



HAL
open science

Effets des acides gras ω -3 sur l'inflammation cérébro-vasculaire associée à la maladie d'Alzheimer et aux angiopathies amyloïdes cérébrales

Justine Hur

► **To cite this version:**

Justine Hur. Effets des acides gras ω -3 sur l'inflammation cérébro-vasculaire associée à la maladie d'Alzheimer et aux angiopathies amyloïdes cérébrales. Physiologie [q-bio.TO]. Université Pierre et Marie Curie - Paris VI, 2017. Français. NNT : 2017PA066384 . tel-01744309

HAL Id: tel-01744309

<https://theses.hal.science/tel-01744309>

Submitted on 27 Mar 2018

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.

THESE DE DOCTORAT DE L'UNIVERSITE PIERRE ET MARIE CURIE
Ecole Doctorale Physiologie, Physiopathologie et Thérapeutique (ED 394)

réalisée au sein de l'UMR 8256 CNRS/UPMC
Adaptation Biologique et Vieillessement
Contrôle Phénotypique des Cellules Musculaires Lisses Vasculaires

Effets des acides gras ω -3 sur
l'inflammation cérébro-vasculaire
associée à la maladie d'Alzheimer et aux
angiopathies amyloïdes cérébrales

Présentée par

Justine Hur

dirigée par

le **Professeur Isabelle LIMON**

et le **Maitre de Conférences Régis BLAISE**

soutenance publique le 29 septembre 2017

JURY COMPOSE DE

M. Pierre AUCOUTURIER, Professeur

Université Pierre et Marie Curie, Paris

Président

M. Nicolas SERGEANT, Directeur de Recherche Inserm

Université Lille Nord de France, Lille

Rapporteur

M. Jean-Luc OLIVIER, Professeur

Université de Lorraine

Rapporteur

Mme Emmanuelle PLAISIER, Professeur

Université Pierre et Marie Curie, Paris

Examineur

M. Guillaume DOROTHE, Chargé de Recherche Inserm

Université Pierre et Marie Curie, Paris

Examineur

Résumé

Du point de vue histopathologique, la maladie d'Alzheimer neurodégénérative (MA) est caractérisée par la présence de plaques amyloïdes composées de peptides A β et d'une accumulation d'enchevêtrements neuro-fibrillaires liés à la protéine Tau hyper-phosphorylée dans le parenchyme cérébral, associés à une perte neuronale au sein de régions cérébrales sélectives. Les peptides A β peuvent également s'accumuler dans le système vasculaire cérébral (angiopathie amyloïde cérébrale, AAC), soit autour des capillaires du cervelet, du cortex cérébral et des leptoméninges, soit dans la couche de cellules musculaires lisses (CML) des moyennes et grandes artères cérébrales. L'AAC est maintenant reconnue comme un contributeur majeur de la pathogenèse de la MA puisque les dommages vasculaires induits par le peptide A β , souvent responsables de microhémorragies, limitent l'approvisionnement en sang du cerveau, causant des privations de glucose cellulaire et d'oxygène et un stress oxydatif. L'ensemble de ces conséquences entraîne inexorablement une plus grande morbidité et mortalité des patients atteints d'AAC et de MA. Comme la MA, l'AAC est souvent accompagnée d'une inflammation potentialisant les vasculopathies associées. À l'heure actuelle, aucune thérapie ni aucune stratégie de prévention n'est disponible. Il est maintenant bien connu que le DHA, un acide gras polyinsaturé oméga-3 majeur, contrecarre l'inflammation. Par conséquent, l'utilisation de DHA peut potentiellement exercer un effet bénéfique sur la pathogenèse des pathologies amyloïdes.

L'objectif principal de ma thèse consistait donc à évaluer l'impact d'une alimentation enrichie en oméga-3 (principalement composé de DHA) sur l'inflammation cérébrovasculaire et périphérique et ses conséquences sur les dépôts de peptide A β parenchymateux et vasculaires au cours du vieillissement. Nous avons pu démontrer qu'un modèle de souris transgénique de la MA et de l'AAC, les Tg2576, ayant reçu un régime enrichi en DHA tout au long du processus de vieillissement, présentent une diminution des dépôts vasculaires et des foyers hémorragiques. Or, les dépôts de peptides A β parenchymateux ne sont pas affectés. En outre, nous avons montré une forte corrélation entre la superficie des dépôts amyloïdes vasculaires, celle des hémorragies, et le niveau de 12-HETE systémique. Le 12-HETE est produit à partir de l'acide arachidonique, principal acide gras polyinsaturé oméga-6, sous l'action de la 12-lipoxygénase (12-LOX). Il est parmi les médiateurs lipidiques pro-inflammatoires ayant les niveaux les plus bas dans le groupe de souris alimentées par du DHA. Enfin, les expériences complémentaires *in vitro*, réalisées sur des cellules musculaires lisses vasculaires en contexte amyloïde, prouvent que l'inhibition de la 12-LOX par la baicaleine bloque presque complètement l'apoptose des CML induite par le peptide A β 1-40.

Le travail réalisé au cours de ma thèse a permis de mettre en évidence l'effet protecteur du DHA sur l'évolution et les conséquences de l'accumulation cérébro-vasculaire du peptide A β et de relever un lien entre le niveau de 12-HETE plasmatique et cette accumulation de peptide A β . Il souligne donc encore une fois l'importance de l'inflammation dans la pathogenèse de l'AAC tout en ouvrant une nouvelle voie pour les cibles potentielles dans l'intervention préventive de cette pathologie. En conclusion, nos résultats et ceux d'autres équipes suggèrent qu'un régime riche en oméga-3 pourrait prévenir ou ralentir la progression de la MA et de l'AAC. En effet, la résorption des altérations vasculaires par les oméga-3 pourrait limiter la pathogenèse de l'AAC et de la maladie d'Alzheimer et pourrait favoriser la réduction de la neuro-dégénérescence et des troubles cognitifs qui leur sont associés.

Abréviations

AA :	Acide arachidonique
AAC :	Angiopathie amyloïde cérébrale
ACA :	Artère cérébrale antérieure
ACE :	Acyl-peptide hydrolase
ACS :	Acyl-CoA synthetase
ACT :	Adult Changes in Thought
ADAM :	A Disintegrin And Metalloprotease
ADNc :	Acide Désoxyribonucléique complémentaire
ADRDA :	Alzheimer's Disease and Related Disorders Association
AGMI :	Acide gras monoinsaturé
AGPI :	Acide gras polyinsaturé
AGS :	Acide gras saturé
AICD :	Amyloid intra-cellular domain
AINS :	Anti-inflammatoire non stéroïdien
ALA :	Acide α -linoléique
ALX/FRPR2:	N-formyl peptide receptor 2
AMPC :	Adénosine monophosphate cyclique
APH1 ou 2 :	Anterior pharynx-defective 1 ou 2
Apo :	Apolipoprotéine
APP :	Amyloid precursor protein
APPs :	Amyloid precursor protein soluble
ARN :	Acide ribonucléique
ATL :	Aspirin-triggered lipoxin
ATP :	Adénosine Tri-Phosphate
AVC :	Accident vasculaire cérébral
A β :	Peptide amyloïde bêta
BA :	Artère basilaire
BACE1 ou 2 :	β -site APP cleaving enzyme 1 ou 2
BHE :	Barrière hémato-encéphalique
BLT1 :	Leukotriene B4 receptor 1
BRI2 :	BRICHOS domain containing 2
CASK :	protéine kinase dépendante du Ca ²
Cat :	Cathepsine
CCL :	Chemokine ligand
ChemR23 :	Chemerin receptor 23
CLU :	Clusterine
CML :	Cellule musculaire lisse
CMLV :	Cellule musculaire lisse vasculaire
COX :	Cylooxygénase
CTF :	fragment C-terminal transmembranaire
CuBD :	domaine de liaison au cuivre
DAG :	diacylglycérol
DGAT :	DiaCylglycérol Acyl-Transférase
DGLA :	Acide Dihomo- γ -Linoléique
DHA :	Acide DocosaHexaénoïque
DR4 et DR5 :	Death Receptors 4 et 5
DSM :	Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders
ECE :	Endothelin converting enzyme
EGF :	facteur de croissance épidermique

EGFR :	Récepteur de l'EGF
EPA :	Acide eicosapentaénoïque
FABP :	Fatty acid binding protein
FABPpm :	Plasma membrane fatty acid binding protein
FAT/CD36 :	Fatty acid translocase
FATP1 :	Fatty acyl CoA synthetases
GABABR :	Récepteur du GABAB
GalCer :	Galactosylcéramide
GlcCer :	Glucosylcéramide
GPAT :	Glycerol-3-phosphate acyltransferase
GPCR :	G protein-coupled receptor
GRECO :	Groupe de Recherche sur les Evaluations Cognitives
GSK3 β :	Glycogen Synthase Kinase 3 beta
HAS :	Haute Autorité de Santé
HBD :	Domaine se liant à l'héparine
HCHWA-D :	Hereditary Cerebral Hemorrhage With Amyloidosis-Dutch type
HDL :	lipoprotéine de haute densité
HETE :	acide hydroeicosatetraénoïque
HPETE :	acide hydroperoxyeicosatetraénoïque
ICAM1 :	InterCellular Adhesion Molecule
IDE :	Insulin-degrading enzyme
IDL :	Lipoprotéine de densité intermédiaire
IEL :	Limitante élastique interne
IFN :	Interféron
IL :	Interleukine
IRM :	Imagerie par résonance magnétique nucléaire
IUPA :	International Union of Pure and Applied Chemists
JAM :	Junctional adhesion molecule
KO :	Knock-out
KPI :	Protéase du type Kunitz
LA :	Acide linoléique
LBP1 :	Fatty acid-binding protein homolog 1
LCR :	Liquide céphalorachidien
LDL :	Low-density lipoprotein
LDLR :	Récepteur des LDL
LOX :	Lipoxygénase
LPAAT :	Lysophosphatidic acid acyltransferase
LPS :	Lipopolysaccharide
LRP :	Low-density lipoprotein Receptor-related Protein 1
LRP4 :	LDL receptor related protein 4
LTB4 :	Leukotriène B4
LX :	Lipoxine
LXR :	Liver X receptor
MA :	Maladie d'Alzheimer
MAG :	Monoacylglycérol
MAGI :	Membrane-associated guanylate kinase
MAPT :	P301L, mutation du gène codant la protéine Tau
MCA :	Artère cérébrale moyenne
MCI :	Mid Cognitive Impairment
MFSD2A :	Major facilitator superfamily domain-containing protein 2A
MGAT :	Monoacylglycerol acyltransferase
MMP :	Métalloprotéinase matricielle

MMSE :	Mini Mental State Examination
MTP :	Microsomal Triglyceride Transfer Protein
NEP :	Néprilysine
NFS :	Numération formule sanguine
NFκB :	Nuclear factor-kappa B
NINCDS :	National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke
NMDAR :	Récepteur du NMDA
NO :	Oxyde nitrique
OA :	Acide oléique
PA :	Acide phosphatidique
PAF-AH :	Platelet-activating factor acetylhydrolase
PAR :	Partitioning defective protein
PCA :	Artère cérébrale postérieure
PG :	Prostaglandine
PGI ₂ :	Prostacycline
PHF :	Paired Helical Filaments
PI3K :	Phosphatidylinositol 3-Kinase
PICALM :	phosphatidylinositol-binding clathrin assembly protein
PLA :	phospholipase A
PLB :	phospholipase B
PLC :	phospholipase C
PLD :	phospholipase D
PPAR-γ :	peroxisome proliferator-activated receptor-gamma
PSEN1 ou 2 :	Préséniline 1 ou 2
PTB :	Phosphotyrosine-binding domain
RAGE :	receptor for advanced glycation end products
ROS :	espèce réactive d'oxygène
Rv :	Résolvines
SNC :	Système nerveux central
SPM :	specialized proresolving lipid mediator
SREBP :	Sterol Response Element Binding Protein-1
TLR :	Toll-Like Receptors
TNF :	Tumor necrosis factor
tPA :	activateur plasminogène tissulaire
TRAIL :	Tumor necrosis-factor-Related Apoptosis-Inducing Ligand
TREM2 :	Triggering receptor expressed on myeloid cells 2
uPA :	Activateur du Plasminogène de type urokinase
VCAM1 :	Vascular cell adhesion molecule 1
VEGFR-2 :	Vascular endothelial growth factor receptor 2
VLDL :	Very Low Density Lipoprotein
VLDLR :	Récepteur des VLDL
ZO :	Zonula Occludens
α-SMA :	smooth muscle actine α

Liste des illustrations

Figure 1. Structure des domaines de la protéine APP770.....	17
Figure 2. Aperçu schématique des deux principales voies du clivage de l'APP.	20
Figure 3. Trafic et traitement de l'APP.	21
Figure 4. Le complexe de la γ -sécrétase.....	23
Figure 5. Génération des différents peptides A β à partir de l'APP.	24
Figure 6. Transport du peptide A β à travers la BHE.	28
Figure 7. Formation des différents stades d'agrégation des peptides A β	30
Figure 8. Représentation schématique de la structure d'un peptide A β 1-42.....	31
Figure 9. Anatomie des principales artères cérébrales.	34
Figure 10. L'anatomie du cercle de Willis.....	35
Figure 11. Structure et architecture des artères parenchymateuses et des leptoméninges.....	36
Figure 12. Comparaison entre un vaisseau périphérique et un vaisseau cérébral.	38
Figure 13. L'unité neurovasculaire en tant que composante du réseau nerveux vasculaire.....	39
Figure 14. Composition moléculaire des jonctions étroites endothéliales.	40
Figure 15. Localisation des dépôts amyloïdes au cours de l'AAC de type 1 et de type 2.	43
Figure 16. Représentation schématique d'une partie de l'APP, des positions de la séquence du peptide A β , du positionnement du domaine transmembranaire de l'APP dans la bicouche lipidique et des sites de clivage de l' α , la β et la γ -sécrétase.	48
Figure 17. Structure chimique de l'acide α -linoléique montrant différentes conventions de numérotation.	68
Figure 18. Structures des acides gras saturés, monoinsaturés et polyinsaturés.	71
Figure 19. Structure d'un triglycéride.	72
Figure 20. Hydrolyse des triglycérides.....	72
Figure 21. Processus de digestion et d'absorption des lipides alimentaires.....	73
Figure 22. Biosynthèse des acides gras à partir du Malonyl-CoA et de l'Acétyl-CoA.....	74
Figure 23. Biosynthèse des acides gras polyinsaturés.	75
Figure 24. Structure d'une lipoprotéine (lipoprotéines de très faible densité - VLDL).	76
Figure 25. Entrée des acide gras du plasma dans le cerveau.....	79
Figure 26. β -oxydation des acides gras.	80
Figure 27. Structure d'un glycérophospholipide.....	81
Figure 28. Le métabolisme des phospholipides dans le cycle de Lands.....	82
Figure 29. Activités des différentes phospholipases.	83

Figure 30. Voie de production des dérivés de l'acide arachidonique par les lipoxigénase.....	86
Figure 31. Les acides gras polyinsaturés, substrats pour les SPM.....	90
Figure 32. Schéma représentant l'effet du DHA sur la résolution de l'inflammation dans le contexte de la Maladie d'Alzheimer et de l'AAC.	137
Tableau 1. Principaux modèles d'AAC/MA utilisés avec l'apparition et les conséquences des dépôts amyloïdes parenchymateux (MA) et vasculaires (AAC), ainsi que les déficits cognitifs.	53
Tableau 2. Les acides gras prédominants, dans le corps humain et les aliments.	69
Tableau 3. Résumé des principaux médiateurs de la pro-résolution et leurs rôles en tant qu'éléments de résolution.	92

Sommaire

Introduction.....	11
PARTIE A. Généralités sur la maladie d'Alzheimer.....	12
1. Historique.....	12
2. Epidémiologie.....	12
3. Signes et symptômes.....	13
4. Diagnostic.....	14
5. Les démences dégénératives et vasculaires.....	15
Partie B. Mécanistique de la protéine précurseur de l'amyloïde ou amyloid precursor protein (APP).....	16
1. Structure de la protéine.....	16
2. Expression génique de l'APP.....	18
3. Fonction de l'APP.....	18
a. Adhérence cellulaire.....	19
b. Interactions protéiques.....	19
4. Clivages protéolytiques de l'APP.....	20
a. Itinéraire intracellulaire de l'APP.....	21
a. Voie non amyloïdogénique.....	22
b. Voie amyloïdogénique.....	23
c. Fonctions physiologiques des différents fragments générés.....	24
d. La clairance des peptide A β	26
5. Des peptides A β aux dépôts amyloïdes.....	29
a. Clairance et production dérégulée du peptide A β	29
b. A β : de la production de monomères à l'assemblage de la plaque.....	30
c. Toxicité du peptide A β	32
PARTIE C. L'Angiopathie Amyloïde Cérébrale (AAC).....	32
1. Le système cérébro-vasculaire.....	33
a. Anatomie.....	33

b. Structure des vaisseaux cérébraux.....	37
2. Epidémiologie, localisation des dépôts et pathophysiologie de l'AAC.....	41
a. Epidémiologie et facteurs de risques	41
b. Conséquences cliniques et pathologiques de l'AAC.....	42
c. Conséquence cellulaire de l'AAC sur les cellules vasculaires	43
3. Perturbation du système cérébro-vasculaire par le peptide A β	44
a. Dysfonction des vaisseaux cérébraux induite par le peptide A β	44
b. Perturbation de la matrice extracellulaire	45
c. Rupture de la BHE.....	46
4. Contribution de l'AAC à la maladie d'Alzheimer	46
5. Les formes familiales de l'AAC : Implication du gène de l'APP	48
6. Modèles animaux de l'AAC/MA	50
PARTIE D. Le rôle de l'inflammation dans la MA et dans l'AAC	54
1. Mécanismes neuro-inflammatoires	54
a. Les microglies, principaux acteurs de la neuro-inflammation dans la MA.....	55
b. Actions neuro-inflammatoires des astrocytes dans la MA.....	57
c. Actions inflammatoires des neurones.....	59
2. L'inflammation vasculaire	59
a. Les monocytes/macrophages.....	60
b. Effet des dépôts sur les cellules endothéliales.....	62
c. Effets des dépôts sur les Cellules Musculaires Lisses Vasculaires	63
3. L'impact du système immunitaire adaptatif et des thérapies anti-A β	63
4. L'utilisation controversée des anti-inflammatoires usuels pour traiter les pathologies amyloïdes	65
PARTIE E. Les Acides Gras Poly Insaturés dans les pathologies amyloïdes et vasculaires	67
1. Les acides gras - un aperçu.....	67
a. Nomenclature.....	68
b. Présentation des différents acides gras	69

c. Voies métaboliques des acides gras	71
d. Fonctions physiologiques des Acides Gras	79
2. Le rôle des acides gras dans l'inflammation.....	84
a. Les AGPI comme précurseurs de médiateurs neuro-inflammatoires	84
b. Les SPM, nouveaux acteurs de l'inflammation	89
3. Implication des mécanismes de la voie des AGPI en condition pathologique	93
a. Remodelage des glycérophospholipides dans la MA	93
b. Implication des AGPI dans la MA.....	93
c. Effet des AGPI dans les ischémies et les hémorragies.....	94
4. L'impact des acides gras ω -3 alimentaires	95
Objectifs	97
Résultats	99
Discussion	129
Conclusion	140
Références bibliographiques	143
Annexes	167
Annexe 1.....	168
Annexe 2.....	169
Annexe 3.....	170
Annexe 4.....	172

Introduction

PARTIE A. Généralités sur la maladie d'Alzheimer

1. Historique

Au début du XXème siècle, Alois Alzheimer (1864-1915) psychiatre neurologue et neuropathologiste allemand s'étonne d'observer chez une femme de 48 ans, Auguste D, l'apparition de démences et d'une altérations progressive des fonctions cognitives jusque-là considérées comme étant courantes chez des personnes âgées et liées au vieillissement. Pendant 5 ans, Alois Alzheimer suivra le cas de cette patiente, décédée en 1906 d'une septicémie, et pratiquera une autopsie qui révélera la présence dans le cortex cérébral de lésions qu'il caractérisera comme étant de deux natures : une dégénérescence neurofibrillaire et des amas anormaux de fibrilles ¹. Dans son 8ème traité de psychiatrie publié en 1910, le Pr Emil Kraepelin, influent psychiatre et mentor d'Alzheimer, donne à cette maladie le nom de son protégé.

La caractérisation des lésions décrite par Alzheimer prendra énormément de temps. En 1927 Paul Divry, un psychiatre belge, démontre que ces amas anormaux de fibrilles ou « plaques » peuvent être colorés au rouge Congo et leur donne le nom de plaques amyloïdes. Il faudra cependant attendre les années 60 et la microscopie électronique, pour que l'autre lésion caractéristique de la maladie d'Alzheimer, la dégénérescence neurofibrillaire, soit associée à des filament appariés en hélice ² ou PHF (paired Helical Filaments). Ce n'est qu'avec l'essor de la biologie moléculaire dans les années 80, qu'est identifié le peptide amyloïde β ($A\beta$) comme un des principaux constituants de ces plaques amyloïdes ³, appelées également « plaques séniles ». Dans la même période, d'autres travaux démontrent que les PHF responsables de la neuro-dégénérescence fibrillaire sont principalement constitués de protéines tau hyperphosphorylées ^{4,5}. Dès lors, deux hypothèses s'affrontent pour expliquer les causes de la maladie d'Alzheimer (MA), l'hypothèse tau, et l'hypothèse amyloïde. De très nombreuses équipes ont tenté de décrypter les mécanismes moléculaires et cellulaires sous-jacents à la MA, et aujourd'hui, les altérations les plus importantes identifiées peuvent être expliquées au travers de l'hypothèse amyloïde ⁶.

2. Epidémiologie

La maladie d'Alzheimer est aujourd'hui considérée comme un maladie chronique ou progressive, caractérisée par des capacités cognitives altérées au-delà de ce qui pourrait être considéré comme une conséquence d'un vieillissement normal, altérant la mémoire, la pensée, l'orientation, la compréhension, l'apprentissage, le langage et le jugement.

Selon le ministère de la Santé, la MA touche aujourd'hui en France environ 900 000 personnes, avec plus de 200 000 cas diagnostiqués chaque année et une projection de plus de 2 millions de malades en 2040. En 2015, on estimait qu'à travers le monde, plus de 47 millions de personnes étaient atteintes de la MA avec des prévisions alarmantes à l'horizon 2050 avec plus de 130 millions de malades (source *Rapport Mondial Alzheimer 2015* et OMS).

3. Signes et symptômes

Les problèmes de mémoire sont généralement l'un des premiers signes d'altération cognitive liée à la maladie d'Alzheimer. Certaines personnes souffrant de problèmes de mémoire ne présentent qu'une déficience cognitive légère ou MCI (pour *Mild Cognitive Impairment* en anglais.), qui se caractérise par des problèmes de mémoire plus importants que la normale à âge égal, sans pour autant que ces symptômes n'interfèrent dans leur vie quotidienne. Les personnes âgées avec une « MCI » risquent davantage de développer la maladie d'Alzheimer. Les premiers symptômes de la maladie d'Alzheimer varient d'une personne à l'autre. Pour beaucoup, le déclin des aspects non liés à la mémoire cognitive, tels que la recherche de mots, les problèmes de vision/de positionnement dans l'espace et le raisonnement ou le jugement altéré, peuvent signaler les premiers stades de la maladie d'Alzheimer.

L'Alzheimer's Association, principal organisme bénévole concernant la maladie d'Alzheimer, a établi une liste de dix signes et symptômes, ne faisant pas partie d'un vieillissement normal et qui peuvent être annonciateurs d'une MA (**Tableau Annexe 1**).

Une fois la maladie d'Alzheimer établie (ou probable, voir section diagnostic), sept stades d'évolution, ou de détérioration globale de la maladie d'Alzheimer ont été définis sur la base du système BEHAVE-AD créé par le Dr Barry Reisberg de la New York University School of Medicine ⁷ et sont présentés dans le **Tableau Annexe 2**. Les trois premiers stades (1-3) sont qualifiés de pré-démence, alors que les quatre derniers (4-7) sont associés à des démences, mais la nature, la fréquence et l'intensité de ces démences varient d'une personne à l'autre et le diagnostic est rarement posé avant le stade 5.

Un des enjeux majeurs de la recherche biomédicale est justement le diagnostic fiable de la maladie d'Alzheimer, par l'identification de biomarqueurs précoces (en imagerie cérébrales, dans le liquide céphalo-rachidien et/ou dans le sang) détectables chez des personnes atteintes de MCI et chez des personnes cognitivement normales susceptibles d'être plus exposées à la maladie d'Alzheimer. Si des études indiquent qu'un tel dépistage précoce peut être envisagé, d'importants progrès sont

nécessaires avant que ces techniques ne puissent être utilisées pour diagnostiquer la maladie d'Alzheimer dans la pratique médicale quotidienne.

4. Diagnostic

Le diagnostic certain de la MA repose sur les analyses anatomo-pathologiques *post-mortem* mettant en évidence la neurodégénérescence fibrillaire et les dépôts amyloïdes. Diagnostiquer la MA aux stades précoces de la maladie pour une prise en charge sociale et thérapeutique, reste un des enjeux majeurs de la recherche. De nos jours, l'atteinte est évaluée par des tests pluridisciplinaires en neurologie, neuro-psychologie, imagerie médicale et médecine générale, mais également par la recherche d'antécédents familiaux si une origine génétique est supposée. La Haute Autorité de Santé (HAS) a publié en mars 2008, une recommandation de bonne pratique du « Diagnostic et prise en charge de la maladie d'Alzheimer et des maladies apparentées » retirée en mai 2011, afin de confier à un groupe de travail la mission de réviser cette recommandation, dont la nouvelle version a été validée en décembre 2011. Les différentes recommandations de l'HAS reposent sur deux ouvrages : le *manuel diagnostic et statistique des troubles mentaux* (DSM), publié par l'Association Américaine de Psychiatrie sans cesse modifié et très controversé, et sur les documents du NINCDS-ADRDA (National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke et l'Alzheimer's Disease and Related Disorders Association, ce dernier organisme étant aujourd'hui connu sous le nom d'Alzheimer Association). Le nombre de versions et de révisions récurrentes de ces ouvrages référents (DSM ou NINCDS-ADRDA) soulignent les difficultés à pouvoir poser de façon fiable, un diagnostic sur la MA et justifieraient à elles seules une thèse bibliographique.

Les recommandations actuellement publiées par l'HAS reposent donc essentiellement sur la quatrième édition révisée du *manuel diagnostic et statistique des troubles mentaux* (DSM-IV-TR) publié en 2000. Ces critères de diagnostic sont présentés sur le **Tableau en annexe 2**. A noter qu'une nouvelle version du *manuel diagnostic et statistique des troubles mentaux* a été publiée en 2013 (DSM-V) et traduit en français en 2015 dont le contenu sur la MA n'a pas encore été intégré aux recommandations de la HAS. La publication des DSM est l'objet de controverses et d'opposition à cette « pensée unique » imposée par l'Association Américaine de Psychiatrie. Dans le DSM-5, les atteintes neurocognitives sont définies comme « *une détérioration cognitive globale, progressive et irréversible altérant les capacités à réaliser les activités quotidiennes de façon autonome, les plus complexes et les plus simples. L'atteinte de la mémoire et des capacités d'apprentissage est le symptôme le plus fréquent et le plus prédominant des atteintes neurocognitives, mais les types d'atteintes, leur sévérité, leur durée, la nature des problèmes de comportements qui les*

accompagnent font en sorte que chacune des personnes présentera un tableau clinique qui lui sera propre. L'étiologie des atteintes étant le plus souvent inconnue, sauf pour le faible pourcentage des personnes ayant une atteinte nettement génétique (...) »

Ces atteintes ont pour origine diverses pathologies (MA, démence vasculaire, démence à corps de Lewy et atteinte fronto-temporale), mais on considère que 60 à 80 % de toutes les atteintes neurocognitives ont pour origine la MA, dont le diagnostic est encore aujourd'hui peu fiable.

En cas de suspicion de maladie d'Alzheimer, une **démarche diagnostique** est suggérée par la HAS, et repose sur des évaluations successives comprenant : i) un entretien afin de reconstituer l'historique de la suspicion de MA, les troubles associés et les antécédents médicaux ; ii) un examen clinique général incluant le recherche de signes neurologiques qui pourraient évoquer un autre diagnostic que la MA, iii) une évaluation fonctionnelle simplifiée, basée sur quatre items (utilisation du téléphone, utilisation des transports, prise de médicaments, gestion des finances) ; iv) une évaluation cognitive globale (voir ci-dessous) et v) des examens paracliniques. L'**évaluation cognitive globale** est réalisée à l'aide du test MMSE (Mini Mental State Examination) dans sa version consensuelle de 2003 (**voir Annexe 3**), établie par le GRECO (Groupe de Rcherche sur les Evaluations Cognitives) même si d'autres tests peuvent être utilisés en y incluant des corrections relatives notamment à l'âge, à l'activité professionnelle et sociale et au niveau d'études. Les **examens paracliniques** ont pour but d'écarter toute autre cause de troubles cognitifs : ils consistent essentiellement en un dosage TSH, une numération formule sanguine (NFS), un ionogramme sanguin, une calcémie, une glycémie. Si les troubles cognitifs sont avérés, le patient est soumis à une imagerie cérébrale afin de rechercher d'éventuelles autres séquelles et consiste en « *une imagerie par résonance magnétique nucléaire (IRM) avec des séquences T1, T2, T2* et FLAIR et des coupes coronales permettant de visualiser l'hippocampe. À défaut une tomodensitométrie cérébrale est réalisée* ».

5. Les démences dégénératives et vasculaires

On considère généralement deux types de démences, les démences dégénératives et les démences vasculaires. Ces deux types de démences sont associés à une perte neuronale. Cependant, celles dites vasculaires sont consécutives à des atteintes cérébro-vasculaires alors que les « dégénératives » qui incluent la MA ne présentent pas forcément de lésions vasculaires. En réalité, ces deux types de démences coexistent dans la plupart des cas, du fait que les vaisseaux cérébraux, les cellules gliales et les neurones constituent l'unité neuro-vasculaire en charge du maintien de l'homéostasie cérébrale. Une altération d'un des éléments de l'unité neuro-vasculaire, qu'elle soit d'origine

vasculaire ou dégénérative, conduira donc à des démences dites « mixtes », qui constituent les plus fréquentes dans la population. De ce fait, l'étiologie des démences dégénératives et vasculaires se révèle complexe tant les mécanismes à l'origine de ces pathologies se confondent.

L'angiopathie amyloïde cérébrale ou AAC est retrouvée dans 10 à 30% des personnes âgées, avec une incidence importante chez les patients atteints de la maladie d'Alzheimer⁸. Elle est responsable d'une grande partie des hémorragies intra-cérébrales (pour revue voir⁹). L'étroite corrélation entre MA et AAC s'expliquent par le fait que la MA et les AAC partagent la même étiologie. En effet, les dépôts de peptides amyloïdes A β qui constituent la plaque sénile de la MA se retrouvent dans les dépôts cérébro-vasculaires des AAC.

Partie B. Mécanistique de la protéine précurseur de l'amyloïde ou amyloid precursor protein (APP)

1. Structure de la protéine

L'APP est une glycoprotéine transmembranaire de type I, à passage unique dans la membrane, avec un large domaine extracellulaire N-terminal et un petit domaine C-terminal intracellulaire (Figure 1). A la suite d'épissages alternatifs du transcrit APP, trois principales protéines APP (APP695, 751 et 770), sont exprimées, de 695, 751 et 770 acides aminés respectivement. L'APP695 est principalement exprimée dans le système nerveux central, alors que APP751 et 770 ont une expression plus périphérique.

Chez les mammifères, l'APP est codée par un gène qui appartient à une famille comprenant également les gènes codant les protéines APP-like (APLP) APLP1 et APLP2 (pour revue, voir Chen et al, 2017)¹⁰. Ces trois protéines (APP, APLP1 et APLP2) présentent une structure et des domaines protéiques similaires (Figure 1), à l'exception d'APP qui présente une région protéique supplémentaire à l'origine des différents peptides A β générés par différentes coupures protéolytiques de l'APP (voir Chapitre 4).

