. *Stroke* 8: 82-87, 1977.
245. **Purves MJ.** Responses to "evidence that neural mechanisms do not have important effects on cerebral blood flow". *Circ Res* 43: 816, 1978.
246. **Purves MJ, James IM.** Observations on the control of cerebral blood flow in the sheep fetus and newborn lamb. *Circ Res* 25: 651-667, 1969.
247. **Radaelli A, Cazzaniga M, Viola A, Balestri G, Janetti MB, Signorini MG, Castiglioni P, Azzellino A, Mancina G, Ferrari AU.** Enhanced baroreceptor control of the cardiovascular system by polyunsaturated fatty acids in heart failure patients. *J Am Coll Cardiol* 48: 1600-1606, 2006.
248. **Randall DC, Brown DR, Brown LV, Kilgore JM.** Sympathetic nervous activity and arterial blood pressure control in conscious rat during rest and behavioral stress. *Am J Physiol* 267: R1241-1249, 1994.
249. **Raper AJ, Kontos HA, Wei EP, Patterson JL Jr.** Unresponsiveness of pial precapillary vessels to catecholamines and sympathetic nerve stimulation. *Circ Res* 31: 257-266, 1972.
250. **Rapoport SI.** Opening of the blood-brain barrier by acute hypertension. *Exp Neurol* 52: 467-479, 1976.
251. **Ray CJ, Abbas MR, Coney AM, Marshall JM.** Interactions of adenosine, prostaglandins and nitric oxide in hypoxia-induced vasodilatation: in vivo and in vitro studies. *J Physiol (Lond)* 544: 195-209, 2002.
252. **Regrigny O.** Mélatonine et autorégulation du débit sanguin cérébral. *Thèse de doctorat*, Université de Nancy, 2000.

253. **Reimann C, Lluch S, Glick G.** Development and evaluation of an experimental model for the study of the cerebral circulation in the unanesthetized goat. *Stroke* 3: 322-328, 1972.
254. **Revel A, Oréa V, Chapuis B, Barrès C, Julien C.** Role of the sympathetic nervous system in cerebrovascular responses to air-jet stress in rats. *Stress*, 2011. [Epub ahead of print]
255. **Risberg J, Ingvar DH.** Patterns of activation in the grey matter of the dominant hemisphere during memorizing and reasoning. A study of regional cerebral blood flow changes during psychological testing in a group of neurologically normal patients. *Brain* 96: 737-756, 1973.
256. **Rosenblum WI.** The "richness" of sympathetic innervation. A comparison of cerebral and extracerebral blood vessels. *Stroke* 7: 270-271, 1976a.
257. **Rosenblum WI.** Pial arteriolar responses in the mouse brain revisited. *Stroke* 7: 283-287, 1976b.
258. **Rosenblum WI.** Regional cerebral blood flow in the anesthetized mouse as measured by local hydrogen clearance. *Stroke* 8: 103-106, 1977.
259. **Rothwell PM, Howard SC, Dolan E, O'Brien E, Dobson JE, Dahlöf B, Sever PS, Poulter NR.** Prognostic significance of visit-to-visit variability, maximum systolic blood pressure, and episodic hypertension. *Lancet* 375: 895-905, 2010.
260. **Rubanyi GM, Freay AD, Kauser K, Johns A, Harder DR.** Mechanoreception by the endothelium: mediators and mechanisms of pressure- and flow-induced vascular responses. *Blood Vessels* 27: 246-257, 1990.
261. **Sadoshima S, Busija DW, Heistad DD.** Mechanisms of protection against stroke in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Am J Physiol* 244: H406-412, 1983.
262. **Sadoshima S, Heistad D.** Sympathetic nerves protect the blood-brain barrier in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Hypertension* 4: 904-907, 1982.
263. **Sadoshima S, Fujishima M, Yoshida F, Ibayashi S, Shiokawa O, Omae T.** Cerebral autoregulation in young spontaneously hypertensive rats. Effect of sympathetic denervation. *Hypertension* 7: 392-397, 1985.
264. **Sándor P.** Nervous control of the cerebrovascular system: doubts and facts. *Neurochem Int* 35: 237-259, 1999.
265. **Sato T, Sato S, Suzuki J.** Correlation with superior cervical sympathetic ganglion and sympathetic nerve innervation of intracranial artery-electron microscopical studies. *Brain Res* 188: 33-41, 1980.
266. **Savastano LE, Castro AE, Fitt MR, Rath MF, Romeo HE, Muñoz EM.** A standardized surgical technique for rat superior cervical ganglionectomy. *J Neurosci Methods* 192: 22-33, 2010.
267. **Schadt JC, Hasser EM.** Hemodynamic effects of acute stressors in the conscious rabbit. *Am J Physiol* 274: R814-821, 1998.