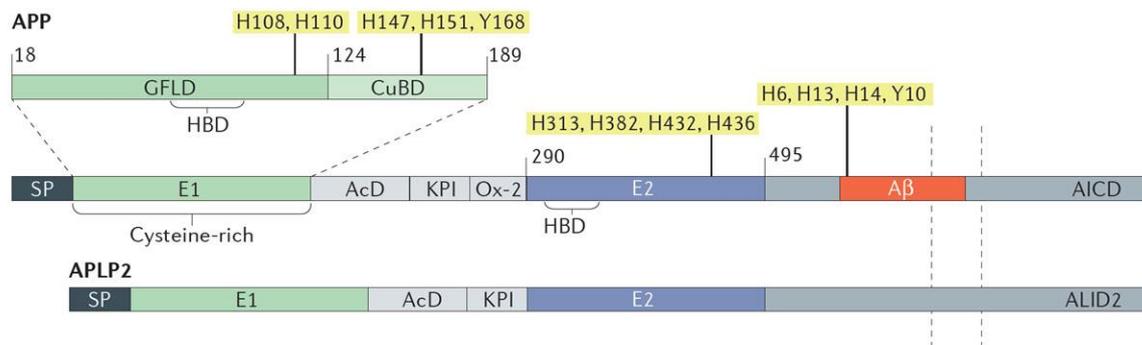


Figure 1. Structure des domaines de la protéine APP770.

Toutes les protéines de la famille APP partagent les domaines extracellulaires E1 et E2, AcD.

Le domaine extracellulaire est divisé en deux régions distinctes, **E1** et **E2**. Le domaine **E1**, riche en acides glutamiques et aspartiques, est composé d'un domaine de liaison à l'héparine (HBD1) structuré en hélice α et feuillet β , et qui serait impliqué dans l'interaction de l'APP avec d'autres protéines, ou dans la formation d'homodimères APP en présence d'héparine. Le domaine E1 possède également un domaine de liaison au cuivre (CuBD), pouvant lier d'autres ions métalliques. Le domaine E2 est une région riche en hélices α et serait donc également impliqué dans la dimérisation de l'APP. A l'instar du domaine E1, le domaine E2 possède également un domaine de liaison à l'héparine ainsi qu'un domaine de liaison. A l'exception de l'APP695, l'APP770 et l'APP751 contiennent également un domaine inhibiteur de la protéase du type Kunitz (KPI) situé entre les domaine E1 et E2. L'APP 770 possède également un domaine antigène Ox-2, constitué de 19 résidus d'acides aminés et similaire à une région de l'antigène Ox-2 microglial (voir Dawkins & Small 2014 pour revue) ¹¹.

Adjacent au domaine E2, se situe la région A β , localisée à cheval entre dans le domaine extracellulaire et en partie dans le domaine transmembranaire. Cette région sera à l'origine des différents peptides A β générés à la suite de coupures protéolytiques, variant de 39 à 42 acides aminés principalement. On retrouve dans la région transmembranaire et juxta-membranaire du côté extracellulaire du domaine A β de l'APP humaine, trois motifs GxxxG successifs (GSNKGAIIGLMVG) impliqués dans l'homodimérisation d'APP et potentiellement dans la nature des peptides A β générés après coupures protéolytique (Lisa-Marie Munter et al. EMBO J, 2007) ¹². Le domaine intracellulaire d'APP contient un motif YENPTY qui interagit avec plusieurs protéines contenant des domaines de liaison à la phosphotyrosine (domaine PTB), comme les protéines Mint/X11. Ce motif est impliqué dans l'endocytose et le trafic d'APP ¹³, mais également dans diverses fonction neurologiques ¹⁴.

2. Expression génique de l'APP

L'APP est exprimée dans une grande variété de cellules mammifères et non mammifères ¹⁵. La première séquence complète de l'ADNc (Acide désoxyribonucléique complémentaire) codant l'APP humaine a d'abord été clonée à partir d'une banque de tissus cérébrales en 1987 ¹⁶. Chez l'homme, le gène APP est situé sur le locus 21q21.3-q22.05 du chromosome 21, entraînant une surexpression de l'APP chez les patients atteints de trisomie 21 ¹⁷. Le gène *APP* est composé de 18 exons répartis sur environ 240 kilobases ¹¹.

Le messenger codant l'APP est exprimé dans une grande variété de tissus, comme le système nerveux (cerveau, moelle épinière, rétine), système immunitaire (thymus, rate), muscle (lisse, cardiaque et squelettique), le rein, le poumon, le pancréas, la prostate et la glande thyroïde ¹⁸. Cependant, plusieurs isoformes de protéines APP sont exprimées, issues d'épissages alternatifs de l'ARNm (acide ribonucléique messenger), variant de 365 à 770 acides aminés chez l'homme, et exprimées en différentes quantités dans différentes cellules ¹⁹.

Les principales isoformes exprimées de l'APP sont celles de 770, 751 ou 695 acides aminés ²⁰. L'APP695, l'isoforme majeure du cerveau est issu d'un variant d'épissage APP et ne possédant plus les exon 7 (codant le domaine KPI) et 8 (codant le domaine OX-2) ²¹. Le variant APP770 (pleine taille) et APP751 (qui manque de l'exon 8) sont exprimés, en plus du système nerveux, dans les autres tissus décrits ci-dessus ^{19,22}. D'autres variants d'épissage moins fréquents ont également été décrits, telles que les L-APP, APP677, APP696, APP733 et APP752 qui sont exprimés à des niveaux élevés dans les leucocytes et dans les astrocytes et microglies ; et l'APP639 qui est fortement exprimée dans le tissu foetal et seulement dans le foie adulte ¹¹. Les isoformes d'APP contenant le domaine KPI sont également fortement exprimées dans les plaquettes ^{23 24}.

3. Fonction de l'APP

L'APP, de par son expression étendue à de nombreux tissus, joue un rôle important dans de nombreux processus physiologiques. Les fonctions de l'APP ne sont pas encore clairement identifiées, mais son rôle au niveau des neurones a fait l'objet de nombreuses publications ces dernières années. Les capacités de l'APP à se dimériser, à lier un panel de protéines, et à activer des voies de signalisation spécifiques permettent d'induire, du moins au niveau des neurones, des processus synaptiques ou de croissance ²⁵.

a. Adhérence cellulaire

L'ensemble des protéines APP présentent des propriétés d'adhésion, notamment dans (i) l'adhésion de la matrice cellulaire via l'interaction de la séquence extracellulaire de l'APP avec divers composants de la matrice extracellulaire ; (ii) l'adhésion cellule-cellule par des interactions transcellulaires formant des homo- ou hétérodimères ²¹.

Adhésion de la matrice extra-cellulaire et récepteur de surface. En liant les composants de la matrice extracellulaire, tels que l'héparine, le collagène type I, la laminine, et la F-spondine via son domaine de liaison à l'héparine (HBD), l'APP joue un rôle fondamental dans la formation et l'architecture cérébrale durant le développement ²⁶, notamment en régulant la migration neuronale et la croissance axonale ²⁷.

Dimérisation de la famille APP. En dehors de ses interactions avec les composants de la matrice extracellulaire, l'APP, via son domaine E1 ou E2 extracellulaire et son motif GxxxG du domaine transmembranaire, présente la capacité de s'homodimériser ou de former des dimères avec les autres protéines de la famille APP, comme les APLP ou les fragments solubles APP (APPs - résultants d'un clivage de la protéine) ; ces dimères contribuent à de nombreux processus physiologiques, comme l'adhésion cellulaire, la synaptogenèse et la stabilité synaptique. La dimérisation de l'APP apparaît également moduler les processus de son clivage par les sécrétases.

b. Interactions protéiques

Des interactions de l'APP via son domaine extracellulaire avec d'autres protéines que celles de la famille APP sont également possibles ²¹, comme la famille des récepteurs LDLR, LRP4, LINGO1, le récepteur NMDAR et GABABR ou les protéines BRI2 (BRICHOS domain containing 2) et BRI3, inhibant le clivage de l'APP par les sécrétases ²¹.

En outre, l'APP peut se lier à d'autres protéines via son domaine intracellulaire. Le motif YENTY est impliqué dans de telles interactions, il est reconnu par des protéines adaptatrices liant le cytosquelette d'actine des cellules. Ce motif très conservé au sein de protéines d'adhésion et de récepteurs à activité tyrosine kinase, comme l'Intégrine β 1, est capable de lier des protéines contenant le domaine PTB, comme Fe65, Mint/X11 et Dab1 ^{21,28}. Fe65 a la capacité de lier l'actine ²⁹ et la LRP, et régule en conséquence l'expression, la localisation et le métabolisme de l'APP, alors que Dab1 interagit avec les récepteurs de la famille des LDL, comme VLDLR et ApoER2 jouant un rôle clé dans la voie transduction du signal par APP lors de la migration neuronale ^{30 31 32}. Les protéines de la famille Mint/X11, quant à elles, sont impliquées dans la synaptogenèse, l'exocytose des vésicules et la régulation du métabolisme de l'APP ^{33 34 35}.

4. Clivages protéolytiques de l'APP

A la membrane, l'APP subit un clivage protéolytique très complexe (Figure 2), produisant des fragments biologiquement actifs, chacun pouvant avoir des fonctions spécifiques et même opposées. Deux principales voies de clivage existent : la voie dite « non amyloïdogénique » impliquant l' α - et la γ -sécrétase ; et la voie « amyloïdogénique », impliquant la β - et la γ -sécrétase. Une troisième voie a été décrite récemment par Willem et al. (2015), dont on ne décrira pas les mécanismes ici, qui ont identifié un site de clivage η -secretase dans le domaine extracellulaire de l'APP³⁶. Dans cette voie, l'APP elle est clivée par β - et α -secretase indépendamment de la γ -secretase.

En fonction de la voie utilisée, plusieurs fragments protéiques peuvent être produits. Dans les deux cas, le clivage de l'APP donne naissance : (i) à un fragment cytosolique nommé AICD ; (ii) un grand fragment extracellulaire soluble APPs, appelé APPs α s'il provient de la voie non amyloïdogénique, ou APPs β s'il provient de la voie amyloïdogénique ; (iii) et enfin un petit peptide extracellulaire. Ce peptide extracellulaire correspond au peptide A β dans la voie amyloïdogénique ; ou au fragment p3 s'il provient de la voie non amyloïdogénique.

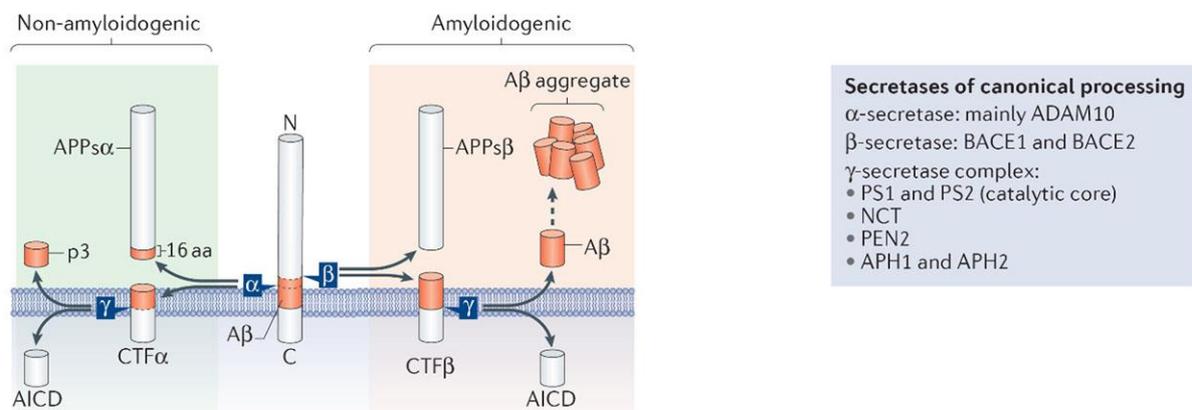


Figure 2. Aperçu schématique des deux principales voies du clivage de l'APP.

Le clivage par l' α -sécrétase le long de la voie non amyloïdogénique (fond vert) se produit dans la région du peptide A β (montrée en rouge), libérant l'APPs α (fragment d'ecto-domaine de l'APP généré par l' α -sécrétase) et générant le peptide p3. En revanche, la voie amyloïdogénique (fond orange) génère le peptide A β (par clivage de la β -sécrétase et de la γ -sécrétase) et libère l'APPs β . Un fragment intracellulaire (domaine intracellulaire de l'APP (AICD)) est libéré dans les deux voies. ADAM10, disintegrin and metalloproteinase domain-containing protein 10; APH1, anterior pharynx defective 1; NCT, nicastrin; PEN2, presenilin enhancer 2; PS1, presenilin 1.

a. Itinéraire intracellulaire de l'APP

Une fois synthétisée dans le réticulum endoplasmique, l'APP est transportée à travers l'appareil de Golgi pour arriver au niveau du réseau trans-Golgien, site dans lequel la plupart des protéines APP résident et finissent d'être maturées en subissant des modifications post-traductionnelles par glycosylation, phosphorylation et par sulfatation³⁷. L'APP peut être ainsi transportée vers la surface de la cellule à travers des vésicules sécrétoires depuis l'appareil de Golgi (Figure 3). La distribution cellulaire de l'APP influence la manière dont elle est clivée par les sécrétases transmembranaires. Une fois à la membrane, l'APP peut soit subir un clivage protéolytique par l' α -sécrétase soit être réinternalisée dans des vésicules fusionnant avec des endosomes (Figure 3). L'accumulation à la surface de l'APP favorise ainsi le processus non amyloïdogénique ; alors que la ré-internalisation de l'APP dans des compartiments tels que les endosomes, favorise le processus amyloïdogénique et la production de peptide A β conséquente. En effet, la β -sécrétase se localise principalement dans le réseau transgolgien et les endosomes, en cohérence avec le clivage amyloïdogénique. L'activité neuronale induit la convergence de l'APP et de la β -sécrétase, étant initialement localisées dans des endosomes séparés, initiant l'étape de la production du peptide A β ³⁸⁻⁴⁰.

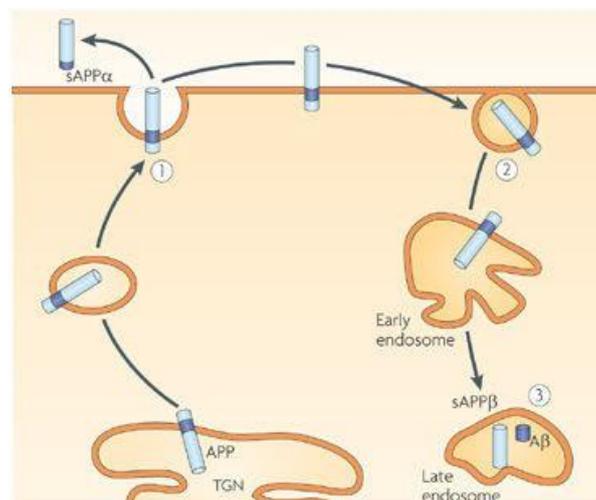


Figure 3. Trafic et traitement de l'APP.

L'APP synthétisée traverse le réseau trans-Golgien (TGN) en route vers la membrane plasmique, où certaines sont clivées par l' α -sécrétase pour générer APP α s (voie non amyloïdogénique) (étape 1). L'APP non clivée s'intègre à partir de la surface cellulaire (étape 2) et des trafics d'endosomes précoces à tardifs pour le son clivage en APP β s et A β (voie amyloïdogénique) (étape 3).⁴¹

a. Voie non amyloïdogénique

Dans la voie non amyloïdogénique, physiologiquement prédominante et pouvant être stimulée par l'activité neuronale et synaptique, l' α -sécrétase clive l'APP dans la région du peptide A β , empêchant sa formation (figure 2a) ^{42,43}. Le clivage de l'APP par la α -sécrétase dans le domaine du peptide A β (liaison Lys16-Leu17) libère alors un grand ectodomaine soluble de l'APP appelé APPs α et le fragment CTF α .

L' α -sécrétase est une métalloprotéinase liée à la membrane constituée de plusieurs membres qui clive l'APP principalement à la membrane plasmique. Les protéines ADAM9, ADAM10, ADAM17, membres de la famille ADAM (A Disintegrin And Metalloprotease : une famille de désintégrine et de métalloprotéines) possèdent une activité de type α -sécrétase permettant de catalyser le clivage α -sécrétoire. L'ADAM10 est exprimé de manière constitutive et semble être la protéine dominante dans le cerveau ⁴⁴. En dehors de l'APP, d'autres substrats pour l' α -sécrétase comprennent les récepteurs NOTCH, le facteur de nécrose tumorale (TNF), les ligands du récepteur du facteur de croissance épidermique (EGF), les cadhérines et le récepteur de l'interleukine 6 (IL6) ³⁷.

Le fragment C-terminal transmembranaire (CTF) du fragment APP restant, CTF α , (Figure 2a, b) peut être alors clivé par la γ -sécrétase en une série d'événements, en partant de l'extrémité C-terminale par une coupe protéolytique sur le site ϵ du CTF, libérant alors le fragment AICD (amyloid intracellular domain), puis par une coupe sur le site γ , libérant le fragment p3 ⁴⁵.

La γ -sécrétase est un complexe protéique constitué d'au moins quatre sous-unités : la partie enzymatique du complexe, la préséniline 1 ou 2, PEN2, la nicastrine, et APH1 ou 2 (anterior pharynx-defective) (Figure 4). Ces sous-unités se combinent dans un ordre unique pour former une γ -sécrétase fonctionnelle : la nicastrine et APH-1 forment un dimère, suivit d'une liaison de la préséniline et enfin d'une liaison PEN2, catalysant la maturation de la préséniline. Cette maturation par clivage du fragment cytosolique de la préséniline conduit à la formation de deux fragments (Figure 4) formant alors un complexe actif ⁴⁶.

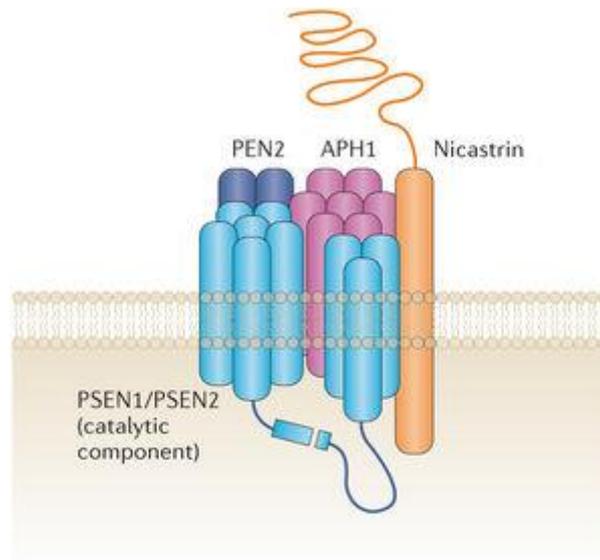


Figure 4. Le complexe de la γ -sécrétase.

La sous-unité catalytique de la γ -sécrétase est fournie par la protéine préséniline (PSEN1 ou PSEN2), qui est composée d'un fragment N-terminal avec six domaines transmembranaires et d'un fragment C-terminal avec trois domaines transmembranaires. En plus des présénilines, la γ -sécrétase est composée de PEN2, de APH1 et de la nicastrine. PEN2 contribue à la protéolyse de la préséniline, et la nicastrine a été suggérée pour participer au recrutement de substrats de la γ -sécrétase. L'APH1 a été attribuée à des propriétés d'échafaudage, à une fonction catalytique et à un rôle dans le recrutement de substrats. En plus de ces quatre facteurs, de nombreuses protéines s'associent à la γ -sécrétase et sont censées moduler son activité ou sa localisation ⁴⁶

b. Voie amyloïdogénique

La voie amyloïdogénique est initiée par la β -sécrétase, libérant le fragment APPs β (Figure 2) et CTF β ⁴⁷. La structure de l'APPs α est très différente de celle de l'APPs β , malgré le fait que l'APPs α n'ait que 16 acides aminés de plus ^{44,48}.

Deux aspartyl protéases transmembranaires de type I, BACE (β -site APP cleaving enzyme) 1 et 2, ont été identifiées pour porter l'activité β -sécrétase. La forme principale, BACE1 est fortement exprimée dans le cerveau, mais se trouve également à des niveaux inférieurs dans d'autres organes ⁴⁹. En revanche, la deuxième forme de l'enzyme, BACE2, est faible dans le cerveau mais est présente dans la plupart des tissus périphériques à des niveaux supérieurs ⁴⁹.

Comme le CTF α , le CTF β peut être alors clivé par la γ -sécrétase générant également le fragment AICD ; en plus de celui-ci, le clivage de la γ -sécrétase permet de produire le peptide A β (Figure 2a). Le site exact du clivage de la γ -sécrétase sur CTF β peut varier, entraînant la synthèse de différents peptides A β (de 36 à 43 acides aminés, Figure 5), aux propriétés distinctes. Les principaux peptides produits en condition pathologique sont les peptides A β 1-40 (90%) et A β 1-42 (10%), les autres formes étant très minoritaires.

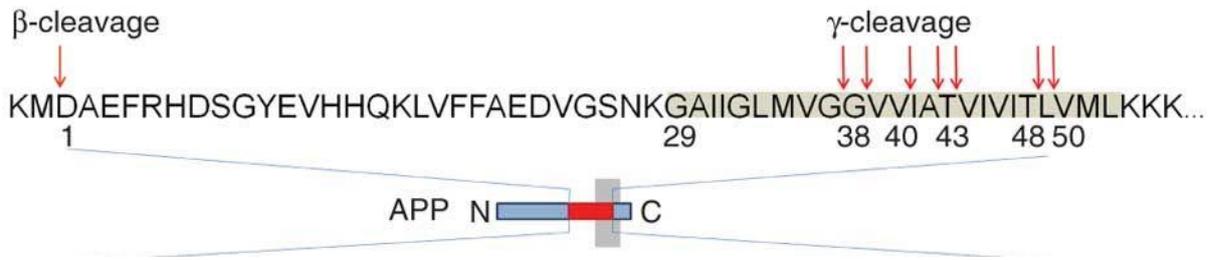


Figure 5. Génération des différents peptides A β à partir de l'APP.

Les sites du clivage des β et γ -sécrétases sont indiqués par des flèches et le domaine transmembranaire de l'APP est mis en gris. Le γ -clivage produit un pool de fragments A β qui varient en longueur et hydrophobicité.⁵⁰

c. Fonctions physiologiques des différents fragments générés

Les APP solubles (APPs). De nombreuses études évaluent un rôle du fragment soluble APPs α dans les activités de croissance, neurotrophiques, de protection cellulaire et de plasticité synaptique¹⁵. Il a été notamment montré que l'APPs α induit une augmentation de la densité synaptique et s'oppose à la dégénérescence dendritique et à la mort des neurones¹⁵. Le mécanisme de neuro-protection de l'APPs α n'est pas encore bien élucidé mais quelques études démontrent que ce fragment induirait l'augmentation de molécules protectrices et l'inhibition de l'apoptose dépendante de caspases²¹. Malgré la différence de seulement 16 acides aminés entre les deux isoformes, les rôles de l'APPs α et l'APPs β semblent être opposés. En effet, contrairement à l'APPs α , l'APPs β pourrait être toxique pour les cellules⁵¹. Il a notamment été démontré que ce fragment induisait la transcription de Klotho, protéine impliquée dans le processus de vieillissement²¹. L'APPs β , peut en plus subir un clivage supplémentaire pour produire un dérivé appelé N-APP. Ce petit fragment en se liant au récepteur de mort cellulaire DR6, induit une dégénérescence des axones⁵².

L'AICD (Domaine intracellulaire de l'APP). Le rôle de l'AICD dans l'apoptose a été décrit par de nombreuses études. Les résultats concernant les mécanismes sous-jacents de l'apoptose liée à ce fragment sont encore controversés et diverses voies ont été suggérées. Plusieurs études ont montré que l'AICD, en complexe avec d'autres protéines, est impliquée dans la régulation transcriptionnelle des gènes cibles liés à l'apoptose dont plusieurs cibles ont été identifiées au cours des dernières années. Par exemple, l'AICD peut constituer un complexe avec Fe65, comme la partie intracellulaire de l'APP. L'AICD, complexé avec Fe65, permet ainsi à celui-ci d'entrer dans le noyau et d'interagir avec les facteurs de transcription comme CP2/LSF/LBP1 et Tip60¹⁵. Les cibles en aval du complexe incluraient entre autres KAI, GSK3 β , la néprilysine, EGFR, p53, LRP, l'APP lui-même et les gènes impliqués dans la régulation du calcium et la dynamique du cytosquelette¹⁵. Par exemple, la régulation de l'expression de GSK3 β par l'AICD avec Fe65 et CP2/LSF/LBP1, conduit à l'hyperphosphorylation de Tau et à la réduction des taux de β -caténines dans le noyau, provoquant

une apoptose. Une autre protéine impliquée dans la régulation de l'apoptose est la PML, dont la transcription est également activée par le complexe AICD/Fe65. Il a été montré que l'AICD interagit également avec le promoteur de p53 pour réguler la transcription de celle-ci, protéine connue pour induire la mort cellulaire par activation de caspases. En outre, l'AICD augmente l'activité et les niveaux d'ARN messager de p53, ainsi que l'activation de la mort cellulaire de manière dépendante de la caspase-3⁵³. Il est intéressant de noter que l'AICD s'est révélée être clivée lui-même par les caspases 3, 6, et 8 pour libérer deux fragments plus petits, Jcasp et C31 ; ce dernier contient les 31 derniers acides aminés de l'APP et a été proposé pour induire également l'apoptose⁵⁴.

CTFs et p3. La fonction physiologique du CTF α reste inconnue mais celle de CTF β a été en partie dévoilée. Elle induirait la neurodégénérescence et la gliose ; et de manière générale altérerait la cognition. La fonction physiologique ou trophique de p3 est également inconnue mais aucun effet pathologique de ce fragment n'a été signalé²¹.

Les peptides A β . Il existe plusieurs formes de peptides A β , notamment les variantes A β 1-43, A β 1-42, A β 1-40, A β 1-38 et A β 1-37 qui sont détectées chez l'être humain. Les différents peptides A β peuvent subir des modifications post-traductionnelles, résultant *in fine* en un mélange de plus de 20 peptides A β ^{55,56}. Ces peptides possèdent une solubilité, une stabilité et des propriétés biologiques et toxiques différentes (ces propriétés seront détaillées dans le sous-chapitre 5). Le peptide A β 1-40 est la forme majoritaire retrouvée dans les tissus neuronaux et périphériques. Outre leurs rôles pathologiques dans la MA et l'AAC, les peptides A β sont présents dans le cerveau des personnes non atteintes où ils jouent probablement d'importants rôles physiologiques^{57,58 59}. Cependant la fonction physiologique des peptides A β n'est pas totalement encore bien comprise. Au niveau physiologique, le peptide A β serait en effet un produit soluble du métabolisme neuronal essentiel pour la plasticité synaptique chez les individus normaux⁶⁰ et induirait l'amélioration des fonctions cognitives. Tandis que l'accumulation de concentrations plus élevées de peptides A β chez des individus âgés provoquerait des perturbations de cette régulation résultant en une dysfonction cellulaire et une perte de mémoire⁶¹. Les formes A β 1-40 et A β 1-42 monomériques ont notamment été démontrées pour présenter des effets antioxydants et neuroprotecteurs⁶². Dans une nouvelle étude, Robert Moir, Rudolph Tanzi et al. montrent que les peptides A β peuvent également fonctionner comme des peptides antimicrobiens^{63,64}. Ils démontrent *in vivo* que l'expression du peptide A β protège contre les infections fongiques et bactériennes dans les modèles de souris, de nématodes et de culture cellulaire. L'oligomérisation du peptide A β , traditionnellement considérée comme pathologique, pourrait être nécessaire aux activités antimicrobiennes du peptide et le développement de protofibrilles inhibait l'adhésion des agents pathogènes aux cellules hôtes.

d. La clairance des peptide A β

Les niveaux de peptide A β libre dans les tissus peuvent être régulés par des échanges entre le système nerveux central et le sang. L'élimination du peptide A β du système nerveux central peut être induit par plusieurs mécanismes : son transport à travers les cellules endothéliales constituant la barrière hémato-encéphalique (BHE) ; son drainage au niveau des voies périvasculaires ; et sa dégradation par des enzymes sur le site même de sa production ou dans les tissus périphériques.

i. L'efflux de peptide A β du système nerveux central

Le peptide A β peut se présenter au niveau des voies vasculaires pour être amené dans les tissus périphériques par liaison à différents ligands, le principal étant l'apolipoprotéine (Apo) E. L'ApoJ et l' α 2-macroglobuline semblent également intervenir dans le transport du peptide A β jusqu'aux cellules vasculaires. L'efflux du peptide A β , sous forme libre ou complexé, est principalement médié (i) par transcytose à travers la BHE (environ 85 %) ⁶⁵, via les récepteurs LRP1 et 2, récepteurs membres de la famille des LDLR ; ou (ii) peut être également mené jusqu'au sang à travers le drainage périvasculaire.

Transcytose du complexe LRP1/A β . La transcytose du peptide A β cérébral est majoritairement effectuée via le récepteur LRP1 ⁶⁶, localisé principalement sur le côté abluminal, c'est à dire du côté cérébral, des cellules endothéliales ⁶⁶. Le récepteur LRP1 est habituellement impliqué dans le transport et le métabolisme des lipoprotéines associées au cholestérol et à l'ApoE ; or l'ApoE en liant le peptide A β permet une clairance plus rapide de celui-ci. Il s'avère que l'efficacité du transport du peptide A β par liaison à l'ApoE soit dépendante de son isoforme, l'ApoE3 et 2 permettent une internalisation rapide du récepteur LRP1, alors que l'ApoE4 semble échouer dans ce mécanisme de transcytose. Le récepteur LRP1 peut se présenter comme récepteur membranaire lorsqu'il est présent à la surface des cellules ou sous forme soluble (sLRP1) lorsqu'il est distribué dans le sang ⁶⁷. En se liant à LRP1 sur les cellules endothéliales cérébrales, le peptide A β est rapidement internalisé par celles-ci dans des vésicules constituées entre autres de clathrine et de PICALM (phosphatidylinositol-binding clathrin assembly protein), et libéré du côté luminal, c'est-à-dire du côté de la lumière vasculaire, de la BHE (Figure 6) ⁶⁸.

Transport du peptide A β médié par l'Apolipoprotéine J / Clusterine. L'apolipoprotéine J, ou de son nom plus courant, la clusterine (CLU), a la capacité de se lier au peptide A β , afin de faciliter sa clairance. Contrairement au peptide A β libre ou lié à l'ApoE, le complexe A β /CLU se lie préférentiellement au récepteur LRP2 afin d'être transporté à travers la BHE. La CLU est l'apolipoprotéine la plus abondante du cerveau et est impliquée entre autres dans la clairance

extracellulaire des protéines mal repliées, elle a la capacité notamment d'empêcher l'oligomérisation et l'agrégation du peptide A β (figure 6) ^{68 69}.

Drainage périvasculaire. Outre sa clairance à travers les cellules endothéliales le peptide A β peut également être éliminé du cerveau à travers le drainage du fluide interstitiel au niveau des voies périvasculaires. Le peptide A β diffuse à travers les espaces extracellulaires du cerveau, où il entre dans les membranes basales des capillaires entre la couche endothéliale et les astrocytes environnants puis s'écoule et passe dans les membranes basales entre les cellules musculaires lisses dans la média des artères ⁷⁰.

Une fois localisé dans le plasma, le peptide A β peut se lier à une variété de molécules pour être transporté aux tissus périphériques permettant sa dégradation, comme le foie et le rein. Le LRP1 soluble (sLRP1) extracellulaire s'est révélé être la protéine périphérique majeure liant le peptide A β (Figure 6) séquestrant plus de 70% du peptide A β circulant ⁷¹.

ii. Les enzymes dégradant le peptide A β

Deux enzymes majeures, la néprilysine (NEP) et l'enzyme dégradant l'insuline (IDE, Insulin-degrading enzyme) sont responsables de la dégradation du peptide A β . La néprilysine est une métalloprotéase de type II liée à la membrane plasmique, responsable de la dégradation extracellulaire d'une variété de peptides ⁷². L'IDE, également une métalloprotéase, est active à la fois en intra et en extracellulaire ⁷³.