268. **Schadt JC, Hasser EM.** Hemodynamic effects of blood loss during a passive response to a stressor in the conscious rabbit. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 286: R373-380, 2004.
269. **Schmidt CF.** The intrinsic regulation of the circulation in the parietal cortex of the cat. *Am J Physiol* 114: 572-585, 1936.
270. **Schubert R, Mulvany MJ.** The myogenic response: established facts and attractive hypotheses. *Clin Sci* 96: 313-326, 1999.
271. **Schumann-Bard P, Touzani O, Young AR, Toutain J, Baron J-C, Mackenzie ET, Schmidt EA.** Cerebrovascular effects of sodium nitroprusside in the anaesthetized baboon: a positron emission tomographic study. *J Cereb Blood Flow Metab* 25: 535-544, 2005.
272. **Sercombe R, Verrecchia C, Oudart N, Dimitriadou V, Seylaz J.** Pial artery responses to norepinephrine potentiated by endothelium removal. *J Cereb Blood Flow Metab* 5: 312-317, 1985.
273. **Seylaz J, Pinard E, Meric P, Correze JL.** Local cerebral PO<sub>2</sub>, PCO<sub>2</sub>, and blood flow measurements by mass spectrometry. *Am J Physiol* 245: H513-518, 1983.
274. **Shapiro PA, Sloan RP, Bagiella E, Kuhl JP, Anjilvel S, Mann JJ.** Cerebral activation, hostility, and cardiovascular control during mental stress. *J Psychosom Res* 48: 485-491, 2000.
275. **Shibata S, Cheng JB, Murakami W.** Reactivity of isolated human cerebral arteries to biogenic amines. *Blood Vessels* 14: 356-365, 1977.
276. **Skinhøj E.** The sympathetic nervous system and the regulation of cerebral blood flow in man. *Stroke* 3: 711-716, 1972.
277. **Soehle M, Czosnyka M, Chatfield DA, Hoeft A, Peña A.** Variability and fractal analysis of middle cerebral artery blood flow velocity and arterial blood pressure in subarachnoid hemorrhage. *J Cereb Blood Flow Metab* 28: 64-73, 2008.
278. **Sohn YH.** Cerebral hemodynamics changes induced by sympathetic stimulation test. *Yonsei medical Journal* 39: 322-327, 1998.
279. **Sokoloff L.** Anatomy of cerebral circulation. In: *Primer on cerebrovascular diseases*, edited by Welch KMA., Caplan LR, Reis DJ, Siesjö BK and Weir B. San Diego: Academic Press, p. 3-5, 1997.
280. **Stewart PA.** Glial – Vascular relations. In: *Primer on cerebrovascular diseases*, edited by Welch KMA., Caplan LR, Reis DJ, Siesjö BK and Weir B. San Diego: Academic Press, p. 17-21, 1997.
281. **Strandgaard S, Olesen J, Skinhoj E, Lassen NA.** Autoregulation of brain circulation in severe arterial hypertension. *Br Med J* 1: 507-510, 1973.
282. **Strandgaard S, Sigurdsson ST.** Point:Counterpoint: Sympathetic activity does/does not influence cerebral blood flow. Counterpoint: Sympathetic nerve activity does not influence cerebral blood flow. *J Appl Physiol* 105: 1366-1367; discussion 1367-1368, 2008.



283. **Suzuki Y, Lederis K, Huang M, LeBlanc FE, Rorstad OP.** Relaxation of bovine, porcine and human brain arteries by parathyroid hormone. *Life Sci* 33: 2497-2503, 1983.
284. **Szirmai I, Amrein I, Pálvölgyi L, Debreczeni R, Kamondi A.** Correlation between blood flow velocity in the middle cerebral artery and EEG during cognitive effort. *Brain Res Cogn Brain Res* 24: 33-40, 2005.
285. **Takahashi S, Cook M, Jehle J, Kennedy C, Sokoloff L.** Preservation of autoregulatory cerebral vasodilator responses to hypotension after inhibition of nitric oxide synthesis. *Brain Res* 678: 21-28, 1995.
286. **Tamamaki N, Nojyo Y.** Intracranial trajectories of sympathetic nerve fibers originating in the superior cervical ganglion in the rat: WGA-HRP anterograde labeling study. *Brain Res* 437: 387-392, 1987.
287. **Tanaka K, Fukuuchi Y, Gomi S, Mihara B, Shirai T, Nogawa S, Nozaki H, Nagata E.** Inhibition of nitric oxide synthesis impairs autoregulation of local cerebral blood flow in the rat. *Neuroreport* 4: 267-270, 1993.
288. **Tanaka S, Tanaka M, Akashi A.** Influence of antihypertensive treatment with budralazine on autoregulation of cerebral blood flow in spontaneously hypertensive rats. *Stroke* 20: 1724-1729, 1989.
289. **Thomsen LL, Iversen HK, Boesen F, Olesen J.** Transcranial Doppler and cardiovascular responses during cardiovascular autonomic tests in migraineurs during and outside attacks. *Brain* 118: 119-1327, 1995.
290. **Thrift AG, Dewey HM, Macdonnel RA, McNeil JJ, Donnan GA.** Incidence of the major stroke subtypes: initial findings from the North East Melbourne incidence study (NEMESIS). *Stroke* 32: 1732-1738, 2001.
291. **Toda N, Fujita Y.** Responsiveness of isolated cerebral and peripheral arteries to serotonin, norepinephrine, and transmural electrical stimulation. *Circ Res* 33: 98-104, 1973.
292. **Tonnesen J, Pryds A, Larsen EH, Paulson OB, Hauerberg J, Knudsen GM.** Laser Doppler flowmetry is valid for measurement of cerebral blood flow autoregulation lower limit in rats. *Exp Physiol* 90: 349-355, 2005.
293. **Traystman RJ.** Regulation of cerebral blood flow by carbon dioxide. In: *Primer on cerebrovascular diseases*, edited by Welch KMA., Caplan LR, Reis DJ, Siesjö BK and Weir B. San Diego: Academic Press, p. 55-58, 1997.
294. **Traystman RJ, Rapela CE.** Effect of sympathetic nerve stimulation on cerebral and cephalic blood flow in dogs. *Circ Res* 36: 620-630, 1975.
295. **Tuor UI, Edvinsson L, McCulloch J.** Catecholamines and the relationship between cerebral blood flow and glucose use. *Am J Physiol* 251: H824-833, 1986.