Les autres enzymes de dégradation du peptide A β comprennent l'ECE (Endothelin converting enzyme) 1 et 2, l'ACE, l'Acyl-peptide hydrolase, la presequence peptidase, la cathepsine (Cat) B, la CatD, la plasmine 3, les MMP et le t-PA ⁶⁷.

iii. Les récepteurs RAGE et l'influx du peptide A β dans le système nerveux central

Les RAGE, des récepteurs multi-ligands appartenant à la super famille des immunoglobulines de surface, sont impliqués dans un grand nombre de réponses cellulaires physiopathologiques en se liant à de nombreux ligands. Ces récepteurs peuvent notamment lier le peptide A β plasmatique initiant ainsi la transcytose de ce complexe à travers la BHE favorisant l'entrée du peptide dans le système nerveux central (Figure 6).

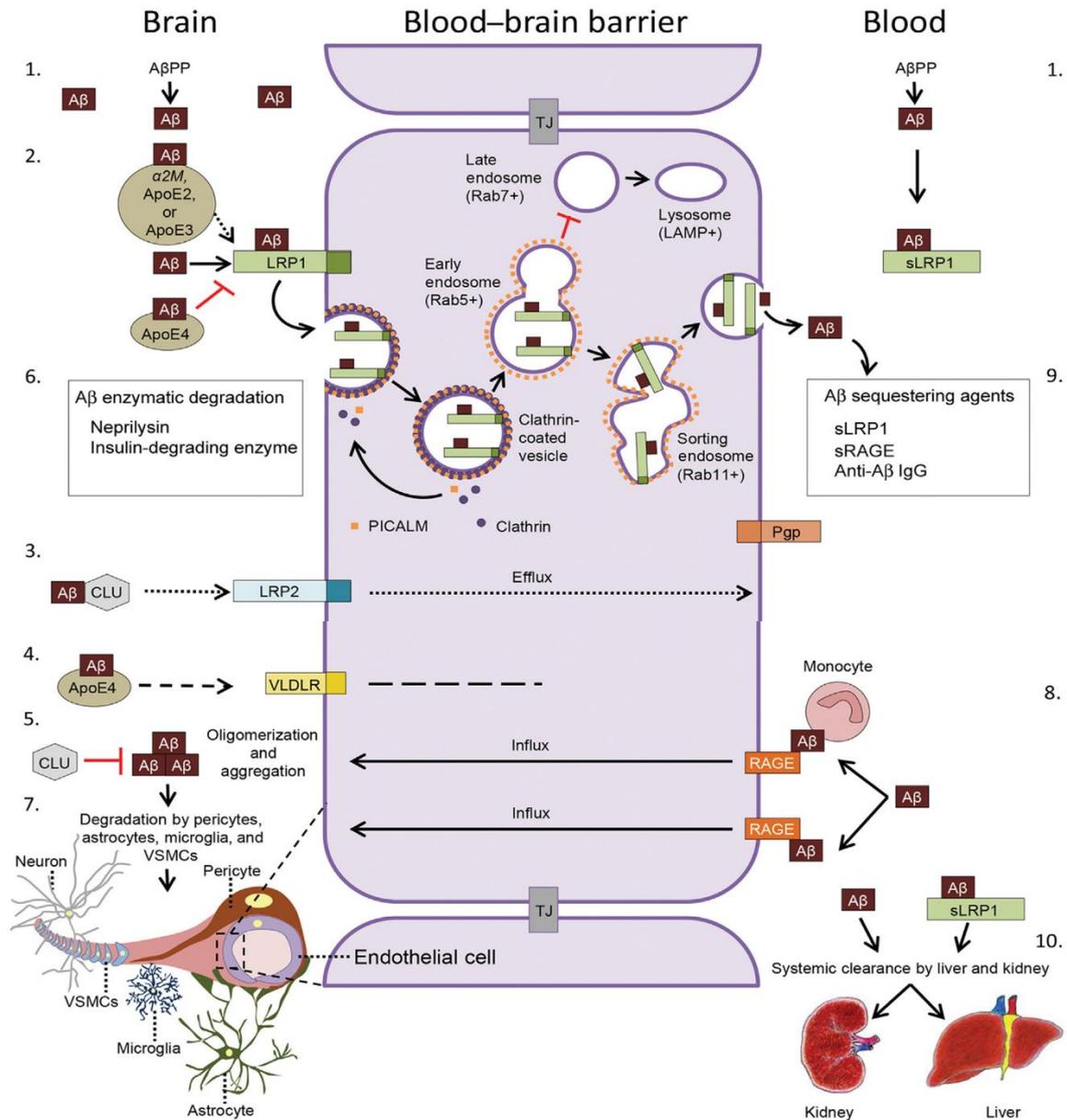


Figure 6. Transport du peptide Aβ à travers la BHE.

(1) Le peptide Aβ est produit à partir de l'APP dans le cerveau et dans la périphérie. (2) Le peptide Aβ dérivé du cerveau est éliminé à travers la BHE par transcytose médiée par le LRP1. LRP1 se lie au peptide Aβ libre, ainsi qu'au peptide lié à l'ApoE2. Le peptide Aβ se lie à LRP1 sur le côté abluminal de la BHE conduisant à une endocytose rapide du complexe LRP1-Aβ de manière dépendante de PICALM et de la clathrine. (3) La clusterine (CLU) médie l'efflux du peptide Aβ à travers la BHE via LRP2. (4) Le peptide Aβ lié à ApoE4 est éliminé par le VLDLR à une vitesse sensiblement plus lente que le peptide Aβ libre ou le peptide Aβ lié à l'ApoE2 ou l'ApoE3. (5) La clusterine empêche l'oligomérisation et l'agrégation du peptide Aβ. (6) Plusieurs enzymes, comme la néprilysine et l'IDE, contribuent à la dégradation enzymatique du peptide Aβ. (7) En plus de la clairance du peptide Aβ à travers la BHE, différents types de cellules comme les péricytes, astrocytes, les microglies, les CMLV et les neurones contribuent à la clairance du peptide. (8) RAGE médie l'influx du peptide Aβ circulant ou lié à des monocytes dans le cerveau à travers la BHE. (9) Le peptide Aβ séquestré dans le plasma avec des agents tels que le LRP1 soluble (sLRP1), le RAGE soluble (sRAGE), et/ou des anticorps dirigés contre le peptide Aβ contribuent à la clairance du peptide en créant un gradient de concentration qui favorise l'efflux du peptide Aβ. (10) Elimination de la circulation du peptide Aβ par des organes excréteurs tels que le foie et le rein.⁶⁷

5. Des peptides A β aux dépôts amyloïdes

a. Clairance et production dérégulée du peptide A β

Selon l'hypothèse de la cascade amyloïde, l'élément initiateur de la MA ou de l'AAC serait le déséquilibre entre la production du peptide A β et sa clairance. Dans les formes familiales de la MA/AAC, le déséquilibre serait principalement dû à la surproduction du peptide A β lié aux mutations du gène de l'APP ou de la préséniline augmentant la production de peptide, tandis que les maladies sporadiques résulteraient surtout d'une réduction de la clairance du peptide sous l'influence de facteurs de risque génétiques (comme l'*APOE4*), de facteurs environnementaux et de l'âge.

De nombreuses preuves suggèrent que la clairance du peptide est effectivement dérégulée chez les patients Alzheimer : les niveaux plasmatiques de sLRP1 sont réduits et le complexe A β -sLRP1 est diminué en raison de l'oxydation de sLRP1^{67,74}, phénomène associé à une augmentation des niveaux des peptides A β 1-40 et A β 1-42 libres dans le plasma⁷⁵. En plus de cela, l'expression de LRP1 est réduite dans les cellules endothéliales chez les patients Alzheimer et *in vivo*. Ce mécanisme de clairance est modulé par les isoformes de l'ApoE : en effet, l'isoforme ApoE4 entraîne une transcytose réduite du peptide⁷⁶. Les deux principales enzymes responsables de la dégradation du peptide A β , la NEP et l'IDE, diminuent aussi au cours du vieillissement et dans les régions touchées par les plaques et dans le LCR de patients à des stades précoces de la MA⁶⁷.

L'échec progressif de la clairance du peptide A β avec l'âge peut ainsi contribuer à l'accumulation de peptide A β et à son agrégation, initiant la formation de plaques neuronales et cérébro-vasculaires. Le drainage périvasculaire du peptide A β devient également moins efficace en raison du raidissement des artères avec l'âge. Le peptide A β agrégé sous forme de plaques au niveau des vaisseaux, comme dans le cas de l'AAC, induit *in fine* à l'échec de sa clairance le long des voies périvasculaires, puisque seul le peptide A β soluble est éliminé à travers cette voie⁷⁷. Le peptide A β insoluble, alors déposé sous forme de plaques, interfère avec la diffusion du peptide A β soluble dans l'espace extracellulaire. Finalement, les niveaux de peptide A β dans le cerveau augmentent et perturbent l'homéostasie du tissu neuronal.

b. A β : de la production de monomères à l'assemblage de la plaque

i. Les différents stades d'agrégation

L'une des manifestations cliniques de la MA et de l'AAC est le dépôt de peptide A β sous forme de fibrilles agrégées au sein des plaques séniles. Le peptide A β , du fait de son hydrophobicité, est effectivement enclin à s'agréger et à progressivement former des fibrilles amyloïdes. Diverses espèces (solubles et insolubles) et états d'agrégation des peptides A β coexistent, comme les monomères, les oligomères, les protofibrilles, les fibrilles et les plaques. Les fibrilles amyloïdes ont une structure caractéristique en feuillets β et ont la capacité de s'oligomériser pour former des agrégats solubles et par la suite former des fibrilles insolubles⁷⁸ (Figure 7).

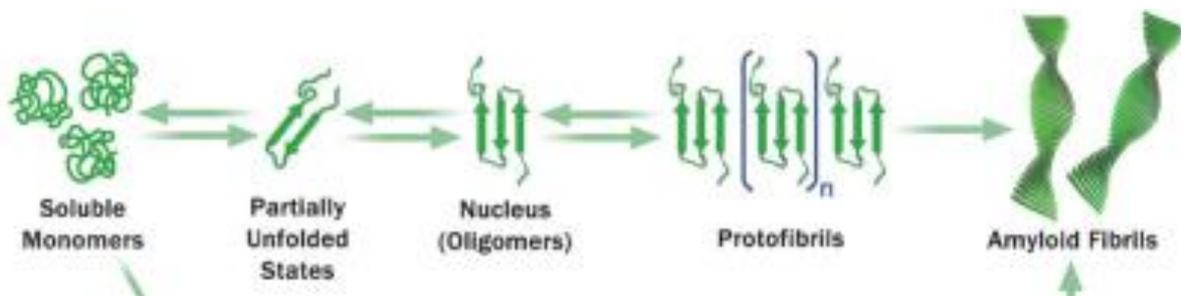


Figure 7. Formation des différents stades d'agrégation des peptides A β .

D'après Nankai university, College of chemistry.

Le premier événement dans le processus d'agrégation est la formation de dimères, formant ensuite les oligomères d'A β qui apparaissent sous forme de particules d'environ 3 nm de diamètre. Les oligomères co-agrégent pour former des fibrilles avec un aspect perlé caractéristique appelés « protofibrilles » pour ensuite former les fibrilles. Une fois que le réseau de fibrilles amyloïdes a été établi, il peut se développer en ajoutant des monomères sur les extrémités des fibrilles^{79,80}. Les fibrilles amyloïdes sont des fibrilles sans ramification d'environ 6 à 10 nm de diamètre et présentent des propriétés caractéristiques, liant le rouge Congo et les colorants thioflavinés⁸¹.

Les fibrilles sont les constituants principaux des plaques séniles observées dans le parenchyme cérébral des patients Alzheimer. Elles sont par ailleurs très souvent associées avec d'autres composants, comme des lipides, et des protéines liées au métabolisme et au transport des lipides, comme l'ApoE. Les fibrilles se dissolvent et se reforment en continu plutôt que d'être emprisonnées de manière irréversible dans les plaques ; les formes oligomériques aux extrémités des fibrilles contenues dans les plaques peuvent être ainsi libérées. Les lipides qui interagissent avec les fibrilles amyloïdes semblent favoriser la libération des formes oligomériques toxiques⁸².

ii. Propriétés des différents peptides A β

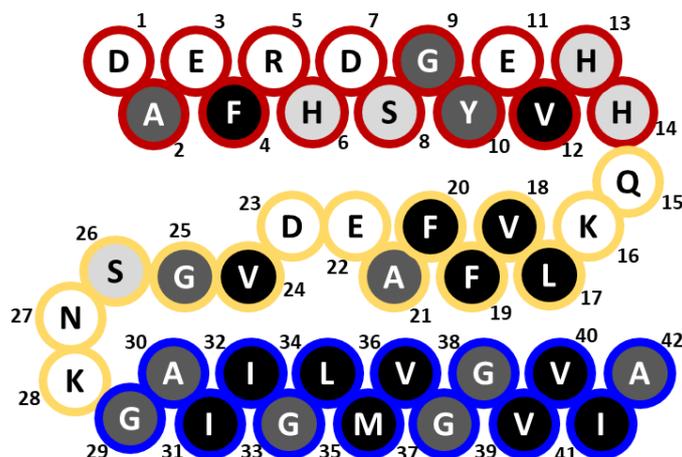


Figure 8. Représentation schématique de la structure d'un peptide A β 1-42.

L'arrière-plan dans chaque cercle indique la polarité du résidu : noir = hydrophobe, gris foncé = légèrement hydrophobe à ambivalent, gris clair = ambivalent à légèrement hydrophile, blanc = hydrophile. Du fait de leur hydrophobicité la partie bleue et la partie jaune jouent un rôle important dans la formation des agrégats des peptides A β . Adapté de " Beta-barrel models of soluble amyloid beta oligomers and annular protofibrils ", Shafiq et al., 2011, ⁸³

Les régions hydrophobes des peptides A β jouent un rôle important dans leur agrégation, leur toxicité, et pour la structure des fibrilles. Tous les peptides A β produits à partir de l'APP possèdent une structure amphiphile avec une extrémité N-terminale hydrophile, un petit fragment hydrophobe (du 17^{ème} au 21^{ème} acide aminé), de nouveau un fragment hydrophile et une extrémité C-terminale hydrophobe (à partir du 29^{ème} acide aminé), variable selon les différents types de peptides produits (Figure 8). La variation C-terminale du peptide affecte sa propension à l'agrégation. Par exemple, le peptide de 42 résidus (A β 1-42) qui contient une isoleucine et une alanine hydrophobes supplémentaires à l'extrémité C-terminale, forme généralement des fibrilles plus rapidement que la forme de 40 résidus (A β 1-40), le rendant ainsi plus pathogène ⁸⁴. Il a été généralement rapporté que la formation d'oligomères se présente à une concentration critique d'environ 25 μ M pour le peptide A β 1-40, alors que le A β 1-42 forme facilement des structures oligomères à des concentrations d'environ 20 nM ⁸⁵. Les peptides A β 1-37 et A β 1-38, présentant moins d'acides aminés hydrophobes, se comportent généralement comme le peptide A β 1-40 alors que le comportement du peptide A β 1-43 ressemble fortement à celui du peptide A β 1-42 ⁸⁶.

En plus de leur longueur, la concentration, le pH, le temps d'incubation des peptides et la présence de certains ligands ou de lipides, sont des paramètres importants pouvant moduler le taux d'assemblage de fibrilles ^{87,88}. Les différentes modifications post-traductionnelles du peptide A β peuvent également affecter le début de son agrégation, sans affecter la morphologie des fibrilles ni la formation d'oligomères ⁸⁶.

c. Toxicité du peptide A β

La fibrillation du peptide A β semble déclencher une cascade d'événements produisant une mort de cellules et entraînant un déclin cognitif et comportemental caractéristique de la MA et de l'AAC. Les agrégats de peptide A β sous forme oligomères sont considérés comme étant plus toxiques que les fibrilles matures, puisqu'ils sont fortement impliqués dans le dysfonctionnement et la toxicité cellulaire⁸⁹. De nombreuses études *in vitro* indiquent que les oligomères A β sont toxiques pour les cellules ou interfèrent avec les fonctions neuronales⁹⁰. La toxicité des oligomères peut être médiée par (i) leur capacité à lier des récepteurs, (ii) leur insertion dans la membrane et (iii) à leur accumulation intracellulaire⁹¹; cette toxicité résulte alors entre autres en un stress oxydatif, une altération mitochondriale, des altérations de la perméabilité membranaire, une inflammation, une dysfonction synaptique et l'activation de voies spécifiques de signalisation.

Le peptide A β peut s'accumuler dans le compartiment intracellulaire après sa production en interagissant directement avec des lipides, du cholestérol ou des protéoglycanes dans des régions extracellulaires. Alternativement, il peut se lier à ses récepteurs pour être internalisé. Certains récepteurs du peptide A β sont les plus susceptibles de l'internaliser dans les cellules pour produire une défaillance cellulaire, comme LRP1 et RAGE⁹². L'accumulation dans les endosomes et les lysosomes du peptide entraîne une augmentation de la perméabilité de la membrane lysosomale, entraînant la libération de protéases lysosomales pour déclencher la mort des cellules⁹². Les mitochondries et le noyau sont d'autres compartiments pour l'accumulation du peptide⁹³.

Le peptide A β peut se lier également directement aux membranes cellulaires et former des canaux ioniques ou des pores qui induisent une perturbation de la membrane et donc des dommages cellulaires. En augmentant la perméabilité de la membrane, les oligomères du peptide, mais pas les monomères ou les fibrilles, dérèglent les signaux calciques induisant une toxicité cellulaire⁹⁴.

PARTIE C. L'Angiopathie Amyloïde Cérébrale (AAC)

L'angiopathie amyloïde cérébrale a longtemps été sous-estimée, elle est cependant maintenant reconnue comme une cause importante d'hémorragies intracérébrales spontanées et d'altérations cognitives chez les personnes âgées^{95,96}. Pathologie cérébrale liée à l'âge, elle est caractérisée par des dépôts progressifs de peptide A β dans la paroi des artères, des artérioles et des capillaires du cortex cérébral et des leptoméniges.

L'intérêt croissant pour l'AAC s'est développé grâce à deux domaines de recherche, qui ont joué un rôle important dans la définition du phénotype clinique et de la pathophysiologie sous-jacente de la maladie: (1) la neuroimagerie, notamment l'IRM, permettant une capacité d'investigation de la dynamique de l'AAC et (2) les études *in vivo* utilisant des souris transgéniques, permettant l'altération expérimentale de l'expression du peptide A β et de sa structure moléculaire, fournissant des connaissances mécanistiques significatives.

L'AAC a été reconnue comme l'une des caractéristiques morphologiques de la maladie d'Alzheimer, mais elle se retrouve souvent dans le cerveau des patients âgés n'ayant aucune atteinte neurologique. Bien qu'elle soit souvent asymptomatique, l'AAC peut conduire également à une démence ou des événements neurologiques transitoires ⁹⁷.

Ce chapitre développe les caractéristiques physiopathologiques de l'AAC, ses conséquences sur le système cérébro-vasculaire, ainsi que les modèles animaux utilisés pour l'étudier ; avec au préalable, une présentation de l'anatomie et la structure du système cérébro-vasculaire.

1. Le système cérébro-vasculaire

Le cerveau reçoit 15 à 20% du débit cardiaque total, ce qui fait du cerveau l'un des organes les plus hautement perfusés du corps. La circulation cérébrale est unique en ce sens que les grandes artères représentent une plus grande résistance vasculaire dans le cerveau que dans beaucoup d'autres systèmes vasculaires. Ce rôle exceptionnellement important des grandes artères dans la résistance vasculaire contribue probablement à fournir un flux sanguin constant au tissu neuronal et à protéger la microcirculation cérébrale pendant les fluctuations de la pression artérielle ⁹⁸. Les vaisseaux intracrâniens diffèrent de l'anatomie d'autres systèmes circulatoires cardiaques ou périphériques.

a. Anatomie

i. Les artères et les veines cérébrales

L'approvisionnement en sang artériel du cerveau humain se compose de deux paires de grandes artères, la carotide interne droite et gauche et les artères vertébrales droite et gauche (figure 9A) : Les artères carotides internes vascularisent la plus grande partie du cerveau, l'oreille interne et l'œil ; alors que les deux artères vertébrales se réunissent pour constituer l'artère basilaire (BA). Les artères carotides internes et leurs branches peuvent contribuer également à la formation de l'artère basilaire et d'autres artères communicantes via de plus petites artères issues de celles-ci.

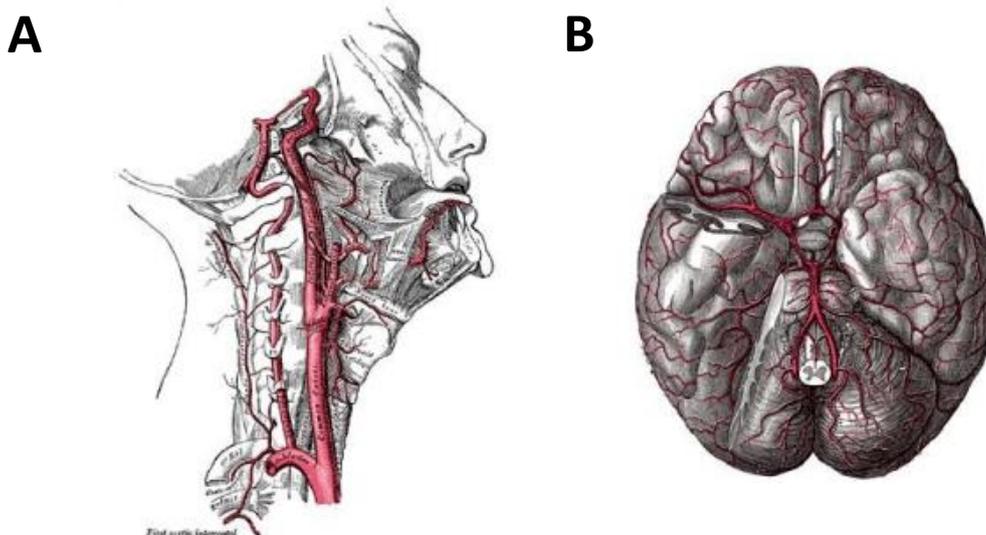


Figure 9. Anatomie des principales artères cérébrales.

Reproductions d'une plaque de lithographie de Gray's Anatomy à partir de la 20ème édition américaine de Gray's Anatomy of the Human Body, publiée à l'origine en 1918. A. Les artères carotides et vertébrales internes : côté droit. Les artères vertébrales (ici la droite) présentent un aspect tortueux de leur terminaison, obliquant vers l'arrière puis revenant vers l'avant du tronc cérébral, elles forment à la base du cerveau l'artère basilaire qui peut communiquer avec les artères carotides internes. B. Les artères de la base du cerveau. Le pôle temporel du cerveau et une partie de l'hémisphère cérébelleux ont été enlevés sur le côté droit. L'artère basilaire contribue à la formation des artères de la base du cerveau regroupées sous le nom de cercle ou polygone de willis.

L'artère basilaire donne naissance à la base du cerveau à un réseau de vaisseaux structurés en polygone, appelé cercle Willis, composé en plus de l'artère basilaire, de trois paires d'artères principales, les artères cérébrales antérieures (ACA), moyennes (MCA) et postérieures (PCA, Figure 10). Ces artères fournissent la base de plus petites artères et des artérioles qui peuvent alors pénétrer dans le cerveau (figure 9B). De nombreuses autres artères partent du cercle de Willis pour fournir les différentes régions du cerveau. Ces artères sont décrites dans la figure 10. Les nombreuses anastomoses (connexion entre plusieurs vaisseaux) reliant le cercle de willis et le réseau des vaisseaux leptoméningés permettent de diminuer les risques ischémiques si une des artères reliant le cercle est bouchée ⁹⁹.

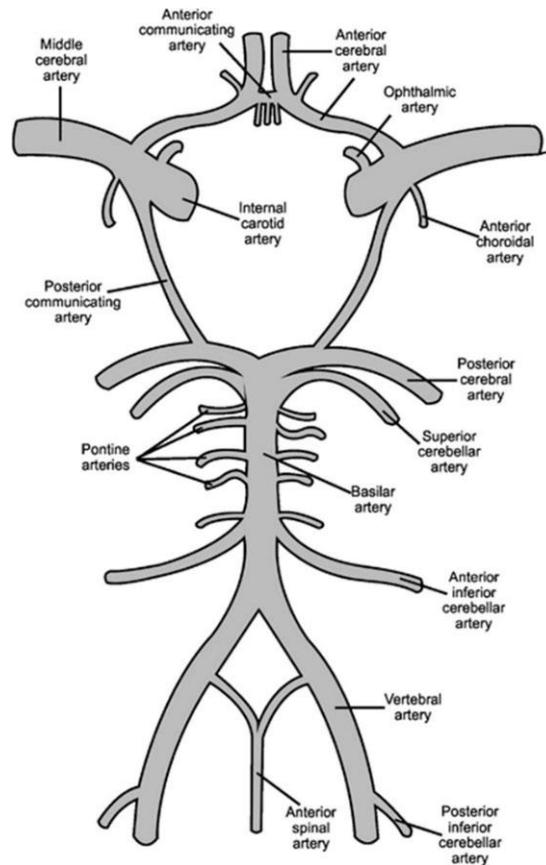


Figure 10. L'anatomie du cercle de Willis.

L'artère carotide interne (*Internal carotid artery ICA*) n'a que de petits embranchements. La partie intracrânienne courante de l'ICA est située dans l'espace sous-arachnoïdien, entourée du LCR, donnant lieu à une artère ophtalmique relativement petite puis se ramifie brusquement en artères terminales : l'artère cérébrale moyenne (*Middle cerebral artery MCA*) et l'artère cérébrale antérieure (*Anterior cerebral artery ACA*). Deux artères vertébrales sur la partie antérieure du tronc forment l'artère basilaire (*BA*), qui se ramifie ensuite. L'artère communicante postérieure (*Anterior communicating artery AComA*) relie les deux ACA, alors que l'artère communicante postérieure (*Posterior communicating artery PComA*) relie l'artère cérébrale postérieure (*Posterior cerebral artery PCA*) et l'ICA.¹⁰⁰

Le système veineux cérébral est divisé entre les veines cérébrales superficielles (externes) et les veines cérébrales profondes (internes). Le système superficiel est composé des sinus veineux durs situés à la surface du cerveau, dont font partie le sinus sagittal supérieur, les deux sinus transversaux et les sinus sigmoïdes formant *in fine* les deux veines jugulaires ; alors que le drainage veineux profond est principalement composé de veines à l'intérieur des structures profondes du cerveau, qui se rejoignent derrière le cerveau moyen pour former la veine de Galen¹⁰¹.

ii. Architecture vasculaire cérébrale

Les artères présentes à la surface du cerveau dans les leptoméniges, et reposant sur la glia limitans (barrière mince constituée des pieds astrocytaires associés à la lame basale parenchymateuse, Figure

11), se transforment au fur et à mesure en artères plus petites jusqu'à former des artérioles. Ces artérioles peuvent ainsi pénétrer le tissu cérébral devenant des artérioles parenchymateuses étant complètement entourées par les pieds astrocytaires (Figure 11)¹⁰². Il convient de noter une certaine hétérogénéité fonctionnelle des artères lorsqu'elles sont présentes dans les leptoméninges et une fois qu'elles ont pénétré le système nerveux, due à leur architecture et leur innervation. En effet, les artérioles parenchymateuses sont innervées par le système nerveux central et ont une structure étendue avec peu de ramifications, alors que les artères parenchymateuses sont innervées par le système nerveux périphérique et présentent de nombreuses ramifications¹⁰³.

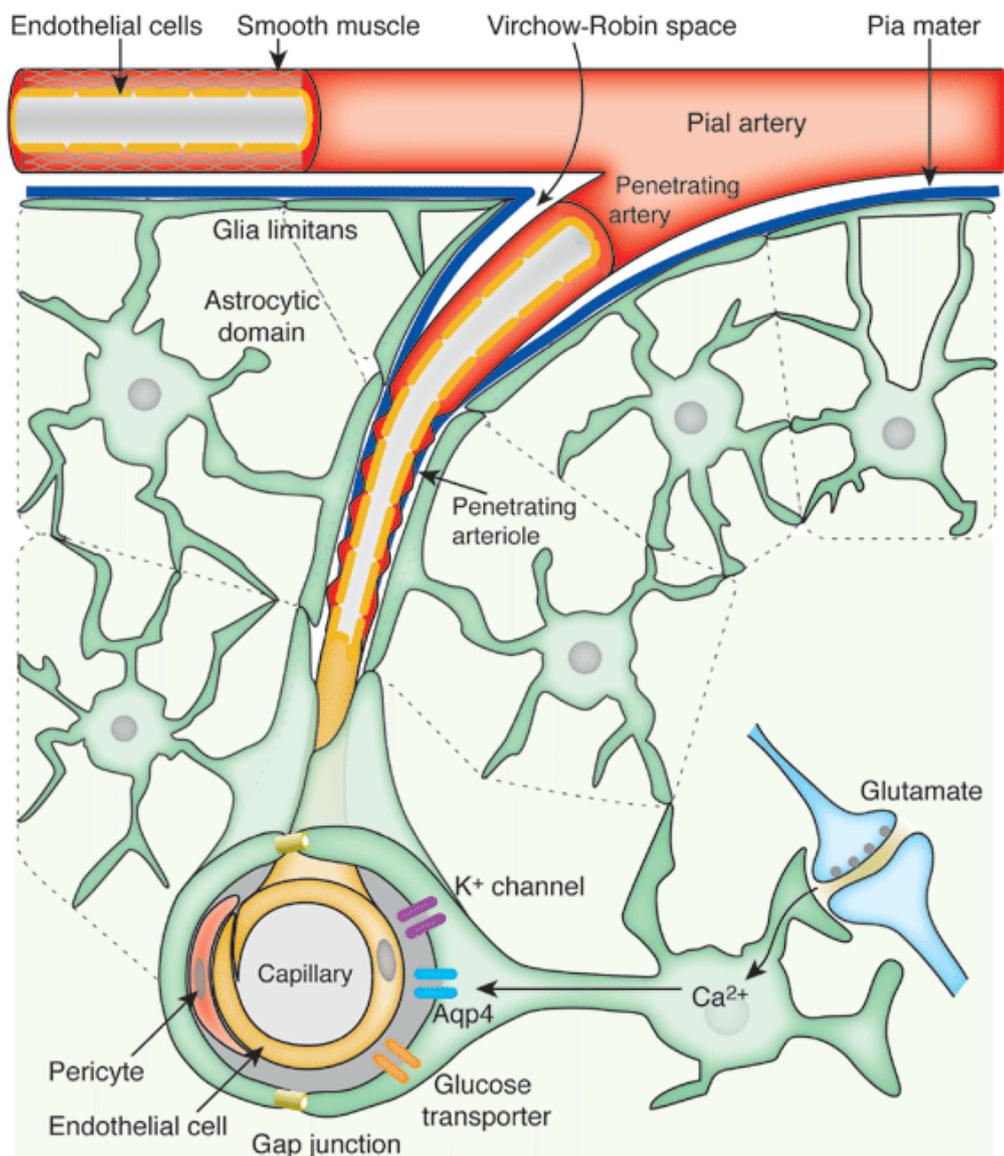


Figure 11. Structure et architecture des artères parenchymateuses et des leptoméninges.