296. **Tzeng Y-C, Willie CK, Atkinson G, Lucas SJE, Wong A, Ainslie PN.** Cerebrovascular regulation during transient hypotension and hypertension in humans. *Hypertension* 56: 268-273, 2010.
297. **Uchida E, Bohr DF, Hoobler SW.** A method for studying isolated resistance vessels from rabbit mesentery and brain and their responses to drugs. *Circ Res* 21: 525-536, 1967.
298. **Uddin MA, Haq TU, Rafique MZ.** Cerebral venous system anatomy. *J Pak Med Assoc* 56: 516-519, 2006.
299. **Umeyama T, Kugimiya T, Ogawa T, Kandori Y, Ishizuka A, Hanaoka K.** Changes in cerebral blood flow estimated after stellate ganglion block by single photon emission computed tomography. *J Auton Nerv Syst* 50: 339-346, 1995.
300. **Urquilla PR, Marco EJ, Lluch S.** Pharmacological receptors of the cerebral arteries of the goat. *Blood Vessels* 12: 53-67, 1975.
301. **van Lieshout JJ, Secher NH.** Point:Counterpoint: Sympathetic activity does/does not influence cerebral blood flow. Point: Sympathetic activity does influence cerebral blood flow. *J Appl Physiol* 105: 1364-1366, 2008a.
302. **van Lieshout JJ, Secher NH.** Point:Counterpoint: Sympathetic activity does/does not influence cerebral blood flow. Rebuttal from van Lieshout and Secher. *J Appl Physiol* 105: 1367-1368, 2008b.
303. **Vianna LC, Araújo CG, Fisher JP.** Influence of central command and muscle afferent activation on anterior cerebral artery blood velocity responses to calf exercise in humans. *J Appl Physiol* 107: 1113-1120, 2009.
304. **Vinall PE, Simeone FA.** Cerebral autoregulation: an in vitro study. *Stroke* 12: 640-642, 1981.
305. **Visocchi M.** Comments on Point:Counterpoint: Sympathetic activity does/does not influence cerebral blood flow. Sympathetic activity does influence cerebral blood flow. *J Appl Physiol* 105: 1369, 2008.
306. **Wagerle LC, Heffernan TM, Sacks LM, Delivoria-Papadopoulos M.** Sympathetic effect on cerebral blood flow regulation in hypoxic newborn lambs. *Am J Physiol* 245: H487-494, 1983.
307. **Waldstein SR, Siegel EL, Lefkowitz D, Maier KJ, Brown JRP, Obuchowski AM, Katzel LI.** Stress-induced blood pressure reactivity and silent cerebrovascular disease. *Stroke* 35: 1294-1298, 2004.
308. **Waller J, Gardiner SM, Bennett T.** Regional haemodynamic responses to acetylcholine, methoxamine, salbutamol and bradykinin during lipopolysaccharide infusion in conscious rats. *Br J Pharmacol* 112: 1057-1064, 1994.
309. **Wallis SJ, Firth J, Dunn WR.** Pressure-induced myogenic responses in human isolated cerebral resistance arteries. *Stroke* 27: 2287-2291, 1996.