Les artères piales dans les leptoméninges reposent sur la glia limitans, qui enveloppe la surface du cerveau. Les artérioles pénétrantes se situent dans l'espace Virchow-Robin, continuation de l'espace sous-arachnoïdien, c'est-à-dire entre les artérioles des leptoméninges et parenchymateuses. Les artérioles pénétrantes sont entourées par des extrémités astrocytaires qui expriment plusieurs protéines spécialisées. Les astrocytes ont des processus fins à proximité immédiate des synapses. Aqp4, aquaporine 4.¹⁰⁴

b. Structure des vaisseaux cérébraux

i. Composition du mur artériel

La paroi des artères cérébrales et des artérioles se compose de trois couches concentriques (Figure 12) : l'intima, étant la couche la plus interne, qui se compose d'une couche de cellules endothéliales et de la limitante élastique interne (IEL) ; la media, qui contient principalement des cellules musculaires lisses (CML) et de l'élastine et du collagène ; et l'adventice, la couche la plus extérieure, qui est composée principalement de fibres de collagène et de fibroblastes. Etant à l'interface avec le système nerveux, l'adventice des artères cérébrales est associée avec de nombreuses cellules, comme les cellules neuronales, les péricytes et les pieds astrocytaires. Plus les artères présentent une taille conséquente, plus le nombre de couches de CML est important, allant de 20 couches pour l'artère carotide interne jusqu'à une couche pour les artères pénétrantes et parenchymateuses ⁹⁸.

En outre, les artères cérébrales présentent quelques différences avec les artères systémiques. En effet, les artères cérébrales (i) n'ont pas de lame élastique externe, mais ont plutôt une limitante élastique interne bien développée ¹⁰⁵, (ii) comportent une lame élastique interne fenestrée, avec des fentes qui varient en fonction du segment artériel ¹⁰⁶, et (iii) présentent un appauvrissement de fibres élastiques dans la média et une adventice très mince (Figure 12), avec pour conséquence un rapport paroi/lumière plus petit que les artères périphériques ¹⁰⁷. Une fois entrées dans le parenchyme cérébral, les artères intracrâniennes ne présentent pas de vasa vasorum ¹ (système capillaire présent dans les grosses artères périphériques assurant leurs apports nutritifs), mais possèdent de petites fenêtres dans l'adventice agissant comme des stomates, appelées rete vasorum, perméables aux grandes protéines et permettant d'entrer ou d'échanger avec le liquide céphalo-rachidien ¹⁰⁸.

¹ Le terme vasa vasorum provient du latin, signifiant « vaisseaux des vaisseaux ».

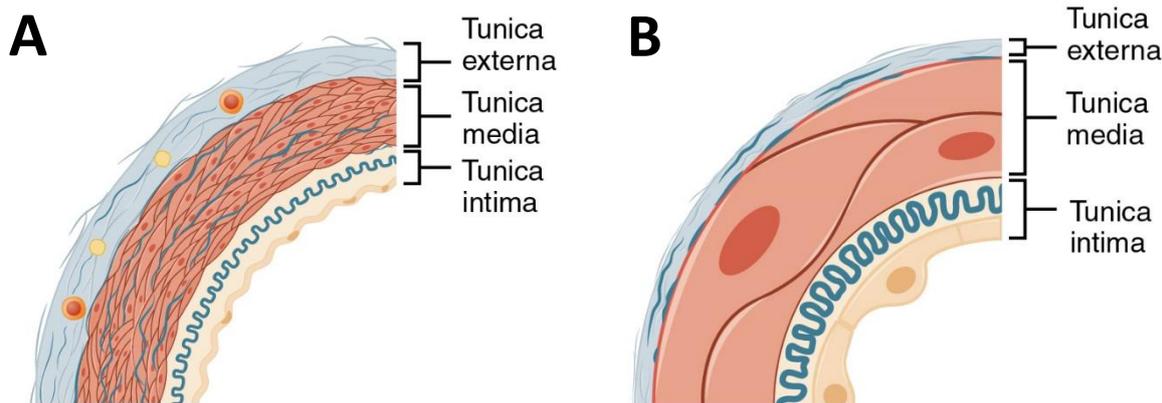


Figure 12. Comparaison entre un vaisseau périphérique et un vaisseau cérébral.

A. Artère périphérique de type musculaire. La média (tunica media) comprend de nombreuses fibres élastiques et repose sur une limitante élastique interne peu développée. L'adventice (tunica externa), de taille importante, contient des petits vaisseaux appelé des vasa vasorum. **B.** Artère cérébrale de type pliale. La média (tunica media), pauvre en fibres élastiques, contient un nombre variable de CML. L'adventice (tunica externa) est très mince par comparaison aux artères périphériques et est exempte de vasa vasorum.

ii. Microcirculation et unité neurovasculaire

Les capillaires sont les plus petits vaisseaux du corps formant la micro-circulation et ne sont constitués que d'une seule couche de cellules endothéliales sans CML (Figure 13) ¹⁰⁹. Les capillaires cérébraux forment un dense système (les capillaires de la matière grise étant plus denses que ceux de la matière blanche) afin d'apporter l'oxygène et les nutriments nécessaires au tissu cérébral ¹¹⁰. Les cellules endothéliales de ces capillaires sont entourées d'une lame basale synthétisée par l'endothélium lui-même qui est constituée de collagène de type IV, de protéoglycanes d'héparine sulfate, de laminine, de fibronectine et d'autres protéines de la matrice extracellulaire ¹¹¹.

A la différence des capillaires périphériques, les capillaires cérébraux ne sont pas fenestrés mais forment des structures imperméables en raison des jonctions serrées reliant les cellules endothéliales et empêchant ainsi les molécules de passer entre les cellules. La lame basale de l'endothélium cérébral est associée avec des neurones, des péricytes et les pieds astrocytaires entourant les capillaires cérébraux (Figure 13). L'ensemble de ces types cellulaires adjacents aux capillaires forment un ensemble appelé « unité neurovasculaire », caractérisé par un dialogue complexe entre les différentes cellules le constituant, formant une barrière efficace aux molécules plasmatiques et permettant la régulation du flux sanguin ¹¹².

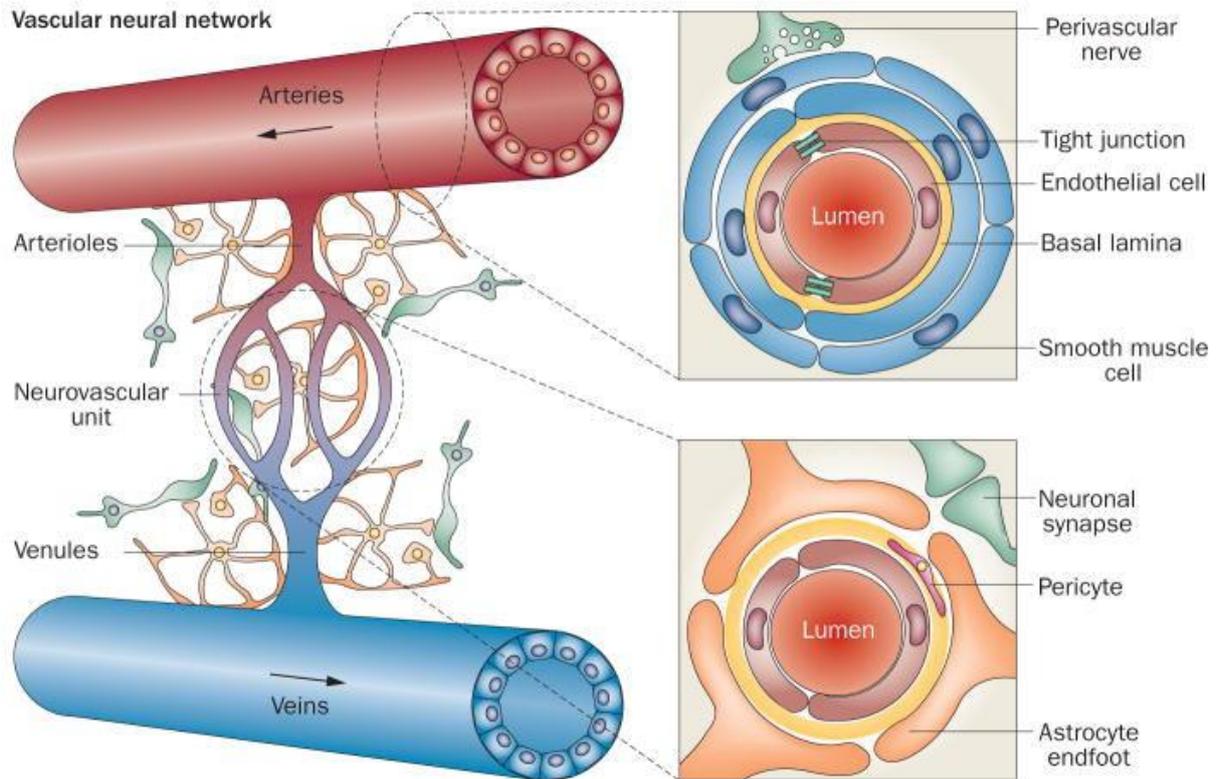


Figure 13. L'unité neurovasculaire en tant que composante du réseau nerveux vasculaire.

L'unité neurovasculaire se compose de cellules endothéliales capillaires, de péricytes et de lames basales enveloppées par les pieds astrocytaires. Les astrocytes communiquent avec des neurones adjacents par échange de métabolites. Le réseau nerveux vasculaire est plus grand que l'unité neurovasculaire, car il comprend également les cellules musculaires lisses, les cellules endothéliales non capillaires, les nerfs périvasculaires, les fibroblastes, les cellules progénitrices des muscles lisses et les cellules du système immunitaire, ainsi que les vaisseaux sanguins collatéraux, le rete vasorum, les nerfs périvasculaires et les veines. Le réseau neuronal vasculaire comprend donc toutes les cellules et les structures nécessaires pour maintenir le flux sanguin cérébral. ¹¹³

iii. Péricytes

Les péricytes partageant la membrane basale des capillaires jouent un rôle important dans la contractibilité des vaisseaux (ils sont ainsi considérés comme des cellules contractiles), la stabilisation de la paroi des vaisseaux et la régulation du flux sanguin ; ils influencent également la perméabilité, la prolifération, la survie, la migration et la maturation des cellules endothéliales ^{114,115}.

Les péricytes sont répartis en plusieurs classes sur la base de leur morphologie, leur localisation dans le système vasculaire et leur fonction ¹¹⁶. Les péricytes étirent leurs extrémités le long des capillaires de manière longitudinale, circonférentiellement au niveau des artérioles et présentent une morphologie plus stellaire au niveau des vénules. Les péricytes sur les pré-capillaires et les post-capillaires expriment l'actine du muscle lisse (α -SMA), une protéine contractile généralement retrouvée dans les CMLV ¹¹⁷.

iv. La barrière hémato-encéphalique (BHE)

Les capillaires, forment un réseau pour les échanges de molécules entre le sang et le cerveau à travers la BHE ¹¹⁸, barrière sélective formée par les cellules endothéliales de ces capillaires, des péricytes et des astrocytes les entourant ¹¹⁹. Cette barrière permet de réguler l'entrée et la sortie des particules (petites molécules lipophiles, glucose, acides aminés et peptides, etc.) du système nerveux central de manière très efficace grâce à la présence de jonctions complexes et serrées entre les cellules endothéliales, forçant ainsi la plupart du trafic à prendre une route transcellulaire, c'est-à-dire à travers les cellules endothéliales, plutôt que de se déplacer entre celles-ci ¹²⁰ (Figure 14). Les jonctions serrées ferment effectivement l'espace présent entre les cellules grâce à des protéines spécifiques les constituant, comme les occludines, les claudines, les Zonula Occludens (ZO), les molécules d'adhésion JAM, les MAGI (membrane-associated guanylate kinase), les PAR (partitioning defective proteins), et la protéine kinase dépendante du Ca²⁺ (CASK), permettant ainsi de réguler le flux dans l'endothélium cérébral ¹²¹ (Figure 14).

La présence de systèmes de transport spécifiques sur les membranes des cellules régule le trafic cellulaire permettant l'entrée des nutriments requis et excluant des composés potentiellement dangereux ¹²².

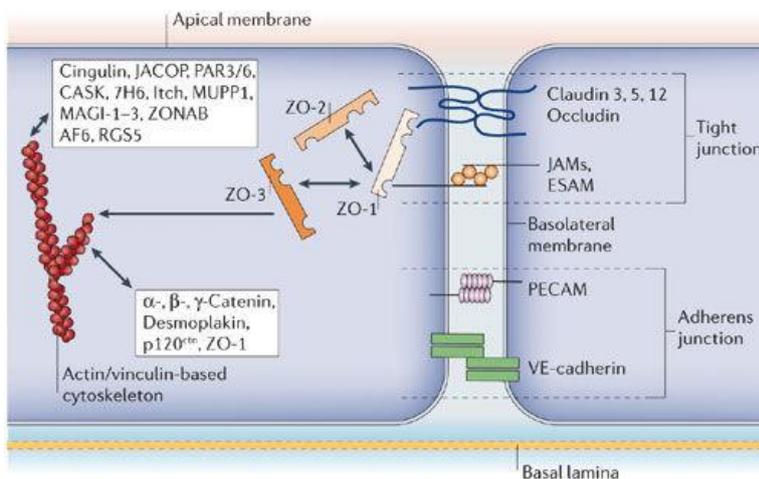


Figure 14. Composition moléculaire des jonctions étroites endothéliales.

Les protéines des jonctions serrées transmembranaires trouvées localisées dans l'endothélium du SNC sont l'occludine, la claudine-3, la claudine-5 et la claudine-12 ainsi que les molécules d'adhésion JAM. Les claudines et les JAM scellent la fente intercellulaire entre les cellules endothéliales. Les protéines transmembranaires lient les protéines ZO-1 et ZO-2 qui médient le lien avec le cytosquelette d'actine. ¹²¹

2. Epidémiologie, localisation des dépôts et pathophysiologie de l'AAC

a. Epidémiologie et facteurs de risques

L'incidence et la prévalence réelles de l'AAC sont difficiles à préciser, car l'AAC est définie en diagnostic post-mortem par la présence de dépôts amyloïdes sur les vaisseaux cérébraux. Cependant, des estimations peuvent être faites en autopsie et sur la base de l'incidence des hémorragies intracrâniennes. La prévalence de l'AAC augmente avec l'âge, et a été évaluée chez environ 8% des individus de 60 ans, alors que plus de 50% des personnes de 90 ans présentent une AAC ¹²³. Chez les patients atteints de la maladie d'Alzheimer, l'incidence dans plusieurs études varie d'environ de 80 à 90% ¹²⁴. On estime que l'AAC représente jusqu'à 15% de toutes les hémorragies intracrâniennes chez les patients âgés de plus de 60 ans et jusqu'à la moitié des hémorragies intracrâniennes chez les patients de plus de 70 ans ¹²⁵.

Ainsi, le principal facteur de l'AAC sporadique est le vieillissement. Comme il l'a été mentionné dans le chapitre précédent, la diminution de l'élimination du peptide serait déterminant dans le développement des dépôts amyloïdes vasculaires, caractéristiques de l'AAC. Le drainage périvasculaire des peptides A β , son transport à travers la BHE via LRP1 et les enzymes permettant son élimination diminuerait avec l'âge et favoriserait l'accumulation de peptide au niveau du système cérébro-vasculaire ¹²⁶.

En plus de ce facteur, des facteurs de risque génétiques sont également proposés, le principal étant le type d'allèle de l'ApoE. En effet, que ce soit pour la MA ou l'AAC, le gène ApoE est suggéré comme étant un facteur de risque pour ces deux pathologies. L'ApoE présente trois allèles majeurs : E2, E3 et E4. L'allèle E3 est généralement considéré comme étant protecteur pour la MA et l'AAC, alors que les porteurs de l'allèle E4 et l'allèle E2 présentent plus fréquemment des hémorragies lobaires liées à l'AAC. L'allèle ApoE4 constitue un facteur de risque pour l'AAC présente au niveau des capillaires, alors que l'ApoE2 (qui protégerait de la MA) est très présente chez les patients atteints de l'AAC artérielle (deux types d'AAC distinctes, présentées dans le chapitre suivant) ¹²⁶. En outre, l'ApoE4 favoriserait les dépôts amyloïdes vasculaires alors que l'allèle 2 contribuerait aux altérations vasculaires comme les nécroses fibrinoïdes et les micro-hémorragies. Comme on peut le voir, l'ApoE participe à la clairance du peptide A β . Or, les complexes ApoE4/A β sont moins bien éliminés par le récepteur LRP1 au niveau des cellules endothéliales cérébrales entraînant leur accumulation périvasculaire et favorisant ainsi la formation de plaques amyloïdes vasculaires.

b. Conséquences cliniques et pathologiques de l'AAC

L'AAC touche préférentiellement les artères leptoméningées et corticales, les artérioles, les capillaires, les veinules et les veines ¹²⁷. Au niveau du cortex, le lobe occipital est la région la plus fréquemment et sévèrement touché par l'AAC, suivi du lobe frontal, temporal puis pariétal ^{128,129}. Le cervelet peut également être affecté par l'AAC.

Selon le type de vaisseau impliqué, deux types d'AAC sont distingués : l'**AAC capillaire** appelée l'AAC de type 1 et l'**AAC artérielle** appelée l'AAC de type 2 ¹³⁰ (Figure 15). Dans l'AAC de type 1, souvent associée aux dépôts parenchymateux présents dans la MA, le peptide majeur retrouvé est celui de 42 acides aminés, le peptide A β 1-42, qui se dépose autour des capillaires conduisant à leur obstruction dans les cas les plus sévères pouvant induire de graves troubles ischémiques ^{131,127} (Figure 15). Ces dépôts résulteraient en grande partie des dépôts parenchymateux de la MA venant entourer les capillaires adjacents aux plaques. L'AAC de type 2 se définit par des dépôts progressifs de peptide A β 1-40 dans la média des vaisseaux, remplaçant au fur et à mesure complètement les couches de CML et induisant une perturbation sévère de l'architecture vasculaire ; elle entraîne dans les cas les plus sévères la rupture des vaisseaux et la formation d'hémorragies ¹³² (Figure 15). Les hémorragies intracérébrales sont effectivement une des complications les plus connues de l'AAC ¹³³ ; elles sont responsables de dommages cérébraux qui peuvent mener ainsi à l'apparition d'une démence progressive chez les patients atteints d'AAC ¹³⁴, même chez ceux dépourvus de toute MA ¹³⁵. Le peptide A β présent dans les artères touchées par l'AAC de type 2 serait en partie produit par les CML elles-mêmes, et pourrait donc n'avoir pas ou peu d'association avec les dépôts parenchymateux.

La sévérité de l'AAC de type 2 peut être graduée en trois catégories : légère, modérée et sévère ¹³². L'AAC légère est caractérisée par de faibles dépôts amyloïdes au niveau de la membrane basale entre la média et l'adventice et à quelques couches de CML. L'AAC modérée, est définie par la dégénérescence des CML et par de plus grands dépôts amyloïdes dans la média remplaçant au fur et à mesure les couches de muscle lisse vasculaire ; aucune altération de la structure vasculaire n'est encore observée. L'AAC sévère, quant à elle, présente, en plus d'une dégénérescence des CML, des altérations vasculaires comme un amincissement de la paroi, des hémorragies et des nécroses fibrinoïdes ¹³³.

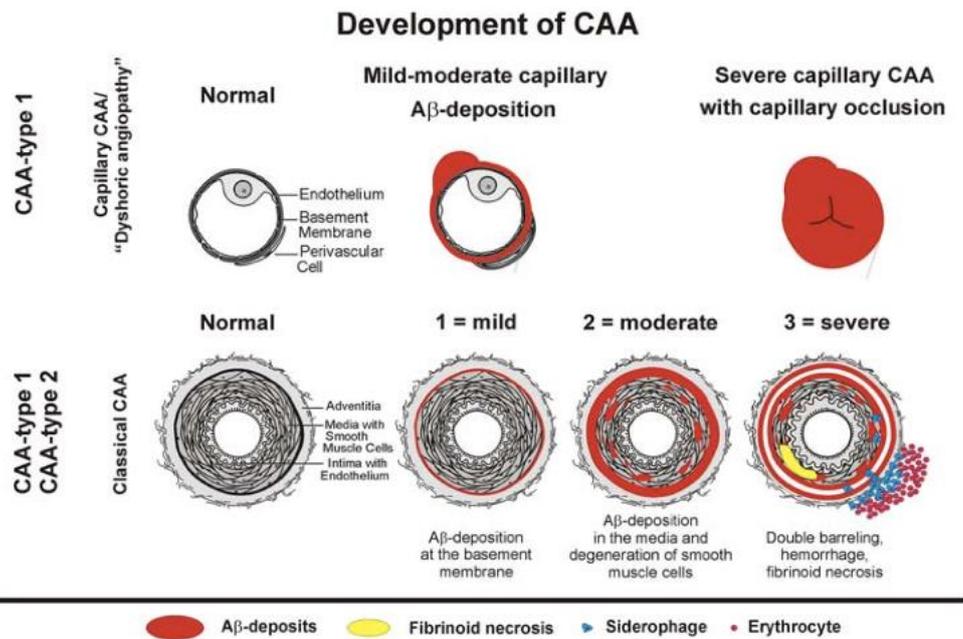


Figure 15. Localisation des dépôts amyloïdes au cours de l'AAC de type 1 et de type 2.

L'AAC de type 1, est caractérisée par des dépôts amyloïdes sur la membrane basale et conduit dans les cas sévères, à une occlusion capillaire et à des perturbations du flux sanguin. L'AAC de type 2 est définie au stade 1 par des dépôts amyloïdes atteignant la membrane basale. Au stade 2, ces dépôts atteignent la média où ils entraînent une dégénérescence des CML. Dans les cas sévères (stade 3), ces dépôts conduisent à des altérations vasculaires et des accidents vasculaires comme des hémorragies.¹³⁰

c. Conséquence cellulaire de l'AAC sur les cellules vasculaires

L'accumulation de peptides Aβ dans la membrane basale a été impliquée dans la dégénérescence des CMLV adjacentes. En effet, le peptide Aβ sous forme oligomérique induit un certain nombre de changements structurels dans les CMLV, comme le rétrécissement des corps cellulaires, la rupture du réseau d'actine intracellulaire et la condensation et la fragmentation nucléaires¹³⁶. Ces changements sont accompagnés d'un certain nombre d'altérations biochimiques dans les cellules comme l'activation de caspases-8 et -9^{137,138} résultant en l'apoptose des CMLV¹³⁹. L'étendue de l'agrégation de peptides Aβ est corrélée avec la réponse toxique des CMLV¹⁴⁰. En outre, il a été montré que les peptides Aβ1-40 et 1-42 *in vitro* diminuent des propriétés d'adhérence cellulaire pouvant contribuer aux modifications caractéristiques de cette dégénérescence cellulaire¹³⁸. En effet, dans l'AAC, la perturbation des propriétés d'adhérence cellulaire des CMLV, qui induit la destruction de la lame basale, précède la dégénérescence musculaire lisse pouvant ainsi influencer la toxicité cellulaire¹⁴¹. Outre le fait d'induire une dégénérescence des CMLV, les dépôts amyloïdes conduisent ces cellules à produire des peptides Aβ, favorisant l'augmentation des plaques et les effets délétères du peptide¹⁴¹. Selon des études *in vitro*, il a été montré que les CML expriment l'APP¹⁴², permettant ainsi la

production de peptide A β soluble par celles-ci en réponse au peptide lui-même, notamment via l'augmentation de l'expression de la β -sécrétase ^{143,144}.

Les peptides A β induisent également l'apoptose des cellules endothéliales, favorisant l'altération du système vasculaire. En effet, l'interaction des formes oligomériques du peptide A β 1-40 avec les récepteurs de la mort cellulaire TRAIL (Tumor necrosis-factor-Related Apoptosis-Inducing Ligand), DR4 et DR5 (Death Receptors 4 et 5) entraîne l'apoptose des cellules endothéliales par l'activation des caspases -8 et -9 ¹⁴⁵. Il a été démontré que les cellules endothéliales ont aussi la possibilité de produire du peptide A β puisqu'elles expriment l'APP ¹⁴⁶.

Le peptide A β présente bien d'autres effets délétères au niveau des cellules vasculaires, comme la génération d'un contexte inflammatoire qui pourrait contribuer à l'altération vasculaire caractéristique de l'AAC. Cette caractéristique résultante du peptide A β sera développée plus loin.

3. Perturbation du système cérébro-vasculaire par le peptide A β

L'une des complications les plus fréquemment reconnues de l'AAC est donc l'hémorragie intracérébrale, impliquant généralement le cortex ou la matière blanche sous-corticale qui est considérée comme une conséquence tardive de la maladie. L'AAC peut également avoir des effets sur la réactivité vasculaire, même à des stades très précoces de la maladie, pouvant entraîner une ischémie au niveau des artérioles les plus importantes du cortex.

a. Dysfonction des vaisseaux cérébraux induite par le peptide A β

De nombreuses études *in vivo* ont démontré que le peptide A β induisait des défauts vasculaires avant même l'apparition de plaques vasculaires. En effet, le peptide A β soluble, c'est-à-dire sous forme de monomères ou d'oligomères, en particulier le peptide A β 1-40, induit des anomalies cérébrovasculaires marquées, en conduisant à une vasoconstriction des vaisseaux ^{147,148,149}. De manière contraire, une fois sous forme fibrillaire au sein des vaisseaux cérébraux, et même à un stade précoce d'AAC (faible charge de plaques vasculaires), le peptide A β insoluble altère la fonction vasculaire à un degré supérieur de celui du peptide A β soluble notamment en induisant des dysfonctionnements profonds vasodilatatoires ^{149,150,151}.

Le dysfonctionnement des vaisseaux induits par l'AAC n'est pas simplement le résultat de changements structurels induits par le peptide A β dans la média ou la dégénérescence des CML ¹⁵⁰. Le peptide A β soluble induit un dysfonctionnement des vaisseaux, notamment au niveau des cellules endothéliales, en augmentant les espèces réactives d'oxygène (ROS) ¹⁵², en inhibant l'activité

enzymatique de l'enzyme eNOS, responsable de la synthèse de l'oxyde nitrique (NO), facteur vasodilatateur ¹⁵³ qui pourrait conduire à une constriction des vaisseaux sanguins et à une ischémie dans le tissu environnant. En outre, il a été démontré que la forme fibrillaire du peptide A β 1-42 est capable de provoquer des dommages sévères du revêtement endothélial avec des effets délétères notamment en augmentant le catabolisme du NO de manière dépendante de la production accrue d'espèces réactives d'oxygène (ROS) ¹⁵⁴.

Ce dysfonctionnement sévère de la réactivité vasculaire survenant avant l'altération de la structure vasculaire peut ainsi conduire à une ischémie chronique du tissu cérébral.

b. Perturbation de la matrice extracellulaire

Dans le cas de l'AAC, certaines études démontrent un dysfonctionnement des cellules endothéliales et un dysfonctionnement des CML ¹⁵⁰. L'AAC sévère est souvent associée à des anomalies vasculaires, comme des micro-anévrysmes, un amincissement et une altération de la média, dont la dégénérescence des CML, ainsi qu'une nécrose fibrinoïde ¹³³. Ces anomalies sont généralement présentes au niveau des segments vasculaires ayant une forte charge amyloïde et observées à proximité de lésions hémorragiques ¹³². Une dégradation de la matrice extracellulaire vasculaire et de la paroi vasculaire sont responsables de ces vasculopathies.

Le principal groupe d'enzymes responsables de la dégradation de la matrice extracellulaire sont les métalloprotéinases matricielles (MMP) ¹⁵⁵. Les membres de la famille des MMP avec activité gélatinase, MMP-2 et MMP-9, présentent également la possibilité de dégrader les peptides A β ¹⁵⁶. Or, un rôle important pour l'expression accrue de MMP dans les complications hémorragiques associées aux dépôts amyloïdes vasculaires dans l'AAC a été suggéré. Le peptide A β induit l'augmentation des niveaux protéiques et de l'activité de la MMP-9 dans les cellules endothéliales cérébrales *in vitro* ¹⁵⁷, et la MMP-9 co-localise *in vivo* avec les dépôts amyloïdes vasculaires et les hémorragies, seulement à un stade avancé de la pathologie ^{149,158}, confirmant que le peptide A β induit une activité vasculaire de MMP-9 qui contribue au développement d'hémorragies associées à l'AAC. La MMP-2, quant à elle, a été montrée comme étant sécrétée par des cellules endothéliales en culture lors de leur stimulation avec des peptides A β ¹⁵⁹. Au niveau des CML, le laboratoire a montré que le peptide A β 1-40 induisait l'expression de MMP-2 et augmentait son activation en induisant l'expression de la métalloprotéase membranaire MT1-MMP, activateur principal de la MMP2 à la surface des cellules ¹³⁹.

La MMP-2 et la MMP-9 pouvant jouer un rôle dans la régulation des niveaux de peptide A β du cerveau et dans la limitation de la croissance de la plaque amyloïde, leur activité peut donc avoir des effets salutaires aussi bien que préjudiciables, pouvant potentiellement induire la dégradation de la

matrice extracellulaire. Cette dégradation compromet ainsi l'intégrité structurale des vaisseaux induisant *in fine* la rupture vasculaire et des hémorragies, conséquences d'un stade avancé de la pathologie.

c. Rupture de la BHE

En plus d'une vasodilatation altérée et des hémorragies spontanées, d'autres effets endothéliaux médiés par le peptide A β existent, notamment la rupture de la BHE.

Dans un modèle de cellules endothéliales cérébrales de souris, le peptide A β 1-40 endommage la BHE via son interaction avec le récepteur RAGE (Receptor for Advanced Glycation End products) en entraînant la production de MMP-2 ¹⁶⁰. De plus, des cellules endothéliales humaines ou de rongeurs, exposées au peptide A β 1-40, montrent alors une augmentation leur perméabilité associée à une diminution des niveaux d'occludine ¹⁶¹ et des niveaux de claudine ¹⁶². Les métalloprotéases, induites par le peptide A β , constituent donc également des éléments clés dans la perturbation des protéines de jonction étroites et l'induction d'altérations de la perméabilité de la BHE ¹⁶³.

Dans les cellules endothéliales traitées au peptide A β 1-42 oligomérique, les protéines transmembranaires des jonctions serrées telles que la claudine-5 et ZO-2, sont mal orientées vers le cytoplasme ¹⁶⁴ et les niveaux de ZO-1, de la claudine-5 et de l'occludine sont diminuées ([ref](#)).

La rupture de la BHE peut alors perturber le transport normal des nutriments, des vitamines et des électrolytes à travers la BHE, essentiel pour un bon fonctionnement des cellules du système nerveux central. Les défauts de la BHE sont notamment associés à une réduction de la cognition dans le contexte de pathologies amyloïdes ¹⁶⁵.

4. Contribution de l'AAC à la maladie d'Alzheimer

L'AAC est un facteur critique majeur dans la pathogenèse de la MA. Près de 98% des patients à un stade avancé de MA ont une AAC et 75% de ces patients sont considérés comme ayant une AAC sévère ¹⁶⁶. En accord avec ces données, de nombreux patients atteints de la MA présentent des symptômes vasculaires, comme une altération du flux sanguin cérébral et une vascularisation cérébrale endommagée ¹⁶⁷. De nombreuses études ont démontré que les patients atteints d'Alzheimer ont un risque plus élevé d'AVC hémorragiques ^{168,169}. Le dysfonctionnement vasculaire dû à l'AAC joue un rôle primordial dans les altérations neurologiques de la MA. En effet, les conséquences de l'AAC sont exacerbées par les dépôts de peptides A β parenchymateux, pouvant déclencher une neurodégénérescence et éventuellement un déclin cognitif exacerbé ¹⁷⁰.

Le développement de l'AAC chez les patients Alzheimer a été sujet à controverses. Deux hypothèses se sont opposées : l'AAC pourrait être la résultante directe de la MA (**hypothèse amyloïde**) ou pourrait apparaître indépendamment des dépôts parenchymateux (**hypothèse vasculaire**). Les dépôts vasculaires et parenchymateux peuvent effectivement avoir une origine neuronale commune, les dépôts vasculaires étant le résultat d'un drainage anormal du peptide A β parenchymateux^{171,172,173}. L'hypothèse amyloïde est soutenue par le fait que, chez les souris transgéniques, la pathologie amyloïde vasculaire se développe en conséquence de l'expression de peptide neuronal¹⁷¹.

Les hypothèses vasculaires ne posent pas de lien direct entre l'AAC et la pathogenèse de la maladie d'Alzheimer, en soi, mais affirment que l'AAC affecte la cognition en altérant la perfusion cérébrale et en générant des hémorragies ou des lésions ischémiques, entraînant une neurodégénérescence. Cette pathologie peut exister sans dépôts parenchymateux (comme par exemple pour les formes héréditaires de l'AAC), et résulterait directement de la production de peptide A β vasculaire. En outre, nous avons également vu que les CMLV et les cellules endothéliales ont la capacité de produire le peptide A β . Récemment, des études ont suggéré que le système vasculaire périphérique, notamment l'activation des plaquettes et la production de peptide par celles-ci, peut également servir de médiation à l'apparition et au développement de l'AAC. Il est effectivement maintenant reconnu que les peptides A β retrouvés dans le plasma proviennent de cellules endothéliales, des CMLV et des cellules circulantes, dont les plaquettes^{174,146}. Les plaquettes sanguines circulantes sont la deuxième source de protéines APP après le cerveau et constituent la principale source de peptides A β libérés dans le plasma¹⁷⁵. Les différentes études confortent l'ensemble de ces deux hypothèses qui pourraient être responsables d'une pathologie amyloïde vasculaire exacerbée.

Cependant, l'hypothèse selon laquelle la MA résulterait en fait d'un trouble vasculaire émerge depuis quelques années. Cette hypothèse est soutenue par le fait : (i) que la MA et l'AAC ont des facteurs de risques commun avec les maladies cardiovasculaires et (ii) que la dysfonction cérébro-vasculaire précède le développement du déclin cognitif et de la pathologie de la MA¹⁷⁶. Les peptides A β *via* les récepteurs RAGE sont capables de passer activement à travers la BHE¹⁷⁷ et le dommage de celle-ci est susceptible d'augmenter l'échange de peptides A β entre les tissus cérébraux et périphériques. De plus, une étude récente a démontré que la réduction plasmatisque périphérique de peptide A β est suffisante pour réduire les niveaux de peptide A β dans le cerveau¹⁷⁸, suggérant l'importance du système vasculaire périphérique et de l'AAC dans la gravité de la MA.

5. Les formes familiales de l'AAC : Implication du gène de l'APP

Les mutations dans le gène codant l'APP près du site de clivage des β - et γ -sécrétases en dehors de la séquence codante du peptide, comme les mutations italiennes, londoniennes ou suédoises, provoquent selon la mutation des formes familiales de la MA et/ou de l'AAC augmentant les niveaux absolu ou relatif des peptides A β 1-40 et 1-42 de forme non mutée ¹⁷⁹. Les formes familiales les plus sévères de l'AAC sont observées chez les patients présentant des mutations APP qui se situent dans le domaine codant le peptide A β produisant un peptide muté, tel que les mutations flamandes, néerlandaises, arctique et Iowa, augmentant l'agrégation du peptide ou réduisant le clivage de l' α -sécrétase. Certaines formes et leurs conséquences sont représentées dans la figure 16.

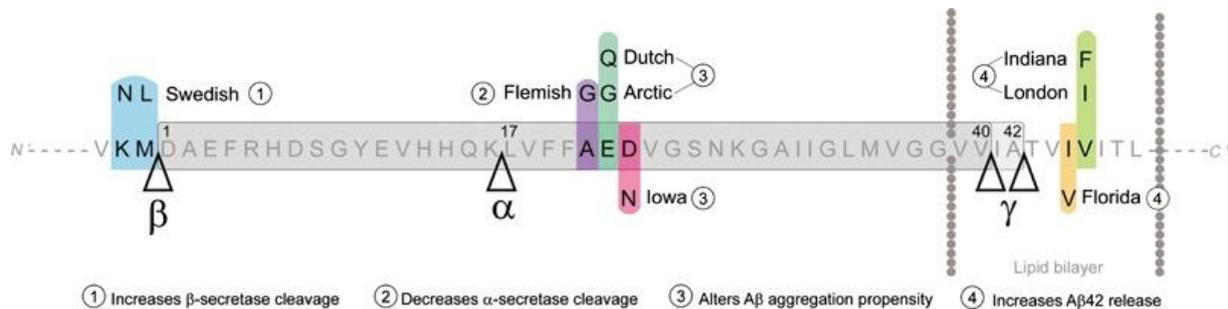


Figure 16. Représentation schématique d'une partie de l'APP, des positions de la séquence du peptide A β , du positionnement du domaine transmembranaire de l'APP dans la bicouche lipidique et des sites de clivage de l' α , la β et la γ -sécrétase.

Les mutations APP ont été identifiées pour la première fois dans une forme familiale d'AAC appelée hémorragie cérébrale héréditaire avec amyloïdose – de type néerlandais ou HCHWA-D (Hereditary Cerebral Hemorrhage With Amyloidosis-Dutch type). Cette mutation remplace un glutamate par une glutamine sur l'APP au codon 693 (E693Q) directement dans la séquence codante du peptide A β sur le 22^{ème} acide aminé ¹⁸⁰ (Figure 16). La mutation n'affecte pas la production totale de peptide A β mais affecte l'agrégation du peptide, sa dégradation protéolytique et son transport à travers la barrière hémato-encéphalique ¹⁸¹. L'AAC de type néerlandais est une forme autosomique dominante d'AAC caractérisée par de graves hémorragies récurrentes dues aux dépôts étendus du peptide A β dans les parois des vaisseaux cérébraux, mais en absence de dépôts parenchymateux ou d'enchevêtrements neurofibrillaires ¹⁸². Le peptide produit est en effet particulièrement toxique pour les cellules vasculaires, dû notamment à son accumulation plus rapide en fibrilles amyloïde plus stables que le peptide A β de type sauvage ^{183,184,185}. Le pronostic des patients atteints de HCHWA-D, est souvent compromis, ces patients n'ayant en moyenne que 10 ans d'espérance de vie après l'apparition des premiers symptômes survenant en moyenne à l'âge de 50 ans.

Il a été identifié par la suite plusieurs autres mutations dans la séquence codante du peptide A β . Par exemple, la mutation de l'APP flamande remplace une glycine par une alanine au codon 692 (A692G)

sur le 21^{ème} acide aminé (figure 16) ; l'AAC conséquente, de forme autosomique dominante, des porteurs de cette mutation est caractérisée par des degrés très sévères de plaques vasculaires au sein des leptoméninges et du parenchyme, des hémorragies cérébrales et une démence ¹⁸⁶. Contrairement aux porteurs de l'APP néerlandaise, les porteurs de l'APP flamand présentent également de nombreuses plaques parenchymateuses ¹⁸⁷.

Les mutations de l'APP de type Italien (E693K), Arctique (E693G), Iowa (D694N) et Piedmont (L705V) résultent toutes chez leurs porteurs à des AAC sévères associées avec de nombreuses hémorragies ou des infarctus cérébraux. Les APP Italien et Piedmont ressemblent à l'APP néerlandais avec une AAC prédominante sans MA ¹⁸⁸, alors que les porteurs de l'APP Arctique et Iowa ressemblent aux porteurs de l'APP flamand en ayant un phénotype mixte MA/AAC ¹⁸⁹.

Les mutations qui viennent d'être décrites ont été prédites non seulement pour modifier le métabolisme de l'APP et/ou pour augmenter la production totale du peptide A β , mais également pour modifier les propriétés d'agrégation du peptide A β mutant ⁸⁵. En effet, les peptides résultant des substitutions au codon 693 de l'APP montrent une altération de l'agrégation par rapport au peptide sauvage : (i) Le peptide néerlandais est l'espèce A β la plus toxique puisqu'il s'accumule presque instantanément ¹⁹⁰. (ii) La mutation flamande résulte en un peptide A β qui s'agrège bien plus lentement que le peptide sauvage favorisant la présence de formes oligomériques plus toxiques ^{190,191,192}. (iii) Et le peptide italien présente une propension accrue à produire des fibrilles, de manière similaire au peptide néerlandais ¹⁹³. Ces mutations induisent une dégénérescence des CML cérébrales ¹⁹³ et des accidents vasculaires cérébraux. La mutation flamande conduit aussi à une augmentation de la production de peptide A β en raison d'une augmentation du clivage de la β -sécrétase ¹⁹¹.

Quant aux autres mutations décrites, la forme Arctique augmente également la formation d'oligomères et de protofibrilles sans augmenter le taux de formation de fibrilles ou la production de peptide A β ¹⁹⁴ ; et enfin, le peptide A β Iowa qui ressemble aux peptides flamand et néerlandais montre des propriétés de cytotoxicité et d'agrégation qui se situent entre celles des peptides A β flamands et néerlandais ¹⁹⁵. Les mutants A β flamand, néerlandais, italien et arctique se révèlent plus résistants à la dégradation protéolytique ¹⁹⁶ et la clairance à travers la BHE des mutants néerlandais, Italien et Iowa est également réduite ¹⁸¹. L'ensemble de ces caractéristiques favorise l'accumulation de peptide A β toxique au niveau vasculaire permettant les conséquences spécifiques délétères des AAC associées.

Les mutations de l'APP en dehors de la région A β conduisent principalement à une MA, mais dans de rares cas peuvent conduire également à une AAC. Par exemple, les mutations Indiana (V717F), Florida (I716V) et Londonienne (V717I) près du site de la γ -sécrétase augmentent le clivage de l'enzyme sur l'APP induisant préférentiellement la production de peptide A β 1-42, forme majoritaire des plaques parenchymateuses, résultant en une augmentation du rapport A β 1-42/A β 1-40 ^{197,198}. La

double mutation suédoise APP (K670N/M671L) près du site de clivage de la β -sécrétase, quant à elle, conduit à des niveaux absolus accrus de peptide A β 1-40 et 1-42 (sans changer le rapport A β 1-42/A β 1-40)¹⁷⁹. Malgré l'augmentation de peptide A β 1-40, aucune AAC n'a été décrite chez les porteurs de l'APP suédoise, alors qu'un cas d'AAC légère a été décrite chez un porteur de l'APP londonienne.

6. Modèles animaux de l'AAC/MA

Une variété de modèles développant une AAC seule ou une AAC couplée à une MA, peuvent être utilisés. En dehors de l'être humain, les chiens âgés et les primates non humains peuvent également présenter des AAC sporadiques¹⁹⁹. Or, pour la faisabilité des études *in vivo*, les recherches se sont tournées vers l'utilisation de rongeurs (rat et souris). Étant donné que l'AAC ou la MA sporadique n'est pas observée naturellement chez ces animaux, les modèles de rongeurs sont principalement basés : (i) soit sur l'expression de gènes modifiant la production du peptide A β , notamment via l'expression transgénique de l'APP présentant les mutations associées aux formes héréditaires de l'AAC, seules ou en association avec des mutations d'autres gènes : (ii) soit par l'injection directement de peptide A β dans les structures cérébrales. Les modèles de souris exprimant un transgène APP sont les plus utilisés, parmi ceux-ci de nombreux modèles existent (le site <http://www.alzforum.org/res/com/tra> présente une liste complète des modèles actuellement disponibles) ; le tableau 1, établi d'après les revues de Lee et al. (2014) et de Wisniewski et Sigurdsson (2010), présente quelques exemples de modèles^{200,201}.

Les souris transgéniques APP, en fonction de la mutation présente dans le transgène, présentent soit une AAC seule, soit une MA seule, soit un phénotype double MA/AAC. Les transgènes APP sont pour la plupart sous le contrôle de promoteurs ayant une expression préférentiellement neuronale, comme le promoteur de la protéine prion de Hamster PrP (expression principalement dans les neurones de l'hippocampe, le cortex, la substance noire et le cervelet) ou le promoteur Thy-1 murin (expression dans les neurones de l'ensemble du cerveau).

Les modèles transgéniques exprimant l'APP ayant des mutations liées aux pathologies héréditaires de type AAC présentent de sévères troubles vasculaires en raison d'une production de peptide A β mutés majoritairement de 40 acides aminés, et présentent peu ou pas de dépôts parenchymateux ou de troubles liés à la MA. Par exemple, les modèles APPDutch et APPFlemish exprimant des transgènes APP avec les mutations néerlandaise (E693Q) et flamande (A692G) respectivement, présentent une dégénérescence des CML, des hémorragies et une neuro-inflammation²⁰². Cependant, comme on a pu le voir, la production de peptide muté peut induire des réponses différentes par rapport aux peptides sauvages ; pour l'étude des pathologies amyloïdes sporadiques,

il convient donc d'utiliser préférentiellement des modèles présentant un transgène avec une mutation en dehors de la séquence codante du peptide A β .

Contrairement aux patients, les souris exprimant un transgène APP muté en dehors de la région A β , ont généralement un phénotype double MA/AAC. Les plus connus et les plus étudiés pour les pathologies amyloïdes sont les modèles de souris APP23 et Tg2576, présentant tous les deux des transgènes APP avec la mutation Suédoise (APP695, K670N/M671L). Ces modèles favorisent le clivage de la β -sécrétase et présentent le peptide A β 1-40 comme forme principale produite. Dans ces modèles de souris, l'AAC est importante et est détectée principalement dans les leptoméninges et à un niveau moindre dans les artères, les artérioles et les capillaires corticaux et hippocampaux ; résultant en une dégénérescence des CML et des micro-hémorragies chez les animaux âgés (Tableau 1) ²⁰³. Le modèle APP23 présente l'isoforme APP751 muté exprimée sous le contrôle du promoteur murin de Thy-1 ²⁰⁴ ; alors que les Tg2576, développé par Hsiao, présentent la mutation APP695 suédoise sous le contrôle du promoteur prion PrP de Hamster. Les Tg2576 sont le premier modèle transgénique produisant une espèce sauvage de peptide A β , et à développer une AAC importante avec des micro-hémorragies et une inflammation des parois des vaisseaux sanguins (Tableau 1) ²⁰⁵. Ces souris présentent à 8 mois un taux élevé de peptide A β soluble, sans pour autant encore présenter de dépôts visibles. Les dépôts parenchymateux de peptide A β commencent à se développer entre 9 et 12 mois et l'AAC commence dès 9 mois en évoluant progressivement jusqu'à atteindre la plupart des artères des leptoméninges à 18 mois ²⁰¹. Une peroxydation lipidique est également présente, mais aucune preuve d'enchevêtrement neurofibrillaire ni de perte neuronale n'a été observée ^{206,207}. Les souris Tg2576 présentent également des déficits cognitifs associés à l'âge ; certaines études rapportent notamment que ces souris développent des troubles de l'apprentissage spatial, dans la mémoire de travail et le conditionnement à la peur entre 6 et 12 mois. Les études sur les Tg2576 ne vont pas au-delà de l'âge de 20 mois en raison de la forte mortalité des souris au-delà de 18 mois.

Certaines lignées de souris transgéniques présentent, en plus de l'expression d'une forme humaine d'APP muté, un transgène permettant l'expression d'un mutant de la préséniline PS1. La PS1 fait partie du complexe de la γ -sécrétase et les mutations liées à la PS1 sont donc associées à une augmentation de la production de peptide A β 1-42. Ces souris doublement transgéniques, appelées APP/PS1, développent très rapidement d'important dépôts amyloïdes et sont donc considérées comme des modèles accélérés des pathologies amyloïdes ²⁰¹. De nombreux modèles existent présentant différentes mutations de l'APP et de la PS1. Par exemple, les APP/PS1 générées à partir des Tg2576 et de souris PS1 portant la mutation M146L commencent à accumuler des dépôts parenchymateux de peptide A β 1-42 à un jeune âge (environ 4 mois) dans le cortex cérébral et l'hippocampe, considérablement plus tôt donc que les Tg2576 (Tableau 1). Elles présentent

également des dépôts vasculaires plus précoces, à l'âge de 6 mois, mais la sévérité de l'AAC n'est pas importante et la présence d'hémorragies n'est pas observée²⁰⁸.

Les modèles animaux APP présentant des modifications de l'expression des isoformes d'apolipoprotéine E (ApoE) sont également très utilisés. Pour rappel, cette protéine est, entre autres, impliquée dans la clairance du peptide. Les modèles de souris étudiant le rôle d'ApoE dans la MA/AAC incluent des souris knock-out (KO) du gène *APOE*, des souris surexprimant l'ApoE et des souris exprimant des allèles humains spécifiques d'ApoE et des combinaisons de ces modèles avec les lignées de souris APP. Par exemple, les souris PDAPP et Tg2576 croisées à des souris KO ApoE (Tableau 1), présentent une redistribution des dépôts A β et notamment une réduction de l'AAC et des hémorragies^{209,210}.

Certains modèles peuvent présenter entre autres plus de deux transgènes, comme les souris 3xTg. Ces souris expriment trois transgènes permettant l'expression de trois protéines mutées : l'APP (mutation suédoise), MAPT (P301L, mutation du gène codant la protéine Tau, responsable des tauopathies) et PSEN1 (M146V). L'expression des transgènes est limitée à l'hippocampe et au cortex cérébral. Les dépôts de peptides A β sont progressifs et peuvent être présents dans les régions intracellulaires dès trois ou quatre mois ; alors que les plaques extracellulaires apparaissent quant à elle à six mois dans le cortex frontal. Des enchevêtrements neurofibrillaires de protéine tau hyperphosphorylée sont également détectables entre 12 et 15 mois^{211,212}.

Il convient de noter que l'ensemble de ces modèles présentent certaines limites. En effet, dans les modèles de souris transgéniques, la surexpression de l'APP (couplée ou non à d'autres mutations) entraîne donc la surproduction de peptide A β ; or les divers fragments d'APP sont de fait également d'avantage produits. La distinction entre les effets du peptide A β et les effets des autres fragments produits peut donc être difficile à analyser. D'autre part, ces souris présentent une cinétique d'apparition de plaques se rapprochant plus des pathologies amyloïdes héréditaires que sporadiques. Bien que les APP mutants soient surexprimés dans le cerveau grâce à leur promoteur principalement neuronal, chez l'Homme, les peptides A β sont également présents en dehors du système nerveux central, notamment dans le système vasculaire. Comme on l'a vu plus haut, plusieurs tissus dans la périphérie expriment les isoformes d'APP et expriment des niveaux importants de peptides A β . Ceux-ci pourraient ainsi influencer la physiopathologie amyloïde dans le système cérébro-vasculaire et du système nerveux central. Enfin, l'APP surexprimée est une protéine humaine et peut donc interagir de manière non physiologique avec les protéines murines²¹³.

Lignée transgénique	APP Dutch	APP23	Tg2576	PDAPP	APP/PS1	Tg2576 Apoε-/-	3xTg
Mutations	E693Q (Hollandais)	K670N/M671L (suédois)	K670N/M671L (suédois)	V717F (Indiana)	APP K670N/M671L (suédois), PSEN1 M146L	K670N/M671L (suédois)	APP K670N/M671L (Suédois), MAPT P301L, PSEN1 M146V
Isoformes	771	751	695	770	695	695	695
Promoteur	Thy1 de souris	Thy1 de souris	PrP de Hamster	PDGF-β	PrP de Hamster, PDGF-β	PrP de Hamster	PrP de Hamster
Niveau d'expression du transgène	5	7	5	10	5	5	5
Espèce Aβ	Mutant	Wild type	Wild type	Wild type	Wild type	Wild type	Wild type
Forme prédominante d'Aβ	Aβ1-40	Aβ1-40	Aβ1-40	Aβ1-42	Aβ1-42	Aβ1-40	Aβ1-42
Sévérité de l'AAC	+++	+++	++	+	+	+	++
Age d'apparition de l'AAC	22-25 mois	8 mois	9 mois	21-25 mois	6 mois	> 18 mois	N.D.
Perte des CML	+	+	+	+	N.D.	N.D.	N.D.
Hémorragies	+	+	+	+	-	-	+
Sévérité de la MA	-	+++	++	++	+++	++	+++
Age d'apparition de la MA	-	6 mois	9-12 mois	6-9 mois	4 mois	7-10 mois	3-4 mois
Perte synaptique	N.D.	+	+	+	N.D.	-	-
Age du début des altérations cognitives et tests utilisés	N.D.	3 mois (MWM)	6-9 mois (MWM)	4 mois (MWM)	3 mois (RAM)	12 mois (MWM)	6 mois (BM)

Tableau 1. Principaux modèles d'AAC/MA utilisés avec l'apparition et les conséquences des dépôts amyloïdes parenchymateux (MA) et vasculaires (AAC), ainsi que les déficits cognitifs.

Abréviations : la piscine de Morris [MWM], le labyrinthe radial [RAM], le labyrinthe de Barnes [BM]. D'après la revue de Lee et al. (2014) et la revue de Wisniewski et Sigurdsson (2010).

PARTIE D. Le rôle de l'inflammation dans la MA et dans l'AAC

Le rôle de l'inflammation dans le vieillissement et dans la MA et l'AAC a émergé et a été nettement étudié durant les vingt dernières années ; il est devenu de plus en plus évident que les processus inflammatoires jouent un rôle fondamentaux dans leur pathogenèse ²¹⁴. En effet, des études récentes indiquent que l'inflammation n'est pas seulement un spectateur dans la dégénérescence des cellules neuronales et vasculaires, mais un puissant acteur physiopathologique dans le processus des deux pathologies ; et serait même la cause de la dégénérescence des cellules. En outre, de nombreuses données *in vivo* suggèrent que les altérations dans la production de médiateurs inflammatoires sont des caractéristiques précoces qui précèdent les dépôts de peptide A β ²¹⁵. De nombreux acteurs cellulaires et moléculaires participant à une inflammation excessive et nocive ont été découverts au niveau du parenchyme cérébral, mais aussi au niveau vasculaire et périphérique ²¹⁶. La réaction inflammatoire observée est conduite par les cellules immunitaires résidentes du système nerveux central, à savoir les microglies et les cellules myéloïdes périvasculaires mais également directement par les cellules du tissu vasculaire et neuronal ²¹⁷. La participation de l'inflammation dans la pathogenèse amyloïde n'est pas seulement soutenue par la génération de niveaux élevés de médiateurs inflammatoires, mais aussi par l'identification de plusieurs facteurs de risque génétique pour la MA impliqués dans les réponses immunitaires, comme CR1, CD33, MS4A, et TREM2 ^{214,218}.

Dans ce chapitre nous nous concentrerons sur les principaux acteurs cellulaires de l'inflammation, que ce soit au niveau vasculaire, neuronal ou périphérique.

1. Mécanismes neuro-inflammatoires

A la suite d'un stimulus nocif, la réponse inflammatoire dans le système nerveux central est causée par l'activation immédiate des cellules gliales. Les cellules gliales (provenant du grec *glaios*, signifiant « gluant ») sont les cellules qui assurent le maintien de l'homéostasie du tissu neuronal et jouent un rôle de soutien et de protection. Dans le tissu cérébral, la neuro-inflammation détruit les cellules affectées et répare la matrice extracellulaire affectée par l'agent toxique. Une réaction inflammatoire chronique provoque des dégâts cellulaires et tissulaires qui s'accumulent en raison d'une dégénérescence neuronale, générant un cercle vicieux entre les cellules gliales et neuronales, entraînant le développement d'une pathologie neurodégénérative ^{214,219}. Ainsi, la neuro-inflammation a des résultats bénéfiques ou délétères dans le cerveau principalement en fonction de la durée de la réponse inflammatoire. Les cellules gliales comprennent notamment les microglies, population de cellules gliales constituée de macrophages résidents formant ainsi la principale

défense immunitaire active du système nerveux central, et les astrocytes, assurant entre autres un support et une protection des neurones, et participant au maintien de la BHE. Dans le tissu cérébral, ces deux types de cellules sont les principaux acteurs de la neuro-inflammation.

a. Les microglies, principaux acteurs de la neuro-inflammation dans la MA.

Les microglies qui représentent environ entre 10 et 15% des cellules du système nerveux²²⁰ sont les premières cellules à défendre le tissu neuronal atteint. Lorsque des lésions surviennent dans le système nerveux central, ces cellules deviennent activées, et comme les macrophages périphériques, entourent les cellules endommagées et apoptotiques et éliminent les débris cellulaires^{221,222}. Les microglies activées subissent des changements morphologiques spectaculaires : de cellules ramifiées au repos, elles deviennent des microglies amiboïde mobile activées (c'est à dire ressemblant à une amibe en mouvement ou en changement de forme)²²³. Une fois stimulées, ces cellules libèrent de nombreux médiateurs pro-inflammatoires tels que des cytokines, comme l'IL-1 β , l'IL-6, l'IL-8, et le TNF- α , des espèces réactives d'oxygène, les facteurs du complément, des produits de sécrétion neurotoxiques, les espèces de radicaux libres et l'oxyde nitrique (NO) qui peuvent tous contribuer à la fois au dysfonctionnement neuronal et la mort cellulaire^{224,225}.

i. Altération de la fonction de phagocytose des microglies

Parmi toutes les cellules non neuronales du système nerveux central, les microglies sont les plus intimement associées aux changements tissulaires observés dans la MA : dans les tissus cérébraux post-mortem chez des personnes atteintes de la MA, les microglies (et éventuellement les macrophages dérivés des monocytes infiltrés, dont le mécanisme sera décrit ultérieurement) entourent les plaques amyloïdes^{226,227}. Or, les cellules microgliales participent à l'élimination du peptide A β soluble et insoluble, puisqu'elles présentent la capacité de lier le peptide à travers plusieurs récepteurs pour le phagocyter et produire des protéases le dégradant, comme la NEP, l'IDE et les MMP^{6,228,229}. La prolifération et l'activation microgliale autour des plaques pourrait donc servir de défense pour éliminer le peptide A β . Néanmoins, les microglies entourant les dépôts de peptides A β deviennent incapables d'éliminer celui-ci. Plusieurs facteurs tendent à expliquer ce phénomène. Nous avons vu plus haut que les enzymes dégradant le peptide A β étaient diminuées chez les patients Alzheimer. En outre, la bécline 1, protéine impliquée dans la phagocytose, est également réduite dans les microglies de ces patients²³⁰. Il a été également démontré *in vivo* que les récepteurs Scavenger pouvant lier le peptide A β sont diminués dans les microglies de souris APP^{231,232}. En outre,

les microglies sont capables de phagocyter uniquement les formes monomères du peptide A β et donc incapables d'éliminer les formes agrégées du peptide A β . Cette diminution des capacités des microglies dans l'élimination du peptide impacte donc, du moins en partie, la clairance dérégulée de celui-ci, initie son accumulation et la formation de formes oligomère toxique du peptide, induisant *in fine* à un échec de son élimination par les microglies ²³³.

ii. Altération de l'implication des microglies dans la BHE

En tant que constituants principaux de l'unité neurovasculaire, les microglies, outre leur fonction de dégradation, sont activement impliquées dans le maintien de l'homéostasie de la BHE et permettent normalement le transport du peptide A β soluble jusqu'à la BHE pour qu'il soit éliminé ^{234,227}. Les microglies activées associées à la BHE, augmentent les niveaux protéiques de C3b, composant central de la cascade du complément, qui forme alors un complexe avec le peptide A β soluble ; cela permet aux microglies de présenter le complexe A β /C3b via leur récepteur CD11b aux cellules endothéliales cérébrales, permettant d'améliorer l'élimination du peptide A β à travers la BHE ²³⁵. Mais comme mentionné précédemment, les anomalies et les altérations de la BHE ont été rapportées aux premiers stades du développement de la MA et de l'AAC, altérant la clairance du peptide A β dans le cerveau ²³⁶. Ces altérations, induisant une plus grande perméabilité de la BHE et une entrée de protéines plasmatiques dans le cerveau, contribuent à une activation des microglies ¹¹⁸. De plus, chez les patients MA, il a été trouvé que les niveaux protéiques de C3b et l'interaction entre C3b et CD11b avec A β sont augmentés dans les cellules microgliales activées ²³⁵. En théorie, ces caractéristiques pourraient être un mécanisme bénéfique permettant une plus grande élimination du peptide via la BHE. Les composants du complément sont impliqués dans la régulation des réactions inflammatoires, et induisent l'augmentation de la perméabilité vasculaire, l'extravasation des leucocytes et la chimiotaxie des cellules immunitaires périphériques. Ainsi des niveaux abondants des acteurs du complément peuvent nuire à l'intégrité neuronale et vasculaire, activant d'autant plus les cellules inflammatoires comme les macrophages, les neutrophiles et les microglies elles-mêmes ^{237,238} et induisant des dommages sur le système cérébro-vasculaire. En effet, le complément C3b est un facteur important dans les troubles vasculaires aggravant les lésions cérébrales induite par des hémorragies ²³⁹. Les interactions entre les microglies et la BHE, dans le cas de pathologies amyloïdes peuvent donc d'une part participer aux complications importantes dans la clairance du peptide et induire l'accumulation de peptide, et d'autre part aggraver les conséquences néfastes du peptide A β en participant à la réponse inflammatoire et en augmentant la perméabilité de la BHE.

iii. Activation irréversible des microglies

En plus d'une altération de leur capacité de clairance du peptide, il est également possible que les microglies soient activées de manière irréversible par certaines formes de peptide A β , notamment les formes oligomériques et protofibrillaires, déclenchant une réponse inflammatoire toxique pour le tissu cérébral ^{240,226}. Plusieurs médiateurs inflammatoires sont retrouvés augmentés dans le cerveau et le LCR des patients atteints de la MA, comme par exemple le TNF, l'IL1 et l'IL6 ²¹⁷. Ces médiateurs seraient en partie produits par les microglies activées par le peptide A β notamment via sa liaison à des récepteurs de surface cellulaire. En effet, les formes les plus toxiques du peptide A β , les oligomères et les fibrilles, peuvent activer de nombreux récepteurs exprimés par les microglies, comme CD14, CD36, CD47, l'intégrine $\alpha 6\beta 1$, le récepteur scavenger de classe A, RAGE et les TLR ^{217,241}. Le récepteur RAGE, retrouvé augmenté chez les patients Alzheimer, renforce la réponse inflammatoire des microglies en liant le peptide ²⁴². De plus, la liaison du peptide A β à CD36 permet l'activation du TLR4 entraînant la production de cytokines inflammatoires et de chimiokines ²⁴², comme le TNF.

Les monomères de peptide A β peuvent aussi se lier aux récepteurs des microglies, mais cette liaison n'altère pas la fonction de ces cellules, en dehors de l'induction d'un état « amorcé » de celles-ci ²¹⁷. Le dysfonctionnement microglial est donc dû uniquement aux formes oligomériques de peptide A β , et dans un deuxième temps aux formes proto-fibrillaires. Il a en fait été démontré qu'une fois phagocytées, les espèces toxiques de peptide A β peuvent induire l'activation de voies inflammatoires, comme l'inflammasome NLRP3 et la production de médiateurs inflammatoires par les microglies ²⁴³, induisant un changement morphologique et phénotypique irréversible des microglies appelé phénotype dystrophique ²¹⁷. Ce phénotype enclenche alors la réponse inflammatoire excessive des microglies altérant le tissu environnant.

b. Actions neuro-inflammatoires des astrocytes dans la MA.

Les Astrocytes représentent 20 à 40% de toutes les cellules gliales ce qui en fait les cellules les plus abondantes du système nerveux central. Elles jouent un rôle prépondérant dans la protection des cellules neuronales ²¹⁶, en apportant notamment un soutien dans la transmission du signal, la formation synaptique et la plasticité neuronale ²⁴⁴. Cependant elles peuvent participer comme les microglies à la réponse inflammatoire chronique dans la MA et ainsi favoriser la dégénérescence des cellules adjacentes. Les astrocytes peuvent se retrouver soit dans le parenchyme à proximité des plaques séniles, soit associées aux vaisseaux constituant l'unité cérébro-vasculaire ²¹⁶. Selon leur localisation, les astrocytes présentent une morphologie différente dans un contexte amyloïde : les

astrocytes périvasculaires subissent une atrophie alors que les astrocytes entourant les plaques parenchymateuses présentent une hypertrophie ²⁴⁵.