310. **Waltz AG, Yamaguchi T, Regli F.** Regulatory responses of cerebral vasculature after sympathetic denervation. *Am J Physiol* 221: 298-302, 1971.
311. **Wang J, Korczykowski M, Rao H, Fan Y, Pluta J, Gur RC, McEwen BS, Detre JA.** Gender difference in neural response to psychological stress. *Soc Cogn Affect Neurosci* 2: 227-239, 2007.
312. **Wang Q, Paulson OB, Lassen NA.** Effect of nitric oxide blockade by NG-nitro-L-arginine on cerebral blood flow response to changes in carbon dioxide tension. *J Cereb Blood Flow Metab* 12: 947-953, 1992.
313. **Wei EP, Kontos HA, Patterson JL.** Vasoconstrictor effect of angiotensin on pial arteries. *Stroke* 9: 487-489, 1978.
314. **Wei EP, Raper AJ, Kontos HA, Patterson JL Jr.** Determinants of response of pial arteries to norepinephrine and sympathetic nerve stimulation. *Stroke* 6: 654-658, 1975.
315. **Wellens D, Wouters L, Nijkamp FP, De Jong W.** Distribution of the blood flow supplied by the vertebral artery in rats: anatomical, functional and pharmacological aspects. *Experientia* 32: 85-87, 1976.
316. **Wellman GC, Nathan DJ, Saundry CM, Perez G, Bonev AD, Penar PL, Tranmer BI, Nelson MT.** Ca<sup>2+</sup> sparks and their function in human cerebral arteries. *Stroke* 33: 802-808, 2002.
317. **Winquist RJ, Webb RC, Bohr DF.** Relaxation to transmural nerve stimulation and exogenously added norepinephrine in porcine cerebral vessels. A study utilizing cerebrovascular intrinsic tone. *Circ Res* 51: 769-776, 1982.
318. **Yoshino K, Hayakawa M, Niki E, Matsuoka K.** Closed-loop analysis of cardiovascular variability in rats under restraint stress. *Auton Neurosci* 119: 61-66, 2005.
319. **Yu YH, Blessing WW.** Acute increases in forebrain blood flow during alerting responses in conscious rabbits. *Brain Res* 767: 1-7, 1997.
320. **Yu YH, Zhu BS, Blessing WW.** Continuous measurement of change in internal carotid and vertebral arterial blood flow with chronically implanted ultrasonic Doppler probes in anesthetized and conscious rabbits. *J Cereb Blood Flow Metab* 16: 1058-1076, 1996.
321. **Zhang R, Crandall CG, Levine BD.** Cerebral hemodynamics during the Valsalva maneuver: insights from ganglionic blockade. *Stroke* 35: 843-847, 2004.
322. **Zhang R, Levine BD.** Autonomic ganglionic blockade does not prevent reduction in cerebral blood flow velocity during orthostasis in humans. *Stroke* 38: 1238-1244, 2007.
323. **Zhang R, Zuckerman JH, Iwasaki K, Wilson TE, Crandall CG, Levine BD.** Autonomic neural control of dynamic cerebral autoregulation in humans. *Circulation* 106: 1814-1820, 2002.
324. **Zhang R, Zuckerman JH, Levine BD.** Deterioration of cerebral autoregulation during orthostatic stress: insights from the frequency domain. *J Appl Physiol* 85: 1113-1122, 1998.

325. **Zhang R, Zuckerman JH, Levine BD.** Spontaneous fluctuations in cerebral blood flow: insights from extended-duration recordings in humans. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 278: H1848-1855, 2000.
326. **Zhang ZQ, Julien C, Barrès C.** Baroreceptor modulation of regional haemodynamic responses to acute stress in rat. *J Auton Nerv Syst* 60: 23-30, 1996.
327. **Zimmer R, Lang R, Oberdörster G.** Effects of catecholamine infusions on cerebral blood flow and oxygen consumption of the isolated perfused dog brain. *Stroke* 5: 397-405, 1974.



ANNEXE 1 :

Avis favorable du comité d'éthique de l'université Lyon 1 pour le protocole « effet d'une sympathectomie cervicale chronique sur le débit sanguin cérébral »



DEPARTEMENT DE FORMATION  
ET CENTRE DE RECHERCHE  
EN BIOLOGIE HUMAINE

Adresse : Domaine Rockefeller  
8, avenue Rockefeller  
69373 Lyon cedex 08  
Tel : 04.78.77.70.38

Lyon, le 11 Septembre 2009

Dr Claude JULIEN

Objet : Votre protocole BH2009-21

Cher collègue,

Votre protocole BH 2009-21 intitulé « Effet d'une sympathectomie cérébrale chronique sur le débit sanguin » a reçu un avis favorable par le Comité d'Expérimentation Animale de l'Université Claude Bernard Lyon I lors de sa séance du 07 Septembre 2009.

Je vous prie d'agréer, cher collègue, l'assurance de mes sentiments les meilleurs.

P. FARGE  
Pierre FARGE





---

RESUME en français

Ce travail avait pour but de déterminer, chez le rat vigile, le rôle de l'innervation sympathique dans le contrôle de l'hémodynamique cérébrale 1/ au cours d'une période d'activité normale d'environ 4 heures, et 2/ lors d'une augmentation aiguë de la pression artérielle (PA) induite par un stress émotionnel (jet d'air). Les débits sanguins dans les artères carotides internes (DSCa) ont été mesurés grâce à des sondes Doppler chroniquement implantées, chez des rats intacts ou ayant subi l'exérèse unilatérale du ganglion cervical supérieur.

Le stress induit une élévation brusque et importante de la PA qui s'accompagne d'une hyperémie et d'une vasodilatation beaucoup plus marquées du côté dénervé que du côté innervé. Dans les conditions de base, l'analyse spectrale révèle une augmentation de la variabilité du DSCa du côté dénervé. La cohérence entre les deux DSCa, qui fournit un index de corrélation linéaire dans le domaine fréquentiel, a été calculée avant (cohérence ordinaire) et après élimination mathématique de l'influence de la PA (cohérence partielle). Les cohérences ordinaire et partielle sont diminuées par la sympathectomie unilatérale dans une bande de fréquences comprises entre 0,01 et 0,1 Hz. Ceci suggère un rôle modulateur important de l'innervation sympathique vis-à-vis de ces fluctuations lentes des DSCa.

Ces résultats montrent que chez le rat vigile, l'innervation sympathique exerce un rôle protecteur de la circulation cérébrale face aux augmentations de PA au cours du stress émotionnel. Par ailleurs, cette innervation module des fluctuations spontanées lentes du débit sanguin cérébral qui ne sont pas directement reliées aux fluctuations de la PA.

---

TITRE en anglais

SYMPATHETIC INNERVATION AND CEREBRAL HEMODYNAMICS IN THE RAT

---

RESUME en anglais

The goal of the present work was to determine, in conscious rats, the role of the sympathetic innervation in the control of cerebral hemodynamics 1/ during a baseline period lasting ~4 h, and 2/ during an acute increase in blood pressure (BP) evoked by an emotional stressor (jet of air). Blood flows in internal carotid arteries (CaBF) were recorded with Doppler flow probes chronically implanted in intact rats and in rats that underwent unilateral excision of the superior cervical ganglion.

Stress induced a large and brisk increase in BP which was accompanied by hyperemia and vasodilatation that were much stronger on the denervated than on the intact side. Spectral analysis demonstrated an overall enhancement of CaBF variability on the denervated side. Coherence between the two CaBFs, which provides an index of linear correlation in the frequency domain, was computed before (ordinary coherence) and after (partial coherence) mathematically eliminating the influence of BP. Both ordinary and partial coherences were lowered by unilateral sympathectomy in the 0.01-0.1 Hz frequency range, which suggests an important modulatory role for sympathetic innervation with respect to these slow CaBF fluctuations.

These results indicate that in the conscious rat, sympathetic innervation plays a protective role of the cerebral circulation in the face of stress-induced increases in BP. On the other hand, this innervation modulates slow, spontaneous fluctuations of cerebral blood flow which are not directly related to BP fluctuations.

---

DISCIPLINE : Biologie, Médecine, Santé

---

MOTS-CLES : système nerveux sympathique, débit sanguin cérébral, stress émotionnel, variabilité tensionnelle  
KEYWORDS : sympathetic nervous system, cerebral blood flow, emotional stress, arterial pressure variability

---

INTITULE ET ADRESSE DE L'U.F.R. OU DU LABORATOIRE :

EA 4612 Unité de neurocardiologie : Physiopathologie des troubles du rythme cardiaque.  
Université Claude Bernard Lyon 1, ISPB, Faculté de Pharmacie, 8 avenue Rockefeller, 69008 LYON