Cette différence de morphologie affecte leur réponse et leur efficacité à éliminer le peptide A β . En effet, il apparaît que l'activation des astrocytes (c'est à dire leur transformation en astrocytes hypertrophiques) soit importante, si ce n'est indispensable, pour l'élimination du peptide, la limitation de la croissance des plaques et la diminution de la dystrophie des neurones liés à la plaque. Les astrocytes hypertrophiques localisées près des plaques ont la capacité, comme les microglies, d'internaliser et d'éliminer le peptide A β par la production des enzymes dégradant celui-ci ²⁴⁶. L'absorption du peptide A β par les astrocytes dépend de sa forme ; les formes solubles étant préférentiellement internalisées par rapport aux formes fibrillaires. Cependant, lorsqu'elles sont internalisées, les formes oligomériques du peptide A β subissent un changement de structure résultant en la formation de protofibrilles annulaires, impliquées dans la perméabilisation de la membrane par la formation des pores. Cette forme particulière de peptide induit alors des altérations astrocytaires, augmentant la vulnérabilité des neurones adjacents à la toxicité du peptide et enfin contribuant éventuellement à la déficience cognitive ^{217,247}. Il a notamment été montré *in vitro* que le peptide A β 1-42 oligomérique induisait l'expression de COX-2 et la synthèse de PGE2 dans les astrocytes, phénomène toxique pour les neurones ²⁴⁸.

Malgré cette altération, l'activation des astrocytes reste primordiale pour ralentir la formation de plaque amyloïde. En effet, chez les souris APP déficientes en protéines requises pour l'activation des astrocytes, la morphologie hypertrophique des astrocytes est considérablement diminuée et ces cellules n'entourent plus les plaques amyloïdes adjacentes, résultant en des plaques plus grandes et une augmentation des mécanismes physiopathologiques qui en découlent. Ses délétions de gènes augmentent également la densité microgliale, reflétant potentiellement une prolifération accrue de microglies et augmentant les processus microgliales délétères ²⁴⁹.

Les astrocytes atrophiques, présents dans les unités neurovasculaires, présentent une diminution de la GFAP (Glial fibrillary acidic protein), filament intermédiaire caractéristique de ces cellules et nécessaire pour leur activation hypertrophique ²⁵⁰ ; et peut être ainsi pathologique, entraînant une réduction de la dégradation du peptide ²¹⁷. Ils présentent également une réduction de leur soutien aux cellules adjacentes favorisant l'altération de l'activité synaptique ²⁵¹.

Par conséquent, la pathogenèse amyloïde peut impliquer une fonction astrocytaire altérée, qui peut être considérée comme une partie intégrante de la réponse neuro-inflammatoire.

c. Actions inflammatoires des neurones.

Souvent observés comme participants secondaires dans le processus inflammatoire du cerveau, les neurones sont également capables d'exprimer des molécules importantes qui modulent la réponse inflammatoire dans la MA. En outre, les neurones peuvent diminuer le phénotype pro-inflammatoire des microglies : en effet, les récepteurs des microglies reconnaissent et lient CD22 et CD200, molécules anti-inflammatoires, exprimés par les neurones^{252,253}. Les faibles niveaux de ces molécules anti-inflammatoires dans les régions cérébrales affectées par le peptide A β sont associés à la mise en place d'une inflammation chronique^{217,252}. Ainsi, les neurones peuvent contribuer à l'aspect neuro-inflammatoire de la MA en réduisant l'expression des inhibiteurs de l'inflammation.

Les neurones expriment également les récepteurs RAGE, permettant de médier l'influx du peptide A β vers les cellules neuronales et favorisant l'activation de voies inflammatoires et l'augmentation de la production et de la sécrétion de médiateurs pro-inflammatoires. Le peptide A β induit effectivement la production neuronale de médiateurs pro-inflammatoires, comme l'IL-6, le TNF, CXCL1, CCL2, CCL5, CX3CL1 et des ligands du récepteur TREM2²¹⁶.

2. L'inflammation vasculaire

Au niveau vasculaire, la réponse inflammatoire est médiée par les leucocytes circulants et résidents et les cellules avec lesquelles ils interagissent, c'est-à-dire les cellules endothéliales et les CMLV. Cette inflammation est notamment caractérisée par l'expression de molécules d'adhésion sur les leucocytes et les cellules endothéliales et la libération de cytokines, de chimiokines et de métalloprotéases et d'espèces réactives à l'oxygène²⁵⁴.

Chez les patients atteints de MA/AAC, il existe une forte augmentation de médiateurs inflammatoires dans la microcirculation cérébrale. Ces médiateurs comprenant la thrombine, le TNF α , le TGF- β , l'IL-1 β , l'IL-6, l'IL-8 et les MMP, peuvent être libérés directement par les vaisseaux cérébraux²¹⁵. La vascularisation cérébrale participe à un cercle vicieux toxique dans lequel l'inflammation favorise l'apparition de dépôts de peptide A β qui à son tour favorise la libération de médiateurs inflammatoires. Le processus inflammatoire chronique, créé par les dépôts de peptide A β dans la paroi vasculaire, participe alors à la perte de l'intégrité de la paroi vasculaire et à la formation d'hémorragies.

a. Les monocytes/macrophages

Au cours de la réponse inflammatoire aigue ou chronique, les phagocytes mononucléaires sont attirés par la circulation périphérique par des signaux chimiotactiques (principalement MCP1) sécrété par l'endothélium affecté et du tissu atteint, leur permettant de migrer à travers la paroi du vaisseau. Dans le tissu, ces monocytes sont influencés par des stimuli locaux de cytokines et se différencient en macrophages, M1 ou M2, avec des propriétés fonctionnelles distinctes ²⁵⁵.

Le SNC possède un riche complément de cellules myéloïdes non microgliales, comme les macrophages périvasculaires qui semblent avoir un rôle particulièrement important dans l'élimination physiologique du peptide A β et la protection contre l'AAC et la MA ²⁵⁶. Les macrophages périvasculaires sont, à la différence des microglies, remplacés en continu par le pool circulatoire de monocytes pendant l'âge adulte ²⁵⁷. Toutes les cellules myéloïdes du système nerveux central peuvent favoriser la clairance du peptide A β et donc limiter les dépôts amyloïdes vasculaires ²¹⁷.

i. Sous-ensembles des monocytes et des macrophages

Au moins trois sous-groupes de monocytes présentant des caractéristiques phénotypiques et fonctionnelles distinctes existent dans le sang périphérique.

Les sous-groupes de monocytes sont différenciés sur la base de l'expression du récepteur du LPS, le CD14, et du récepteur III du Fc γ , le CD16 ; et sont classés comme monocytes classiques, CD14⁺⁺CD16⁻, intermédiaires CD14⁺⁺CD16⁺, ou alternatifs CD14⁺CD16⁺⁺ ²⁵⁸. Les monocytes classiques représentent environ 85 à 90% de tous les monocytes sanguins tandis que les monocytes non classiques, exprimant CD16, constituent environ 10 à 15%. Les monocytes classiques sont fortement phagocytaires, migrent activement vers les gradients MCP1/CCR2 vers des tissus inflammés, et produisent des niveaux élevés de cytokines. Les monocytes intermédiaires présentent des niveaux élevés de CD14 et modérés de CD16, ont une forte expression de marqueurs angiogéniques, comme l'endogline, le VEGFR-2 (vascular endothelial growth factor receptor 2) et le récepteur d'angiopoïétine TIE2 et sont de faibles producteurs de cytokines ^{255,259}. Les monocytes alternatifs ont de faibles niveaux de CD14 et une forte expression de CD16 et migrent d'une manière indépendante de MCP1 et produisent des niveaux élevés de cytokines ^{255,258}.

Les macrophages dérivés de monocytes peuvent être influencés par des médiateurs pour devenir des macrophages M1 ou M2 ²⁶⁰. Les macrophages M1 stimulent l'inflammation, en produisant du NO, des ROS et des cytokines inflammatoires comme le TNF α , l'IL1 β et l'IL6 ²⁵⁵ ; alors que les macrophages M2 participent à l'angiogenèse, au remodelage tissulaire et à la résolution de l'inflammation en phagocytant les débris cellulaires et les cellules apoptotiques ²⁶⁰.

ii. Les monocytes classiques

MCP-1 (CCL2), qui est produite par des cellules microgliales activées par le peptide A β , déclenche la mobilisation de monocytes classiques dans le cerveau par l'intermédiaire du récepteur à MCP-1, CCR2, exprimé à la surface des monocytes ²⁶¹. Cet axe MCP-1/CCR2 semble être crucial pour le recrutement et l'infiltration de monocytes, car l'inactivation de CCR2 dans les souris Tg2576 réduit l'infiltration de ces cellules dans le parenchyme cérébral et la présence de macrophages au voisinage des plaques amyloïdes, réduisant ainsi la clairance du peptide, augmentant les dépôts A β cérébraux et accélérant le décès des animaux ²⁵⁶. Chez les patients atteints de la MA, ces monocytes circulants présentent une faible différenciation en macrophage, altérant leur capacité phagocytaire et résultant en une réduction de l'internalisation du peptide A β par ces cellules ²⁶².

iii. Interactions des monocytes alternatifs avec la BHE

Les monocytes alternatifs CD14+CD16++ semblent être situés majoritairement au niveau des capillaires présentant une forte charge amyloïde ²⁶³. En adhérant au système vasculaire, ce sous-ensemble de monocytes élimine efficacement les agrégats de peptide A β en les internalisant et en les transportant du système vasculaire cérébral à la circulation sanguine ²⁶³. Or ces monocytes sont réduits chez les patients atteints de la MA ²⁶⁴, pouvant ainsi contribuer à l'augmentation des dépôts amyloïdes dans le système vasculaire cérébral et ainsi aggraver les conséquences de l'AAC ²⁶³.

iv. Les macrophages M1 et M2

Les macrophages provenant essentiellement de monocytes classiques infiltrés, se sont révélés très efficaces pour la clairance des dépôts A β cérébraux *in vivo* chez la souris ²⁶⁵. L'élimination du peptide A β par phagocytose résulterait principalement de l'activité des macrophages M2 et non des macrophages M1, qui seraient eux délétères dans le cas de pathologies amyloïdes. En effet, il a été démontré *in vivo* que l'activation pro-inflammatoire des macrophages M1 ou la diminution des M2 contribue fortement à l'accumulation de peptide A β dans le système vasculaire cérébral et le parenchyme et au déclin cognitif ^{266,267}. Lorsque les macrophages passent d'un phénotype pro-inflammatoire (M1) à un phénotype anti-inflammatoire (M2), une meilleure clairance des dépôts amyloïdes est alors observée ²⁶⁶. La stimulation du renouvellement des macrophages périvasculaires M2 favorise également la clairance du peptide A β vasculaire ²⁶⁷.

Les macrophages M2 pourraient donc participer à la clairance du peptide dans la MA/AAC. Cependant, comme expliqué précédemment, les macrophages adoptent leurs différents états d'activation en réponse à divers stimuli. En effet, lorsqu'ils sont exposés à l'interféron (IFN) γ , les cellules adoptent un phénotype M1, alors qu'elles adoptent un phénotype M2 lorsqu'elles sont exposées à des cytokines anti-inflammatoires telles que l'IL-4 ou l'IL-13²⁶⁸. La présence d'une inflammation au niveau cérébral ou vasculaire pourrait ainsi induire la polarisation des macrophages vers un phénotype inflammatoire M1 plutôt qu'anti-inflammatoire M2, et ainsi empêcher la clairance du peptide A β . De plus, une récente étude a démontré que les cellules macrophagiques de souris APP/PS1, répondent plus profondément à l'IFN γ , puisqu'elles présentent une plus grosse augmentation de l'expression des marqueurs M1 (TNF, iNOS, IL1 β) que celles de souris sauvages²⁶⁸. Cette propension à répondre aux stimuli polarisants M1, ainsi que l'inflammation déjà existante dans le cerveau des patients atteints de MA/AAC, peut ainsi contribuer au développement d'une inflammation chronique.

b. Effet des dépôts sur les cellules endothéliales

Outre le fait d'être un élément clé pour le transport de peptide A β , les cellules endothéliales sont également décrites pour influencer l'inflammation dans la MA et l'AAC pouvant ainsi contribuer à l'altération vasculaire²¹⁷.

Dans le cerveau de patients atteints de la MA et dans les études *in vitro* et *in vivo*, les cellules endothéliales, en présence du peptide A β , produisent des médiateurs inflammatoires tels que l'IL-6, l'IL-1 β et MCP1, et expriment à leur surface le récepteur de l'interféron- γ ainsi que CD40 et CCR5^{217,269,270,271,272}. CXCL5 a également été démontré *in vitro* pour être augmenté par les cellules endothéliales traitées au peptide A β 1-40²⁷². Le CD40 des cellules endothéliales peut notamment ainsi lier son ligand CD40L situé sur les lymphocytes T CD4+ leur permettant entre autres d'être activés et de migrer à travers la BHE pour arriver jusqu'au système nerveux central. L'expression de CCR5 dans les cellules endothéliales du cerveau est également impliquée dans la migration trans-endothéliale des lymphocytes T.

Les facteurs libérés par les cellules endothéliales présentent une certaine toxicité pour les cellules adjacentes comme les neurones²⁷³; comme cela a été démontré par des études utilisant des co-cultures de micro-vaisseaux provenant de patients Alzheimer avec des neurones, ou des cultures de neurones en milieu conditionné provenant de micro-vaisseaux de patients²⁷⁴.

c. Effets des dépôts sur les Cellules Musculaires Lisses Vasculaires

Bien que l'exposition des CML au peptide A β 1-40 ne favorise pas directement une réponse inflammatoire, il conduit à une pré-activation de certaines voies (impliquant par exemple, la PI3K et éventuellement le NF κ B) permettant une réponse inflammatoire amplifiée des CML aux cytokines, et induisant leur dédifférenciation, d'un phénotype contractile à un phénotype sécrétoire pro-inflammatoire²⁷². Ainsi, il est possible d'envisager que les cellules endothéliales et les CML, activées par le peptide A β , agissent de concert pour initier et amplifier la réponse inflammatoire et induire des altérations vasculaires profondes responsables des conséquences hémorragiques dans l'AAC, puisqu'il a été démontré que le milieu conditionné des cellules endothéliales exposées au peptide A β sur les CML potentialisait la réponse inflammatoire de ces dernières dans un contexte amyloïde²⁷².

En outre, les activateurs de plasmine (uPA et tPA) sont induits par les peptides A β 1-40 et 1-42 dans les CMLV^{275,272}; dans le même temps, l'expression de l'inhibiteur de tPA et uPA, PAI-1 diminue²⁷², pouvant induire l'augmentation de plasmine, protéine permettant entre autres (i) la chimiotaxie des monocytes et des cellules dendritiques, (ii) la stimulation de la production de cytokines et des ROS, contribuant ainsi à l'inflammation²⁷⁶, et (iii) le détachement des cellules²⁷⁵ résultant en une mort cellulaire par anoïkose, forme spécifique d'apoptose, due à un défaut d'interaction entre la cellule et la matrice extracellulaire²⁷⁷. Enfin, l'exposition des CMLV au peptide A β 1-40 et à une faible dose d'IL-1 β se traduit en une diminution renforcée de marqueurs contractiles de ces cellules²⁷².

Ces données renforcent l'hypothèse selon laquelle les hémorragies consécutives à une dégénérescence des vaisseaux résulteraient, au moins partiellement, de l'inflammation du système vasculaire.

Il est clair que l'effet synergique des dépôts amyloïdes, l'activation gliale et macrophagique, et la nature pro-inflammatoire des cellules endothéliales et des CMLV se combinent pour créer un cercle vicieux complexe capable de perturber les parois vasculaires, d'augmenter la rupture de celles-ci et de réduire la contractilité des vaisseaux, contribuant au processus amyloïdogénique et conduisant à un dysfonctionnement supplémentaire du système vasculaire.

3. L'impact du système immunitaire adaptatif et des thérapies anti-A β

Après les données montrant un rôle des cellules immunitaires innées et des cellules neuronales et vasculaires sur la pathogenèse amyloïde, de nombreuses études menées au cours de la dernière décennie ont mis l'accent sur la contribution des médiateurs du système immunitaire adaptatif aux altérations des fonctions cérébrales observées dans la MA/AAC.

i. Le rôle des lymphocytes T dans les pathologies amyloïdes

De nombreuses données indiquent que les lymphocytes, les principaux acteurs de la réponse immunitaire adaptative, recrutés du sang périphérique et amenés jusqu'au système nerveux central, jouent un rôle dans le développement de l'inflammation dans la MA/AAC. Le rôle spécial des lymphocytes T dans la pathologie a été révélé dans le cerveau post-mortem de patients atteints de la MA, où des niveaux élevés de ces cellules ont été observés ²⁷⁸. L'infiltration périvasculaire de lymphocytes est également observée autour des vaisseaux atteints d'AAC ²⁷⁹. Il a ensuite été démontré que le système immunitaire adaptatif était altéré avec l'âge chez les patients atteints de la MA ²⁸⁰. Comme on l'a vu précédemment, le peptide A β stimule l'expression des molécules d'adhésion et de chimiokines dans les cellules endothéliales cérébrales permettant ainsi la transmigration des cellules immunitaires, dont les lymphocytes T ^{281,282}.

Les lymphocytes T semblent être importants dans la protection contre les conséquences néfastes du peptide A β : une diminution de la liaison entre les lymphocytes T et les cellules endothéliales conduit à une diminution de l'activation des lymphocytes T et à l'inhibition de la phagocytose du peptide A β au niveau de la BHE ²⁸³. En outre, les lymphocytes T sont capables de cibler efficacement les plaques amyloïdes et d'améliorer l'activité phagocytaire des microglies ²⁸⁴. Cependant, les lymphocytes T dans les pathologies amyloïdes peuvent provoquer des effets bénéfiques ou néfastes. En effet, plusieurs types de lymphocytes, jouant des rôles distincts, se font face : les Th1, les Th2, les Th17 et les Treg. Les lymphocytes Th1 et Th17 anti-A β sembleraient induire la production de cytokines pro-inflammatoires par des cellules microgliales, alors que les cellules Treg inhiberaient la production de cytokines par les microglies et favoriseraient la clairance du peptide A β par ces cellules ^{285,286}.

Dans le sang des patients atteints de MA, il a été observé des changements dans la répartition des différents types de lymphocytes ²⁸⁷ et une diminution générale des taux et de l'activité proliférative des lymphocytes T ^{288,289}. Les altérations des rôles régulateurs des cellules T dans le cas de pathologies amyloïdes peuvent ainsi conduire à des niveaux accrus de cytokines pro-inflammatoires contribuant à l'inflammation chronique caractéristique de la MA et de l'AAC.

ii. Les thérapies anti-A β

Des études ont suggéré que l'induction d'une réponse immunitaire adaptative spécifique du peptide A β pourrait être la réponse pour une clairance efficace de ces peptides toxiques hors du cerveau. Des études ont alors montré que la vaccination de souris transgéniques APP avec des anticorps anti-A β

améliorait les niveaux périphériques de médiateurs anti-inflammatoires comme l'IL-4 et l'IL-10, caractéristique d'une réponse des lymphocytes Th2 et réduisait les niveaux d'IFN- γ , caractéristique d'une réponse des lymphocytes Th1, ce changement étant responsable d'une nette diminution des dépôts de peptide A β cérébral ^{290,291}. Cependant, malgré la réduction des plaques amyloïdes parenchymateuses et l'amélioration des déficits cognitifs des souris APP dans les études *in vivo*, la plupart des essais cliniques de vaccination menés par des anticorps anti-A β sur les patients atteints de MA ont entraîné des améliorations modérées ou nulles et, pire encore, l'aggravation des déficits cognitifs et des cas de méningo-encéphalite entraînant de graves hémorragies ^{292,293}.

Il a alors été suggéré que ces complications soient liées au développement de l'AAC. Les patients vaccinés avec des anticorps anti-A β montrent en effet une apparition plus fréquente d'AAC, d'altérations vasculaires et d'hémorragies ²⁹⁴. Ces résultats suggèrent que l'immunisation contre le peptide A β entraîne la solubilisation du peptide, diminuant la formation de plaque moins toxique et favorisant les formes oligomères solubles toxiques migrant alors vers le système cérébro-vasculaire pour être éliminé et entraînant une augmentation de l'AAC et des hémorragies. L'immunothérapie A β entraîne également des changements dans la perméabilité des vaisseaux atteints par l'AAC ¹²⁶. Au final, aucune approche de vaccination n'a produit de résultats positifs sur la mémoire des patients ²⁹⁵.

Dans l'ensemble, ces résultats confirment fortement la pertinence des cellules immunitaires périphériques multiples et leur fonction dans la surveillance et la réparation tissulaire. Les cellules immunitaires peuvent contribuer à la pathogenèse amyloïde : elles induisent un contexte inflammatoire et échouent dans la clairance du peptide A β en maintenant ainsi des niveaux élevés de peptide A β , engendrant un cercle physiopathologique vicieux. En outre, étant donné que les cellules gliales résidentes ont une capacité limitée pour la phagocytose du peptide A β , en particulier lors de la formation d'espèces oligomères toxiques induisant un phénotype dystrophique inflammatoire, et qu'il existe une dérégulation des monocytes périphériques et des lymphocytes T, et une réponse inflammatoire des cellules neuronales et vasculaires, il est important de proposer des stratégies pour réduire l'inflammation, composante majeure dans la pathogenèse de l'AAC et de la MA.

4. L'utilisation controversée des anti-inflammatoires usuels pour traiter les pathologies amyloïdes

L'implication de l'inflammation dans les troubles neurologiques a suscité un intérêt considérable pour les médicaments anti-inflammatoires usuels. Les AINS sont peut-être les composés les plus

étudiés dans la MA. Plusieurs études épidémiologiques dans les années 1980 et 1990 ont rapporté une diminution du risque de la MA chez les patients prenant des anti-inflammatoires, en particulier les anti-inflammatoires non stéroïdiens (ou AINS) ²⁹⁶. Ces patients étaient souvent traités pour des pathologies inflammatoires chroniques, telles que l'arthrose et la polyarthrite rhumatoïde.

Les AINS, qui sont utilisés pour diminuer l'inflammation, agissent en inhibant notamment certaines voies pro-inflammatoires, comme la voie des cyclooxygénases (COX), et/ou en induisant des voies anti-inflammatoires comme la voie du récepteur PPAR- γ (peroxisome proliferator-activated receptor-gamma). L'inhibition de la COX, entraîne une diminution des taux de médiateurs lipidiques pro-inflammatoires comme la prostaglandine. Les AINS traditionnels, comme l'aspirine, inhibent la COX-1 et ont une inhibition variable de la COX-2, alors que la nouvelle génération d'AINS comme le célécoxib et le rofécoxib sont des inhibiteurs sélectifs de COX-2 ²⁹⁷. L'activation du récepteur cytoplasmique PPAR- γ , impliqué dans les processus anti-inflammatoires, est également une cible potentielle des AINS ²⁹⁸.

Les modèles de souris transgéniques APP traitées de manière chronique avec des AINS non sélectifs présentent une réduction des dépôts amyloïdes, de l'inflammation et des déficits comportementaux ²⁹⁶. En outre, les souris transgéniques APP déficientes en COX-1 présentent également des niveaux réduits de l'inflammation et des altérations physiopathologiques ²⁹⁹. L'utilisation d'AINS activateurs de PPAR- γ , tels que l'ibuprofène, l'indométhacine et le naproxène, entraîne en plus une diminution de l'activité du promoteur de BACE1, réduisant ainsi la production de peptide A β ³⁰⁰.

Cependant, les AINS sont aussi responsables de très nombreux effets secondaires indésirables ; comme par exemple, la diminution par l'aspirine de la COX-1 présente au niveau des plaquettes, induit des effets anti-agrégants plaquettaires ³⁰¹. Des altérations digestives peuvent également exister à fortes doses ³⁰².

L'enthousiasme des résultats de l'utilisation d'AINS au niveau des études épidémiologiques et des études *in vivo* a depuis diminué avec les multiples échecs des essais cliniques randomisés dans la prévention et le traitement de la MA. En outre, trois rapports négatifs ne montrant aucun bénéfice des AINS dans la réduction du risque de la MA ont été signalés, impliquant l'étude « Religious Orders Study », la « Adult Changes in Thought » (ACT) et le projet MoVIES ³⁰³⁻³⁰⁵.

Ainsi, malgré les données épidémiologiques, l'utilisation d'AINS comme seule indication pour le traitement ou la prévention de la MA n'est actuellement pas recommandée. En outre, les effets secondaires liés à l'utilisation d'AINS, peuvent être particulièrement problématique chez les personnes âgées soumises à la prise multiple de médicaments augmentant le risque de saignement. Les AINS sont également connus pour diminuer la fonction rénale, en exacerbant la rétention d'eau, l'hyperkaliémie et l'insuffisance cardiaque ³⁰⁵. Par conséquent, comme l'a proposé Farroqui ²¹⁴, il est

nécessaire « *de regarder au-delà des thérapies utilisant des anti-inflammatoires usuels pour traiter les pathologies amyloïdes* ».

PARTIE E. Les Acides Gras Poly Insaturés dans les pathologies amyloïdes et vasculaires

Au cours de ces dernières années, les acides gras polyinsaturé (AGPI) oméga-3 (ω -3), composants majeurs des glycérophospholipides dans les membranes plasmiques, sont devenu d'un intérêt majeur. Le rôle potentiel des ω -3 dans la modulation du risque de déficience cognitive a attiré une attention particulière en raison du fait que de nombreuses études ont signalé une incidence plus faible de la maladie d'Alzheimer et des pathologies cardiovasculaires dans les populations qui consomment une quantité élevée de poisson, très riche en ω -3³⁰⁶⁻³⁰⁸. Les AGPI ω -3 provenant de l'alimentation peuvent être incorporés sous forme de phospholipides dans les membranes. Le type de lipide dans les membranes détermine leurs propriétés, elles présentent notamment une plus grande fluidité lorsqu'elles sont riches en AGPI ω -3³⁰⁹. La source des ω -3 au sein des membranes peut servir de stock pour la cellule afin de les transformer en produits dérivés, qui agissent alors comme médiateurs de signalisation cellulaire, impliqués dans la réduction et la résolution de l'inflammation. Grâce à leur propriétés, les ω -3 contribuent de différentes manières à la protection cardiaque, vasculaire et neuronale³¹⁰⁻³¹².

Une supplémentation alimentaire en AGPI ω -3 modifie en plus profondément le métabolisme cellulaire des ω -6, une autre classe d'AGPI, et la synthèse de leurs dérivés pro-inflammatoires. Le type d'acides gras dans l'alimentation joue donc un rôle très prépondérant dans les processus physiologiques et physiopathologiques de l'organisme, notamment au niveau des mécanismes inflammatoires. Ils sont ainsi particulièrement intéressants dans l'impact qu'ils peuvent avoir dans le développement de la MA et de l'AAC.

Après avoir détaillé les différentes classes d'acides gras et leurs fonctions physiologiques, l'implication des acides gras ω -6 et ω -3 en condition pathologique sera développé dans la partie qui suit.

1. Les acides gras - un aperçu

Les acides gras, acides carboxyliques non ramifiés à chaîne aliphatique, contenant généralement un nombre pair d'atomes de carbone, font partie de la famille des lipides, molécules organiques insolubles. Les acides gras peuvent être classés en acides gras saturés (AGS) et en acides gras

insaturés (AGI) qui contiennent soit une double liaison (acides gras monoinsaturés, AGMI), soit plus d'une double liaison (acides gras polyinsaturés, AGPI) dans la chaîne de l'acide gras ³¹³.

a. Nomenclature

Plusieurs systèmes de nomenclature sont utilisés pour identifier les acides gras. Le nom systématique est défini selon l'International Union of Pure and Applied Chemists (IUPAC) ^{314,315}. Ce système est basé sur le nombre d'atomes de carbone et la position des doubles liaisons, le nom systématique est noté : acide cis/trans-x-(radical du nombre d'atomes de carbone)ène/an-oïque ; x indiquant la position de l'insaturation, « èn » voulant signifier la présence d'une double liaison (alcène) alors que « an » désigne un alcane c'est-à-dire sans double liaison. La terminologie systématique est souvent lourde et, par conséquent, des noms communs sont utilisés. Par exemple, le nom systématique de l'acide α -linoléique est l'acide cis,cis,cis-9,12,15-octadécatriénoïque, présentant 18 atomes de carbones et trois doubles liaisons cis ; la dernière des doubles liaisons étant positionnée sur le 15ème atome de carbone ou sur le 3ème atome de carbone si l'on compte à partir de l'autre extrémité de la chaîne (Figure 17).

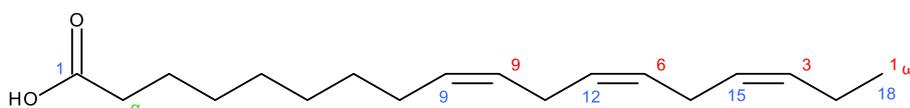


Figure 17. Structure chimique de l'acide α -linoléique montrant différentes conventions de numérotation.

La notation sténographique des acides gras est une autre nomenclature permettant d'indiquer dans un format "C:Dn moins", où C est le nombre d'atomes de carbone, D est le nombre de doubles liaisons et "n moins" désigne la position de la double liaison la plus proche par rapport au groupe méthyle terminal ³¹⁶. Par exemple, l'acide α -linoléique est abrégé 18:3n-3 (Figure 17). Le n est souvent remplacé par ω (oméga) et, par conséquent, les termes ω -3 et ω -6 indiquent que, à partir de l'extrémité méthyle, la double liaison commence respectivement aux troisième et sixième carbones. Les acides gras saturés sont souvent désignés au format C:0, où le zéro reflète l'absence de double liaison. Par exemple, l'acide palmitique est écrit comme 16:0 (16 atomes de carbone, 0 double liaison) et l'acide stéarique s'écrit comme 18 :0 (18 atomes de carbones, 0 double liaison, figure 10). Enfin, le système de classification delta (Δ) est basé sur le nombre d'atomes de carbone entre le carbone dans le groupe carboxyle et la double liaison la plus proche et est donc uniquement utilisé pour la nomenclature des acides gras saturés ; l'orientation des carbones autour de la double liaison (cis/trans) peut être également notée. Par exemple, la notation pour l'acide α -linoléique serait cis-

$\Delta 9$, cis- $\Delta 12$, cis- $\Delta 15$ -18:3. Le tableau 2 énumère des exemples de nomenclature pour les acides gras les plus pertinents.

Nom d'usage		Formule semi-développée	Δ^x	C:D	n-x
Acide caprylique		$\text{CH}_3(-\text{CH}_2)_6-\text{COOH}$		8:0	
Acide caprique		$\text{CH}_3(-\text{CH}_2)_8-\text{COOH}$		10:0	
Acide laurique		$\text{CH}_3(-\text{CH}_2)_{10}-\text{COOH}$		12:0	
Acide myristique		$\text{CH}_3(-\text{CH}_2)_{12}-\text{COOH}$		14:0	
Acide palmitique		$\text{CH}_3(-\text{CH}_2)_{14}-\text{COOH}$		16:0	
Acide stéarique		$\text{CH}_3(-\text{CH}_2)_{16}-\text{COOH}$		18:0	
Acide arachidique		$\text{CH}_3(-\text{CH}_2)_{18}-\text{COOH}$		20:0	
Acide béhénique		$\text{CH}_3(-\text{CH}_2)_{20}-\text{COOH}$		22:0	
Acide lignocérique		$\text{CH}_3(-\text{CH}_2)_{22}-\text{COOH}$		24:0	
Acide cérotique		$\text{CH}_3(-\text{CH}_2)_{24}-\text{COOH}$		26:0	
Acide oléique		$\text{CH}_3(-\text{CH}_2)_7-\text{CH}=\text{CH}(-\text{CH}_2)_7-\text{COOH}$	cis - Δ^9	18:1	n-9
Acide linoléique	LA	$\text{CH}_3(-\text{CH}_2)_3(-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH})_2(-\text{CH}_2)_7-\text{COOH}$	tout-cis - $\Delta^{9,12}$	18:2	n-6
Acide linolélaïdique		$\text{CH}_3(-\text{CH}_2)_3(-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH})_2(-\text{CH}_2)_7-\text{COOH}$	tout-trans - $\Delta^{9,12}$	18:2	n-6
Acide α -linoléinique	ALA	$\text{CH}_3(-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH})_3(-\text{CH}_2)_7-\text{COOH}$	tout-cis - $\Delta^{9,12,15}$	18:3	n-3
Acide γ -linoléinique	GLA	$\text{CH}_3(-\text{CH}_2)_3(-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH})_3(-\text{CH}_2)_4-\text{COOH}$	tout-cis - $\Delta^{6,9,12}$	18:3	n-6
Acide dihomogamma-linolénique	DGLA	$\text{CH}_3(-\text{CH}_2)_3(-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH})_3(-\text{CH}_2)_6-\text{COOH}$	tout-cis - $\Delta^{8,11,14}$	20:3	n-6
Acide arachidonique	AA	$\text{CH}_3(-\text{CH}_2)_3(-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH})_4(-\text{CH}_2)_3-\text{COOH}$	tout-cis - $\Delta^{5,8,11,14}$	20:4	n-6
Acide eicosapentaénoïque	EPA	$\text{CH}_3(-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH})_5(-\text{CH}_2)_3-\text{COOH}$	tout-cis - $\Delta^{5,8,11,14,17}$	20:5	n-3
Acide clupanodonique	DPA	$\text{CH}_3(-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH})_5(-\text{CH}_2)_5-\text{COOH}$	tout-cis - $\Delta^{7,10,13,16,19}$	22:5	n-3
Acide docosahexaénoïque	DHA	$\text{CH}_3(-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH})_6(-\text{CH}_2)_2-\text{COOH}$	tout-cis - $\Delta^{4,7,10,13,16,19}$	22:6	n-3

Tableau 2. Les acides gras prédominants, dans le corps humain et les aliments.

b. Présentation des différents acides gras

i. Les acides gras saturés

Les acides gras saturés sont à chaîne droite de la forme $\text{CH}_3(-\text{CH}_2)_n$ avec une longueur variable de leur chaîne allant de 6 à 30 atomes de carbone ; bien que les acides gras les plus fréquents et les plus importants contiennent entre 12 et 22 atomes de carbone. Ils sont généralement moins fragiles que les acides gras insaturés et sont plus stables à l'oxydation en raison de la saturation de leur chaîne carbonée. Les acides gras saturés sont souvent linéaires (Figure 18), cependant certains acides gras saturés peuvent être ramifiés notamment chez les bactéries. Leur conformation linéaire leur permet, lorsqu'ils sont insérés dans les phospholipides membranaires, d'induire des assemblages compacts rigidifiant la membrane ³¹⁷.

Les acides gras saturés se trouvent surtout dans les graisses d'origine animale excepté celles issues des poissons. On les trouve également dans certaines huiles végétales comme l'huile de palme et

dans les produits alimentaires fabriqués à partir de ces sources de gras comme les pâtisseries, les charcuteries ou les produits laitiers ^{318,319}. Les acides gras saturés les plus consommés sont les acides myristique (14:0), palmitique (16:0) et stéarique (18:0). L'acide myristique est principalement trouvé dans la noix de muscade, l'huile de coco, et le beurre, alors que l'acide palmitique est trouvé dans la viande, l'huile de palme, l'huile de coco, le beurre et les produits laitiers.

ii. Les acides gras insaturés

Les acides gras insaturés sont en général composés de 16 à 22 carbones ; ils se divisent en deux groupes, les monoinsaturés et les polyinsaturés. Ces acides gras sont liquides à température ambiante et, en raison de leurs doubles liaisons, sont particulièrement fragiles à la peroxydation lipidique, c'est-à-dire leur auto-oxydation, à l'air libre, à la lumière ou lors d'une augmentation de la température. La peroxydation est responsable du rancissement des aliments et de dommages tissulaires dus à la formation de radicaux libres lors du processus de peroxydation ³²⁰.

Les acides gras monoinsaturés, sont principalement des ω -9, dérivés de l'acide oléique (OA, 18:1n-9), et sont très présents dans l'huile d'olive. Les acides gras polyinsaturés ω -3 et ω -6 sont dérivés de l'acide α -linoléique (ALA, 18:3n-3), dérivés de l'acide linoléique (LA, 18:2n-6), respectivement. Ces acides gras, ainsi que le dérivé de l'acide linoléique, l'acide arachidonique (AA, 20:4n-6), sont principalement trouvés dans les huiles végétales ; alors que l'acide docosahexaénoïque (DHA, 22:6n-3) et l'acide eicosapentaénoïque (EPA, 20:5n-3), dérivés de l'acide α -linoléique, sont contenus dans les poissons gras ^{321,322}. Le DHA et l'AA représentent respectivement environ 8% et 6% du poids sec du cerveau humain ³²³, le DHA représentant jusqu'à 20% des acides gras totaux. D'autres AGPI tels que les acides α -linoléiques (ALA) et EPA comprennent moins de 1% des acides gras cérébraux totaux ³²⁴.

Les doubles liaisons de ses acides gras peuvent exister en deux configurations : cis ou trans, la configuration cis étant la plus courante. La plupart des acides gras dans la configuration trans ne sont en effet pas présents dans la nature et peuvent être synthétisés par l'homme. Une configuration cis signifie que les deux atomes d'hydrogène adjacents à la double liaison restent sur le même côté de la chaîne permettant ainsi à la chaîne d'effectuer des courbures. Par exemple, l'acide oléique, avec une double liaison, a une légère courbure, tandis que l'acide linoléique, avec deux doubles liaisons, a un virage plus prononcé (Figure 18). L'acide arachidonique, avec quatre doubles liaisons, favorise une forme en crochet (Figure 18). Lorsque les acides gras sont inclus dans les phospholipides au sein des membranes ou dans les triglycérides, les liaisons cis limitent la capacité des acides gras à être étroitement empaquetés, permettant d'induire une certaine fluidité de la membrane. Une configuration trans, en revanche, signifie que les deux atomes d'hydrogène adjacents se situent sur

les côtés opposés de la chaîne. En conséquence, ils ne provoquent pas une courbure de la chaîne, et leur forme est donc similaire aux acides gras saturés linéaires.

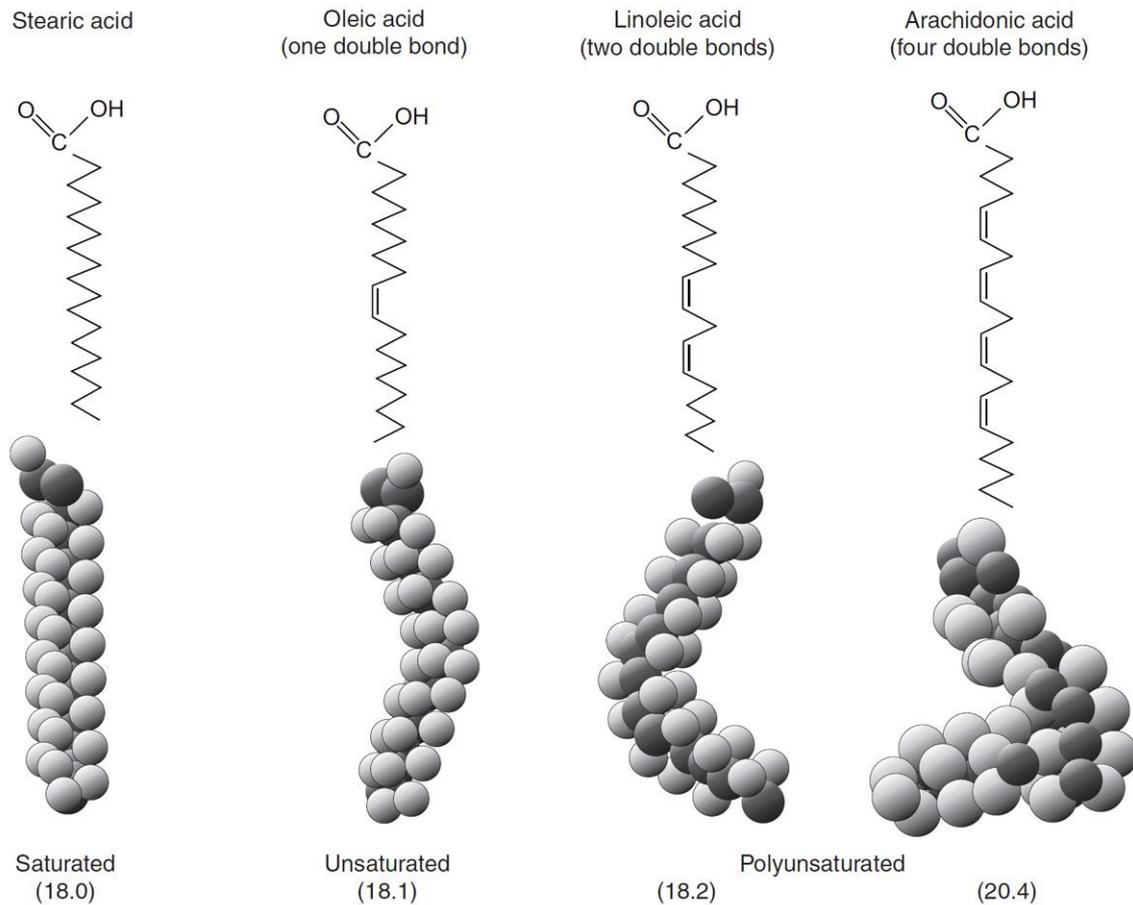


Figure 18. Structures des acides gras saturés, monoinsaturés et polyinsaturés.

En plus de la longueur de la chaîne, les acides gras diffèrent les uns des autres en ce qui concerne le nombre, le type et l'emplacement des doubles liaisons. Les acides gras sans double liaison sont appelés saturés, avec une double liaison monoinsaturé et avec deux ou plusieurs doubles liaisons en polyinsaturés.³¹⁷

c. Voies métaboliques des acides gras

Les acides gras dans les tissus peuvent provenir soit de l'alimentation soit de la voie de biosynthèse, majoritairement effectuée dans le foie. Qu'ils viennent des entérocytes ou des hépatocytes, ils sont transportés jusqu'aux tissus via les lipoprotéines, particules transportant les différentes classes de lipides, comme des chylomicrons dans l'entérocyte, ou des VLDL dans l'hépatocyte.

i. Absorption des acides gras alimentaires

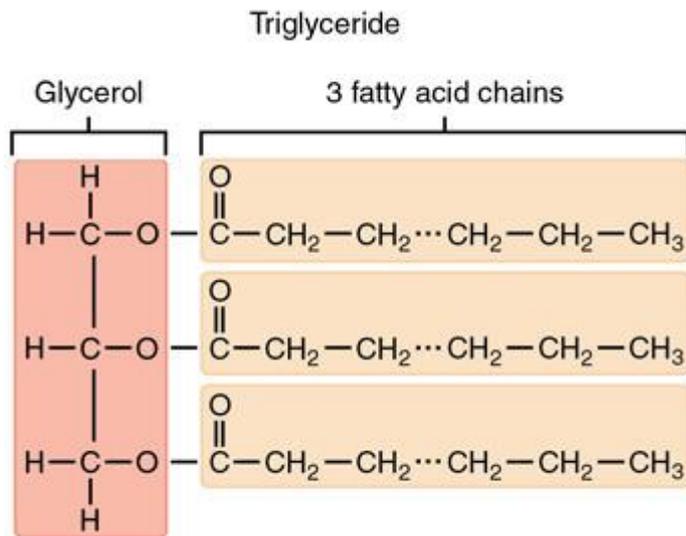


Figure 19. Structure d'un triglycéride.

Un triglycéride se compose d'un squelette de glycérol et de trois chaînes d'acides gras liées à lui.

La majeure partie des acides gras dans l'alimentation humaine se présente sous la forme de triglycérides, complexe de trois acides gras liés au glycérol (Figure 19). Sur les triglycérides, les acides gras peuvent avoir trois positions différentes, sur les trois atomes de carbone du glycérol : sn-1, sn-2 ou sn-3. Afin d'être absorbé par les entérocytes, les triglycérides ont besoins d'être clivés par la lipase pancréatique, ayant une spécificité pour les liaisons sn-1 et sn-3 des triglycérides, pour former des acides gras libres ou du 2-monoacylglycérol (2-MAG), composé d'un acide gras lié au deuxième carbone du glycérol (Figure 20).

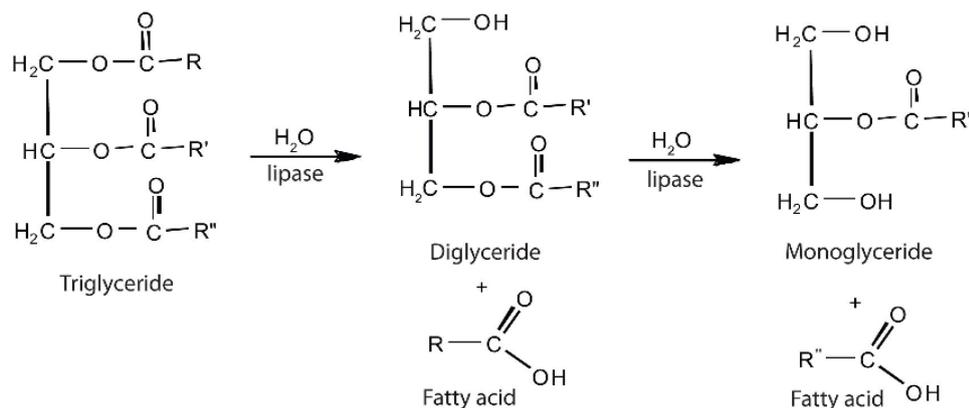


Figure 20. Hydrolyse des triglycérides.

La lipase pancréatique clive les triglycérides pour donner un monoglycéride et deux acides gras.

Une fois produits, les acides gras libres et les MAG peuvent être transportés dans les érythrocytes par voie passive mais également à travers des protéines de liaison spécifiques, comme FAT/CD36

(Fatty acid translocase), la FATP (Fatty acyl CoA synthetases) et la FABPpm (Plasma membrane fatty acid binding protein). Dans l'entérocyte, et généralement dans la lumière du réticulum endoplasmique ³²⁵, les acides gras libres et le MAG peuvent être alors estérifiés² par des Monoacylglycérol Acyl-transférases (MGAT) pour reformer des triglycérides (Figure 21). Ces composés se lient alors à la MTP (*Microsomal Triglyceride Transfer Protein*), qui participe à l'assemblage et à la sécrétion des chylomicrons, afin qu'ils puissent être transportés dans le système lymphatique, puis sanguin, et finalement transportés vers les tissus.

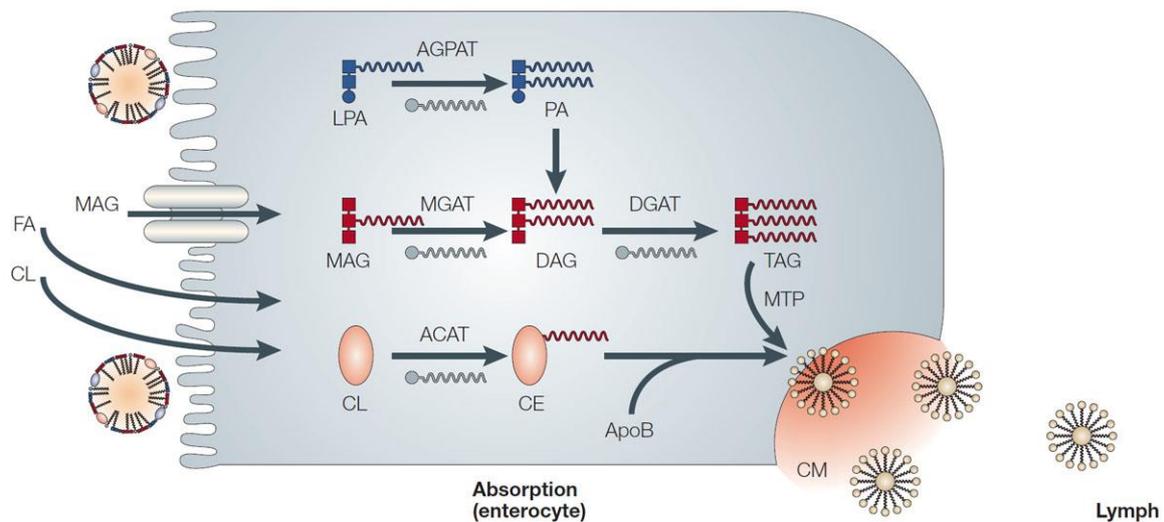


Figure 21. Processus de digestion et d'absorption des lipides alimentaires.

Les acides gras et le MAG entrent dans les entérocytes par diffusion passive et sont facilités par les transporteurs, tels que IFABP, CD36 et FATP4. Ils sont ensuite réestérifiés séquentiellement à l'intérieur du réticulum endoplasmique par la MAG acyltransférase (MGAT) et la diacylglycerol acyltransférase (DGAT) pour former des TAG. Facilité par la protéine microsomique de transfert de triglycérides (MTP), Les TAG rejoignent l'esther de cholestérol (CE) et l'ApoB pour former des chylomicrons (CM) qui pénètrent dans la lymphe.

ii. Synthèse des AGPI

La synthèse des acides gras est issue de la voie de biogenèse des polyacétates. Cette voie de biogenèse permet la formation de nombreux composés naturels à partir d'Acétyl-CoA, la molécule issue de la condensation de l'acide acétique de formule $\text{CH}_3\text{-CO-OH}$ et du coenzyme A. L'Acétyl-CoA est alors carboxylé pour former du Malonyl-coA, composé à trois carbones, étape limitante de la synthèse des acides gras ³²⁷.

² L'estérification est une réaction au cours de laquelle un groupe fonctionnel ester -COOR est obtenu par condensation d'un groupe acide carboxylique -COOH et d'un groupe alcool -OH ³²⁶

La formation des acides gras débute à partir d'une unité d'Acétyl-CoA et d'une unité de MalonylCoA (Figure 22). L'ensemble de la formation d'un acide gras est catalysé par une seule enzyme : la Fatty acid synthase, une multi-enzyme, comportant sept sites catalytiques, afin de catalyser un cycle de 7 étapes permettant d'ajouter 2 carbones à la chaîne d'acide gras en croissance. Le cycle se répète jusqu'à ce que le palmitate (C16:0) soit généralement produit. Le palmitate peut être ainsi allongé pour former d'autres acides gras à longue chaîne ou désaturé pour former des acides gras insaturés

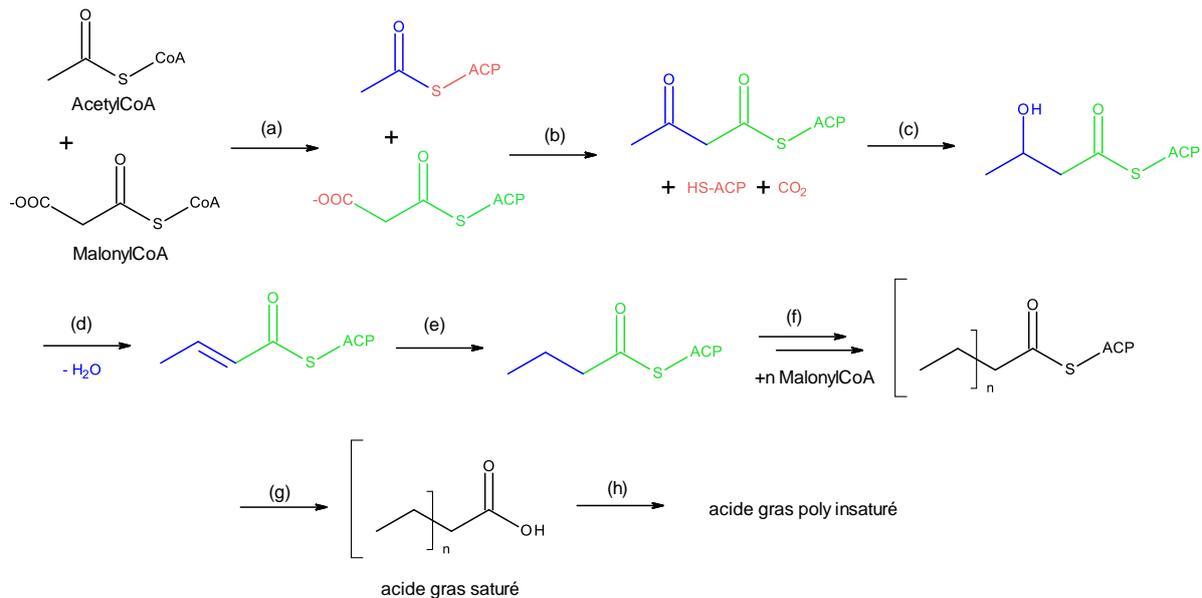


Figure 22. Biosynthèse des acides gras à partir du Malonyl-CoA et de l'Acétyl-CoA.

Les enzymes des étapes (a) à (f) correspondent aux différents sites catalytiques de l'enzyme Fatty acid synthase. Les enzymes Acétyl-trans-acétylase et Malonyl-trans-acétylase activent respectivement l'Acétyl-CoA et le Malonyl-CoA (a), formant du Malonyl-ACP et de l'Acétyl-ACP ; les deux composés sont alors condensés par la β-Ketoacyl-ACP synthase (b). La molécule nouvellement formée peut être réduite via l'action de la β-Ketoacyl-ACP reductase (c) suivie d'une déshydratation par la β-Hydroxyacyl-ACP déshydratase formant une insaturation sur la molécule (d), qui peut être également réduite par l'énoyl-ACP reductase (e). Ces étapes (a) à (e) sont alors répétées n fois (f) avec l'ajout séquentiel de n unités de Malonyl-CoA. L'étape finale de la formation de l'acide gras est l'ajout d'une fonction acide pour former un acide gras saturé (g), qui peut être oxydé pour former un acide gras polyinsaturé (h).

Les acides gras insaturés sont métabolisés à travers une série d'étapes de désaturation et d'élongation. Les désaturases introduisent des doubles liaisons dans la chaîne carbonée des acides gras. Ces enzymes sont principalement désignées par la position delta (Δ) à partir de l'extrémité carboxyle de la chaîne du carbone concerné. Chez l'homme, il existe 3 enzymes désaturases : Δ5, Δ6 et Δ9. Ces enzymes insèrent des doubles liaisons respectivement aux cinquième, sixième et neuvième atomes de carbone au sein des chaînes d'acides gras³²⁸.

L'ensemble des acides gras sont synthétisés dans l'organisme grâce à ses désaturases ; à part les précurseurs des ω-6 et des ω-3, c'est-à-dire l'acide linoléique et l'acide α-linolénique qui doivent être forcément apportés par l'alimentation³²⁹. En effet, la Δ12-désaturase permettant la formation

d'acide linoléique et la $\Delta 15$ -désaturase permettant la formation d'acide linoléique, ne sont en général actives que chez les végétaux et les microorganismes ³²¹. Cependant, grâce à l'action des autres désaturases, des doubles liaisons supplémentaires peuvent être ajoutées vers l'extrémité carboxyle et grâce à l'action des élongases, des carbones supplémentaires sont insérés afin d'allonger la chaîne des acides gras.

L'acide linoléique, possédant deux doubles liaisons et 18 carbones ; il est métabolisé par la $\Delta 6$ -désaturase en acide γ -linoléique (GLA, Figure 23) possédant trois doubles liaisons, il est ensuite allongé de deux carbones par une élongase pour former l'acide dihomo- γ -linoléique (DGLA). Le DGLA est alors converti via l'enzyme $\Delta 5$ -désaturase en acide arachidonique possédant quatre doubles liaisons, la molécule la plus biologiquement pertinente dans la voie des ω -6.

L'acide α -linoléique est métabolisé par les mêmes enzymes pour donner les dérivés suivants : l'acide eicosapentaénoïque (EPA, 20:5n-3) et l'acide docosahexaénoïque (DHA, 22:6n-3, Figure 23). L'acide α -linoléique est converti en EPA via l'action successive de la $\Delta 6$ désaturase, d'une élongase et de la $\Delta 5$ désaturase. L'EPA est par la suite transformé par plusieurs intermédiaires (par allongement, désaturation et β -oxydation) pour former le DHA. Le DHA peut également être reconverti en EPA (Figure 23).

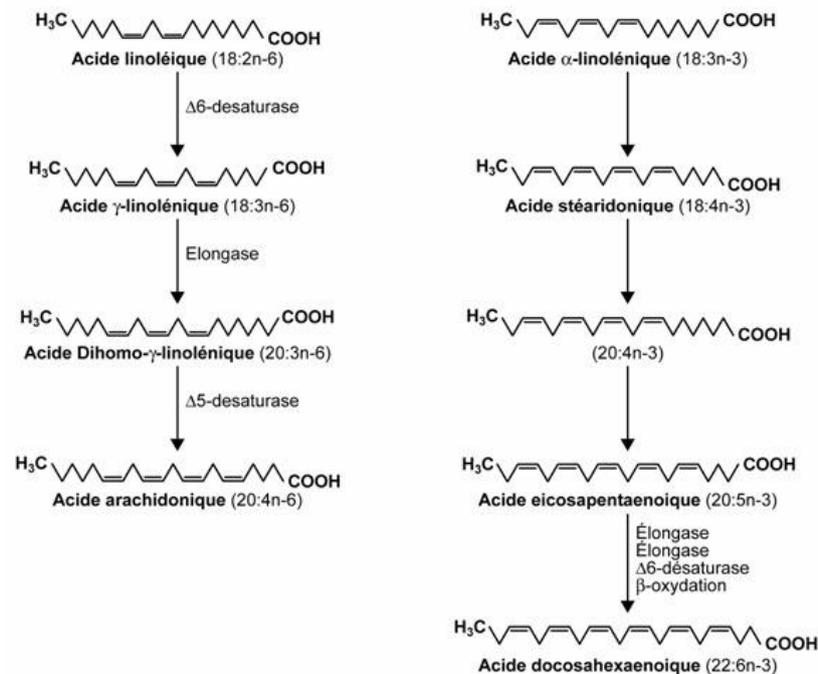


Figure 23. Biosynthèse des acides gras polyinsaturés.

L'acide linoléique et l'acide α -linoléique sont transformés respectivement en acide arachidonique et en acide eicosapentaénoïque (EPA) par l'action successive de la $\Delta 6$ -désaturase, d'une élongase et de la $\Delta 5$ -désaturase. L'EPA est par la suite transformé en acide docosahexaénoïque (DHA) par deux élongases, la $\Delta 6$ -désaturase et une β -oxydation.

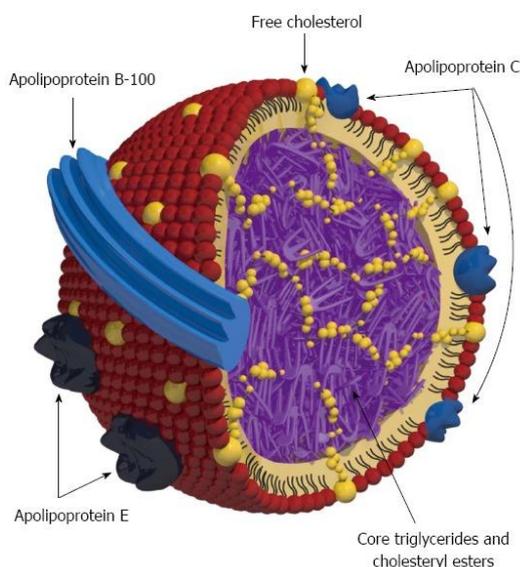
Tous les acides gras en aval peuvent être synthétisés à partir de l'acide linoléique et l'acide α -linoléique. Pour ces raisons, l'acide α -linoléique et l'acide linoléique sont classiquement considérés comme les « acides gras essentiels », alors que l'acide arachidonique, le DHA et l'EPA sont appelés « acides gras conditionnellement essentiels »³³⁰.

Chez l'être humain, la conversion de l'acide α -linoléique en EPA ou en DHA est très inefficace. En effet, les taux globaux de conversion de l'acide α -linoléique en EPA et en DHA sont rapportés respectivement pour être de 0,2% et 0,05 %³³¹. Leur apport alimentaire est donc essentiel pour maintenir le niveau souhaité de ces acides gras dans les phospholipides membranaires.

On notera qu'une augmentation des niveaux membranaires de DHA et d'EPA est associée à une diminution de ceux d'acide arachidonique. En effet, l'acide α -linoléique et l'acide linoléique tous deux substrats des mêmes désaturases et élongases sont en compétition même si ces enzymes présentent une meilleure affinité pour les ω -3 que pour les ω -6 et ω -9. Si l'alimentation est plus riche en acide linoléique cela entraîne le ralentissement de la synthèse des dérivés des ω -3, favorisant celles des ω -6. Ceci a des conséquences importantes pour la signalisation cellulaire, en particulier dans un contexte inflammatoire, comme on le verra plus loin.

iii. Transport des acides gras

Les lipides, dont les acides gras, sont transportés dans le sérum jusqu'aux tissus à travers les apolipoprotéines ; ces complexes lipides-protéines forment ce qu'on appelle les lipoprotéines, assurant le transport des lipides dans tout l'organisme. Les triglycérides, les esters de cholestérol, le cholestérol libre, et les phospholipides sont les principaux composants de ces lipides. La couche



externe d'une lipoprotéine se compose d'une couche hydrophile d'apolipoprotéines, de phospholipides et de cholestérol, alors que le centre d'une lipoprotéine est composé d'esters de cholestérol, de triglycérides, d'acides gras et de vitamines. La structure d'une lipoprotéine (lipoprotéine de très faible densité, VLDL) est illustrée dans la Figure 24³³².

Figure 24. Structure d'une lipoprotéine (lipoprotéines de très faible densité - VLDL).

*Une lipoprotéine est une particule comprenant une seule couche externe de phospholipides amphipathiques recouvrant un noyau central non polaire.*³³²

Les lipoprotéines. Plusieurs lipoprotéines existent qui se différencie selon leurs densités, leurs tailles et leurs poids moléculaire. En fonction de leur densité, elles sont généralement classées en cinq classes, à savoir les chylomicrons, présentant une très faible densité, suivi des VLDL, les lipoprotéines de densité intermédiaire (IDL), les lipoprotéines de faible densité (LDL) et les lipoprotéines de haute densité (HDL). La densité des lipoprotéines augmente proportionnellement à leur rapport des protéines aux lipides : plus le complexe contient de protéines, plus sa densité est importante. En général, à mesure que la densité des lipoprotéines augmente, la taille des particules diminue.

Les apolipoprotéines. Les apolipoprotéines sont des protéines à la surface des lipoprotéines, les aidant à stabiliser leur structure. Les apolipoprotéines comprennent principalement l'Apolipoprotéine A (ApoA), ApoB, ApoC, ApoE et ApoJ ³³³. L'ApoB-100 est une protéine de LDL et VLDL uniquement, tandis que les autres sont dites « échangeables ». Dans le plasma, l'ApoA-I est la principale composante protéique des HDL, alors que l'ApoE est l'apolipoprotéine la plus abondante des lipoprotéines du liquide céphalorachidien, généralement localisée dans les plus grandes particules, les HDL et les LDL. Les ApoA sont présentes sur les petites lipoprotéines, et l'ApoJ est répartie sur toute la gamme des particules. L'ApoC-II est un cofacteur de la lipoprotéine lipase, qui agit sur l'hydrolyse des triglycérides dans le noyau des chylomicrons et des VLDL, tandis que l'ApoC-III inhibe la fonction de cette enzyme ³³⁴.

Les lipoprotéines ne présentent pas les mêmes fonctions selon leur type et leur lieu synthèse ³³⁵. Les chylomicrons sont synthétisés au niveau des entérocytes qui sont transportés dans la circulation lymphatique puis dans la circulation sanguine, alors que les VLDL, sont synthétisées au niveau du foie dans les hépatocytes, puis passent également dans la circulation sanguine. Ces deux lipoprotéines sont amenées au niveau des capillaires des tissus où la lipoprotéine lipase endothéliale digère alors les triglycérides dans les VLDL et les chylomicrons en acides gras et en glycérol. Au cours de la digestion par cette enzyme, les lipoprotéines se transforment en IDL puis en LDL, lipoprotéines riches en cholestérol, qui seront captées par d'autres cellules périphériques. Les LDL ont donc une fonction de transport antérograde de cholestérol, c'est à dire du foie vers les tissus, d'où son nom de « mauvais » cholestérol employé par le grand public. Les différents types d'acide gras jouent des rôles distincts sur les niveaux des LDL et du cholestérol associé. Les AGPI et des AGMI diminuent les concentrations plasmatiques des LDL enrichies en cholestérol et augmentent le nombre de récepteurs hépatiques des LDL et le renouvellement des LDL, alors que les acides gras saturés et les acides gras trans augmentent les niveaux plasmatiques des LDL en augmentant la formation des LDL et en diminuant leur renouvellement ³³⁵.

Les HDL, quant à elles, synthétisées au niveau des hépatocytes, présentent une forme discoïdale. Ces HDL aux formes particulières arrivent au niveau de la membrane cellulaire des cellules périphériques

et captent le cholestérol intracellulaire, devenant des HDL à forme ronde. Les HDL permettent donc de diminuer le taux de cholestérol dans le sang et des tissus, en raison de leur capacité à lier le cholestérol au niveau des artères et des tissus, pour les transporter vers le foie, d'où leur nom de « bon » cholestérol. Il a notamment été démontré que les AGPI augmentaient les niveaux des HDL ^{336,337}.

Les acides gras libérés au niveau des capillaires, par l'hydrolyse des VLDL, sont captés par les tissus où ils peuvent être soit oxydés pour devenir une source d'énergie, soit stockés sous forme de triglycérides ou de phospholipides membranaires.

iv. Transport des acides gras à travers la BHE

La BHE, limitant l'entrée des métabolites dans le cerveau grâce à l'existence de ses jonctions serrées, oblige les acides gras à passer par la voie transcellulaire pour atteindre le cerveau.

Les acides gras passant la BHE peuvent provenir soit de leur incorporation dans les lipoprotéines, soit être rattachés à des lysophospholipides ou être sous forme libre. Les lipoprotéines, principalement des LDL, peuvent se lier à des récepteurs comme le récepteur des LDL (LDLR), induisant leur endocytose (Figure 25). Une fois à l'intérieur des cellules endothéliales, les lipoprotéines peuvent être hydrolysées pour libérer des acides gras, s'associant aux protéines de liaison des acides gras, la FABP cytosolique (intracellular fatty acid binding protein). Les lysophospholipides, quant à eux, contenant des acides gras sont repris par la protéine membranaire MFSD2A (major facilitator superfamily domain-containing protein 2A) pour pouvoir passer dans le cytoplasme des cellules endothéliales.

Les acides gras libres peuvent provenir du plasma, en étant associés à l'albumine (Figure 25) ou provenir des LDL par l'action de la lipoprotéine lipase. Le mécanisme du transport transcellulaire des acides gras libres dans le cerveau à travers la BHE semble controversé.

Certaines études démontrent que les acides gras peuvent se déplacer à travers les membranes par diffusion passive ^{338,339} (Figure 25), caractérisé par un mécanisme de flip-flop réorientant le groupement carboxyle des acides gras vers la face cytosolique. Ce transport peut être plus ou moins rapide en fonction de l'état d'insaturation des acides gras et de la longueur de leur chaîne carbonée. Un autre paramètre important, qui impacte la facilité des acides gras à diffuser à travers la membrane des cellules endothéliales, est leur état d'ionisation. En effet, les acides gras s'insérant dans les membranes effectuent plus facilement ce phénomène de flip flop s'ils sont non ionisés, en raison du caractère apolaire de la membrane ³⁴⁰. Ce modèle de diffusion passive peut néanmoins n'être pas assez rapide pour apporter les acides gras aux cellules en ayant besoin ³⁴¹.

Alternativement à leur diffusion passive, les acides gras peuvent entrer et ressortir des cellules via des transporteurs spécifiques, comme les transporteurs FATP (fatty acid transport protein) et FAT/CD36 (Figure 25) ³⁴².

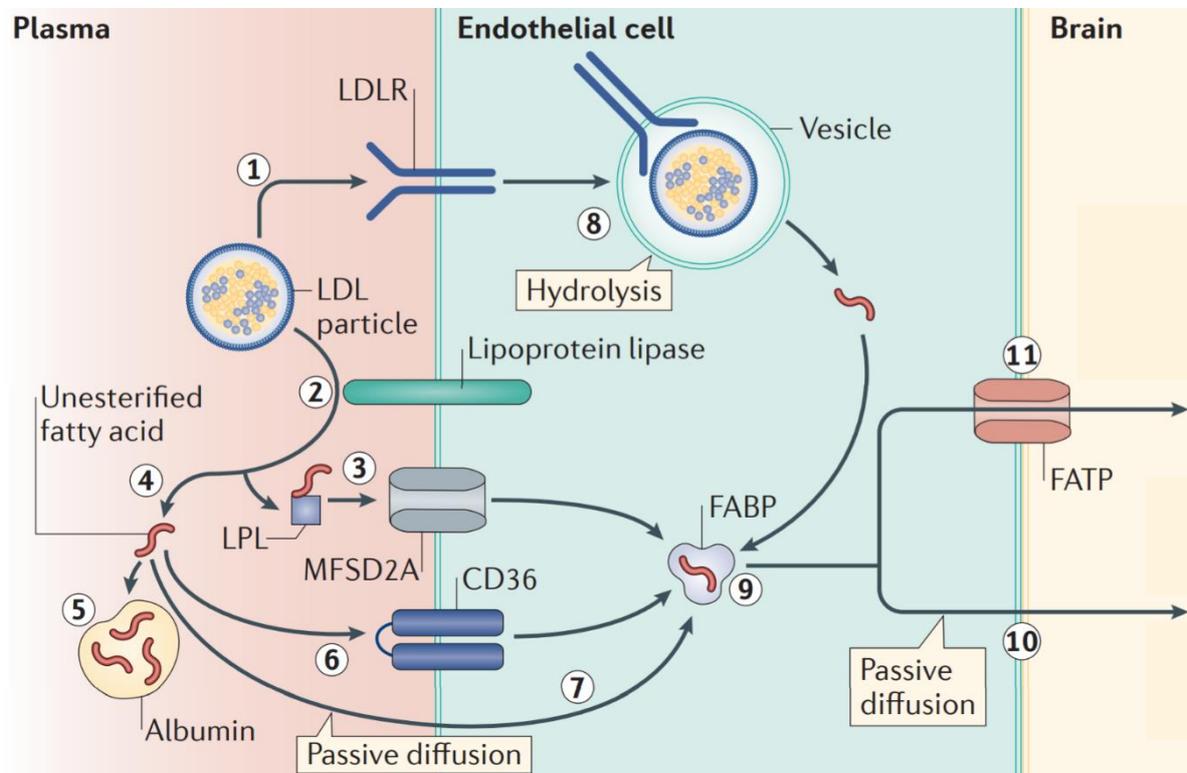


Figure 25. Entrée des acides gras du plasma dans le cerveau.

Les lipoprotéines se lient au récepteur de LDL (LDLR) (1). La lipoprotéine lipase peut interagir avec les lipoprotéines (2) pour produire un LPL transporté par la MFSD2A et des acides gras (4). Les acides gras liés à l'albumine (5), passent via CD36 (6) ou diffusent passivement dans la membrane endothéliale (7). Après hydrolyse des lipoprotéines les acides gras s'associent à FABP (9) et sont ensuite transportés vers le système nerveux, passivement (10) ou par FATP (11). ³⁴²

d. Fonctions physiologiques des Acides Gras

Les acides gras servent 3 fonctions biologiques de base : ils sont (i) sources d'énergie, sous forme d'esters de glycérol appelé triacylglycérols ; (ii) composants des membranes cellulaires, sous forme de phospholipides et de glycolipides ; et (iii) servent de base à la formation de seconds messagers.

i. Les acides gras comme source d'énergie

Les hormones gastro-intestinales (par exemple, l'épinéphrine et le glucagon) signalent la nécessité d'une énergie métabolique et la mobilisation de matières grasses dans les stockages intracellulaires. Pour cela, les acides gras sont liés à une coenzyme A, puis transportés jusqu'à l'intérieur de la

matrice mitochondriale, où ils subissent une β -oxydation. Ce processus permet la dégradation de l'extrémité carboxyle de la chaîne d'acide gras à travers l'élimination de deux carbones, pour former une unité d'Acétyl-Coa. Cette dégradation se produit en 4 étapes : déshydrogénation pour introduire une double liaison (Figure 26 a), hydratation pour introduire une fonction alcool (Figure 26 b), oxydation de l'alcool en cétone (Figure 26 c) et clivage par la coenzyme A (Figure 26 d). L'acétyl-CoA peut alors servir de nouvelle brique élémentaire pour d'autres biosynthèses, ou être intégré dans le cycle de Krebs pour apporter de l'énergie. Pour cela, il est oxydé et formant ainsi de l'eau et du dioxyde de carbone, pour générer de l'énergie, ou de l'ATP ³²⁸.

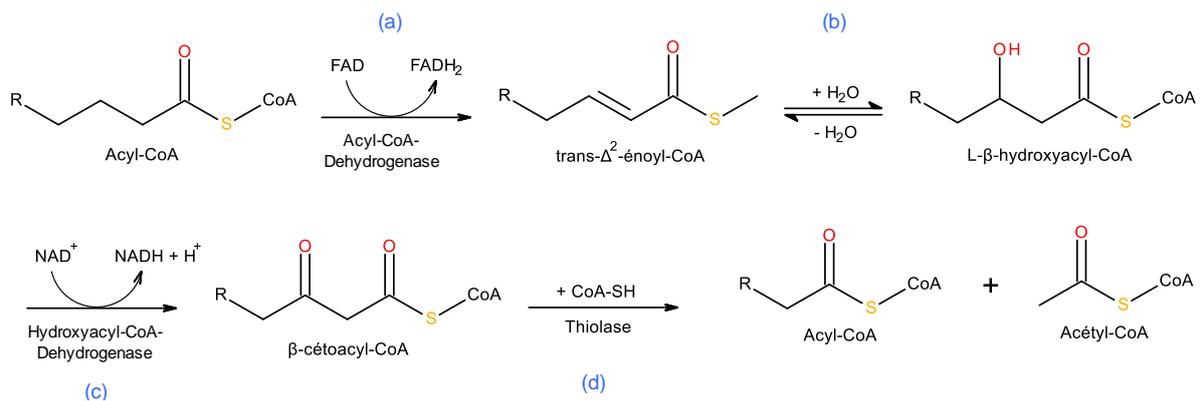


Figure 26. β -oxydation des acides gras.

(a) Déshydrogénation pour introduire une double liaison ; (b) hydratation pour introduire une fonction alcool ; (c) oxydation de l'alcool en cétone ; (d) clivage par la coenzyme A.

ii. Les Acides Gras comme composants des membranes cellulaires

Au-delà de leur rôle énergétique, les AGPI jouent un rôle essentiel en s'incorporant dans les membranes cellulaires sous forme de phospholipides, dans lesquelles leur haut degré d'insaturation influe sur la fluidité membranaire. Après le tissu adipeux, le cerveau a le deuxième niveau le plus élevé de lipides dans le corps, et la plupart de ces lipides sont liés à la membrane ³⁴³. L'acide arachidonique et le DHA, en particulier, sont très présents dans les membranes du cerveau et de la rétine. De grandes quantités de DHA et d'AA sont déposées dans le cerveau lors du développement du système nerveux central et, par conséquent, les carences alimentaires de ces acides gras sont associées à une altération du développement neuronal ³⁴⁴.

Les phospholipides sont abondants dans toutes les membranes biologiques et diffèrent en fonction des différents types cellulaires. Une molécule de phospholipide est construite à partir de quatre composants : les acides gras saturés ou insaturés de différentes longueurs, une plate-forme à laquelle sont attachés les acides gras, un phosphate et un alcool attaché au phosphate (R dans la

Figure 27). Les composants d'acides gras présentent une queue hydrophobe (Figure 27), tandis que le reste de la molécule possède des propriétés hydrophiles formant ainsi la tête située à la surface des membranes plasmiques. La plate-forme sur laquelle les phospholipides sont construits peut être soit du glycérol – comme les triglycérides – et sont alors répertoriés sous le nom de glycérophospholipides (Figure 27), soit une sphingosine - un alcool plus complexe, formant ainsi la classe des sphingolipides.

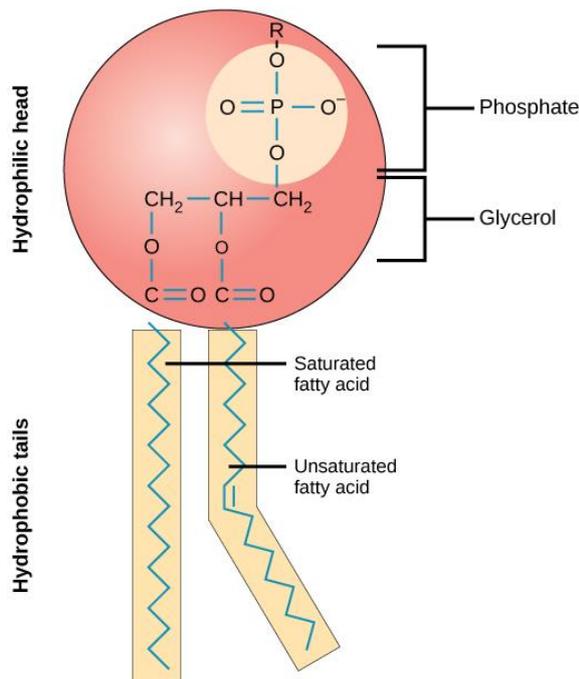


Figure 27. Structure d'un glycérophospholipide.

Un glycéridosphospholipide se compose d'un squelette de glycérol auquel deux chaînes d'acides gras à la position sn-1 et -2 du glycérol et un alcool (R) phosphorylé à la position sn-3 sont attachés. Une double liaison est habituellement présente dans l'acide gras qui est lié à la position sn-2 du glycérol, provoquant une courbure dans la chaîne acide et diminue la densité d'emballage du lipide. D'après Boundless. "Phospholipids." Boundless Biology Boundless.

Le renouvellement des chaînes d'acides gras des phospholipides membranaires s'effectue par (i) la synthèse *de novo* de phospholipides et (ii) le remplacement des chaînes d'acides gras des phospholipides existants (cycle de Lands, Figure 28) ³⁴⁵. Pendant la synthèse *de novo* des phospholipides, qui a lieu dans le réticulum endoplasmique, les acides gras, généralement saturés ou monoinsaturés, sont estérifiés en Acyl-CoA par l'ACS (acyl-CoA synthetase). Via l'action de la GPAT (Glycerol-3-phosphate acyltransferase) et de la LPAAT (lysophosphatidic acid acyltransferase), deux ajouts consécutifs d'acyl-CoA au glycérol-3-phosphate donne alors naissance à de l'acide phosphatidique (PA, formé de deux acides gras et d'un acide phosphorique avec un glycérol), qui pourra être modifié pour former des phospholipides plus complexes et inséré dans les membranes

cellulaires. Ces phospholipides peuvent être transformés en lysophospholipides par la phospholipase A2 (PLA2) à la position sn-2 du glycérol (Figure 28).

Les AGPI libres doivent être également transformés par l'ACS pour produire un acyl-CoA. La LPLAT (Lysophospholipid Acyltransferase) catalyse alors la réacylation des phospholipides avec les acyl-CoA d'AGPI (Figure 28).

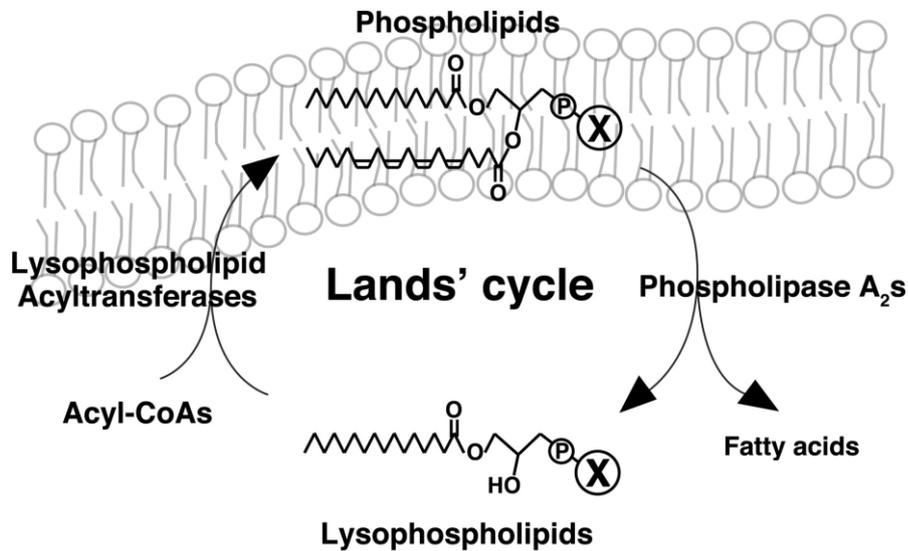


Figure 28. Le métabolisme des phospholipides dans le cycle de Lands.

Les acides gras des phospholipides sont libérés par la phospholipase A2 (PLA2). Les lysophospholipides sont transformés en phospholipides en présence d'acyl-CoA par la LPLAT (Lysophospholipid Acyltransferase). X indique plusieurs groupes polaires des phospholipides ³⁴⁶.

iii. Les Acides Gras et la synthèse de seconds messagers

Les phospholipides membranaires sont un réservoir pour la formation de seconds messagers, métabolites lipidiques bioactifs. Ils ne sont pas seulement impliqués dans la prolifération, la différenciation et l'apoptose des cellules, mais aussi dans la modulation de la réponse inflammatoire. L'étape limitante de production des médiateurs lipidiques est la disponibilité des AGPI ³⁴⁷. Les AGPI libres sont libérés par les phospholipases A2 (PLA2) et agissent comme substrats pour les réactions d'oxygénation par plusieurs enzymes ³⁴⁸.

La libération des acides gras par les phospholipases. Les phospholipases sont une famille d'enzymes qui hydrolysent les phospholipides. Les principales classes de phospholipases, qui incluent les phospholipases A1, A2, C et D, catalysent l'hydrolyse à différentes positions des phospholipides (Figure 29). Bien que ces enzymes catalysent des réactions différentes, elles partagent une grande efficacité catalytique pour les lipides membranaires par rapport aux lipides extérieurs aux membranes. La phospholipase A (PLA) hydrolyse soit l'ester acylique sn-1 (PLA1), soit l'ester acylique

sn-2 (PLA2), libérant un acide gras et un lysophospholipide (Figure 29). Certains membres de la famille PLA1 sont considérés comme ayant des fonctions diverses, comme la digestion des graisses alimentaires, la coagulation sanguine et la régulation de l'activité musculaire. Un groupe d'enzymes appelé phospholipases B (PLB) a été découvert pour hydrolyser les deux chaînes acides sn-1 et sn-2. La phospholipase C (PLC) hydrolyse la liaison glycérophosphate, libérant un diglycérade et un phosphate d'alcool, tandis que la phospholipase D (PLD) clive la liaison phosphodiester pour libérer un acide phosphatidique et un alcool. La multiplicité des isoformes de PLA2 et l'interaction entre les médiateurs lipidiques générés par celles-ci fournissent une diversité de fonctions. La spécificité de diverses isoformes de cette famille d'enzymes est nécessaire pour la régulation de l'activité enzymatique en réponse à une large gamme de signaux extracellulaires ³⁴⁹. Un grand nombre de PLA2 ont été identifiés et ont été classés en cinq groupes : les PLA2 cytosoliques (cPLA2), les sécrétées (sPLA2), les phospholipases A2 indépendantes du calcium (iPLA2), les platelet-activating factor acetylhydrolases (PAF-AH) et les PLA2 lysosomales. Ces enzymes sont regroupées en sous-classes d'enzymes basées sur leur structure, leur fonction et leur activité catalytique. Le groupe VI des iPLA2 est probablement le type le plus abondant de PLA2 dans les cellules ³⁵⁰.

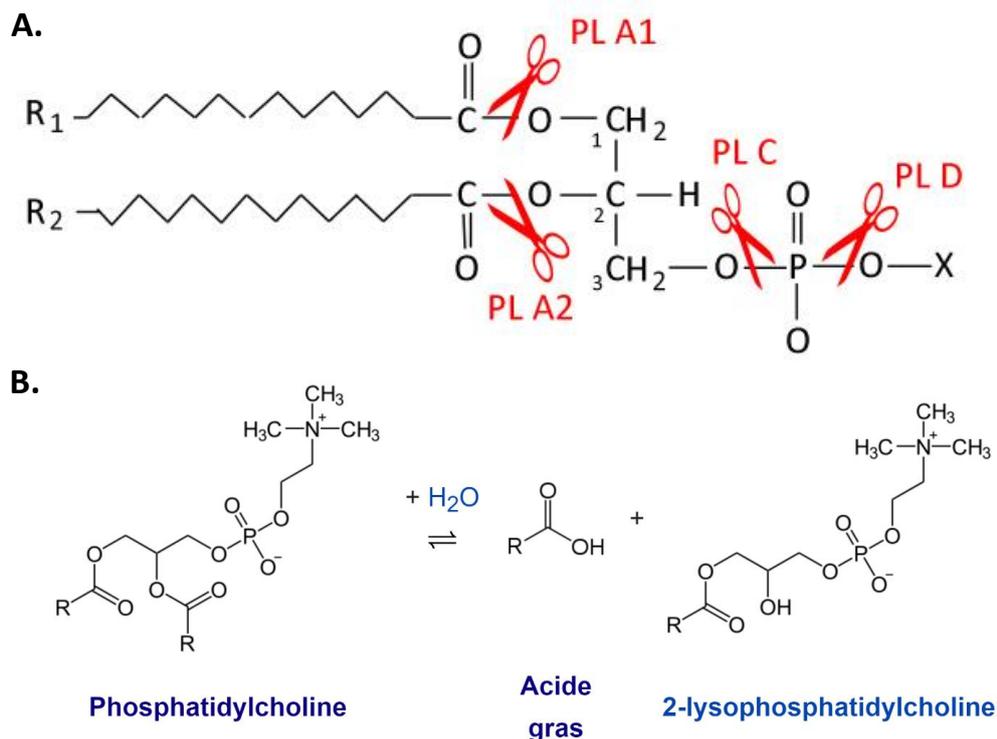


Figure 29. Activités des différentes phospholipases.

A. Zones de clivage des différentes classes de phospholipases : PLA1 : phospholipase A1, PLA2 : phospholipase A2, PLC : phospholipase C, PLD : phospholipase D. **B.** Hydrolyse par la phospholipase A2 (PLA2) d'un phospholipide, la phosphatidylcholine, au niveau de carbone sn-2 du glycérol pour donner un lysophospholipide et un acide gras.

La production d'acides gras libres. Suite à l'action de la cPLA2, de la sPLA2 et de l'iPLA2, les acides gras et les lysophospholipides sont libérés dans le cytoplasme. Les acides gras libres comprennent en grande partie l'acide arachidonique, le principal ω -6, et le DHA, le principal ω -3 ; ils peuvent également comprendre l'acide oléique et d'autres acides gras saturés et insaturés. En fonction du type de phospholipide, les isoformes des PLA2 génèrent principalement soit de l'acide arachidonique ou du DHA. Des études suggèrent que l'acide arachidonique est libéré préférentiellement suite à l'action de la cPLA2 et de la sPLA2, alors que le DHA est libéré par l'hydrolyse de l'iPLA2 ³⁵¹. En effet, la diminution de l'iPLA2 et l'augmentation de la cPLA2 et de la sPLA2 permettent la diminution du DHA et l'augmentation du renouvellement de l'acide arachidonique. Une re-estérification des acides gras libres dans les glycérophospholipides est nécessaire pour la survie des cellules ³⁵², la majorité des acides gras libérés sont donc réintroduits dans les glycérophospholipides ³⁵³. Seules de petites quantités d'acide arachidonique et de DHA restent libres et sont converties en dérivés lipidiques. Une fois encore, les ω -3 et les ω -6 se retrouvent en concurrence pour produire leurs dérivés, en raison des mêmes voies métaboliques utilisées. De nombreux médiateurs lipidiques, comme les prostaglandines, les prostacyclines, les thromboxanes, les résolvines, les protéines, les marésines, les leucotriènes, les lipoxines, entre autres, sont formés, avec une multitude d'effets physiologiques ^{354,355}.

2. Le rôle des acides gras dans l'inflammation

a. Les AGPI comme précurseurs de médiateurs neuro-inflammatoires

En raison de sa prévalence dans les phospholipides des membranes des cellules impliquées dans les processus inflammatoires, l'acide arachidonique est habituellement le principal substrat pour la synthèse d'un large éventail de médiateurs lipidiques. La libération et le métabolisme de l'acide arachidonique se produisent avec la génération dans la matrice nucléaire et le cytoplasme, de composés appelés « eicosanoïdes », acides gras polyinsaturés bioactifs oxygénés et à longue chaîne contenant 18 à 22 carbones ³⁵⁶. Les eicosanoïdes ont des récepteurs membranaires, membres de la famille des récepteurs couplés aux protéines G (GPCR) sur divers types cellulaires dans différents tissus et exercent un contrôle sur un large éventail de fonctions physiologiques. Ils affectent entre autres la prolifération, la différenciation et la migration cellulaire. Les éicosanoïdes proviennent de l'oxydation de l'acide arachidonique par les cyclooxygénases (COX), les lipoxygénases (LOX) et le cytochrome P450.

i. Les prostanoïdes

La cyclooxygénase (COX) qui a deux isoformes, la COX-1 et la COX-2, catalyse la conversion de l'acide arachidonique en dérivés appelés prostanoïdes ; ils comprennent entre autres les prostaglandines, les prostacyclines et les thromboxanes. Les prostanoïdes sont des médiateurs lipidiques agissant de façon autocrine et paracrine, et ayant une action entre autres sur les plaquettes et la paroi des vaisseaux. La COX-1 est constitutivement exprimée dans de nombreux tissus et est responsable d'une production basale de médiateurs prostanoïdes, alors que la COX-2 est une isoforme inducible dont l'expression est stimulée par des agents inflammatoires. Chez les mammifères, deux isoformes : COX1 et COX2 ont été identifiées, chacune codée par un gène ³⁵⁷. Ces enzymes sont toutes deux des protéines membranaires localisées dans le réticulum endoplasmique ou dans les enveloppes périmoléculaires. Elles présentent entre elles une homologie de séquence de 60% ³⁵⁸. Leurs différences résident essentiellement dans le domaine de liaison à la membrane. En général, la COX1 est plus abondante dans le réticulum endoplasmique tandis que la COX2 est localisée de façon prédominante dans les enveloppes périmoléculaires. Cette différence de localisation subcellulaire dépend des types cellulaires et de la durée de l'inflammation ³⁵⁹.

Les COX catalysent deux réactions enzymatiques sur l'acide arachidonique ³⁵⁸ : (i) l'oxygénation de l'acide arachidonique conduisant à la production de prostaglandine G2 (PGG2) ; (ii) la réduction du 15-hydroperoxyde de PGG2 conduisant à la formation de prostaglandine H2 (PGH2) qui est le précurseur des nombreux autres prostanoïdes. La PGH2 est notamment convertie par : (i) l'action de la PGE synthétase en PGE2, qui à son tour est converti en PGF2 ; (ii) l'action de la PGD synthétase en PGD2 ; (iii) l'action de la Prostacyclin synthase en prostacycline (PGI2) ; (iv) et enfin par l'action de la Thromboxane synthase en thromboxanes (TX) A2 et B2 ³⁶⁰.

Il existe au moins dix récepteurs de prostaglandines caractérisés. Les récepteurs se liant à la famille des PGD sont appelés les récepteurs DP, ceux qui se lient aux PGE sont les récepteurs EP, ceux des PGF sont les récepteurs FP, ceux de la prostacycline (PGI2) s'appellent les récepteurs IP, et ceux qui lient les thromboxanes sont les récepteurs TP.

Les prostaglandines, en se liant à leur récepteur, régulent la croissance cellulaire et le tonus musculaire lisse ayant un effet vasodilatateur, ainsi que la sensibilisation à la douleur, la croissance cellulaire et inhibent l'agrégation des plaquettes sanguines ³⁶¹. À l'inverse, les thromboxanes sont des vasoconstricteurs et facilitent l'agrégation plaquettaire.

ii. Les dérivés des lipoxygénases

Les lipoxygénases permettent à partir de l'acide arachidonique la synthèse de médiateurs ayant en général des propriétés inflammatoires pouvant agir de façon autocrine ou paracrine. Elles sont désignées en fonction de leur régio-spécificité lors de l'interaction avec leurs substrats : on distingue la 5-, 8, 12, 15-lipoxygénase (5-LOX, 8-LOX, 12-LOX et 15-LOX) ³⁶²⁻³⁶⁶. Les quatre enzymes distinctes insèrent de l' HO_2 aux carbones 5, 8, 12 ou 15 de l'acide arachidonique. Les produits primaires synthétisés sont les acides hydroperoxyeicosatétraénoïques (HPETE), qui peuvent être encore réduits en formes hydroxy (HETE) ou en leucotriènes (Figure 30) ³⁶²⁻³⁶⁶.

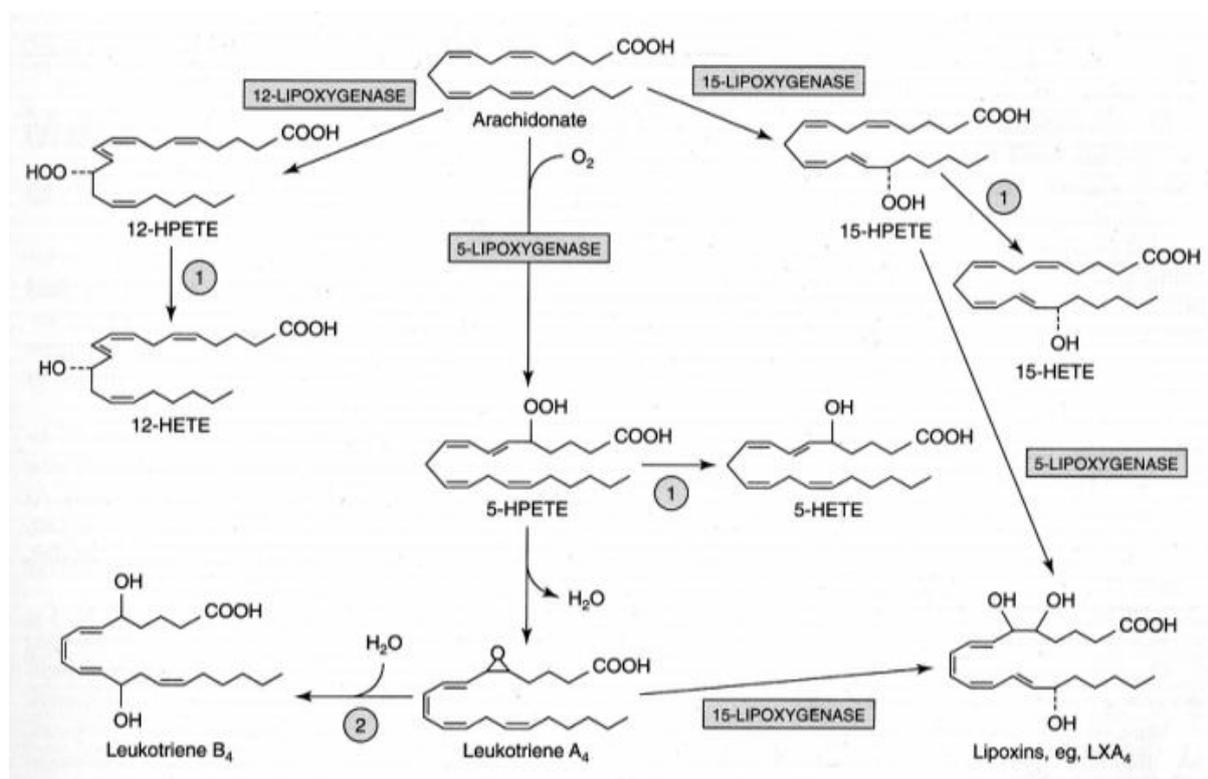


Figure 30. Voie de production des dérivés de l'acide arachidonique par les lipoxygénase.

La 12-, la 15- et 5-lipoxygénase insèrent un résidu hydroperoxyl au carbone 12, 15 et 5 respectivement de l'acide arachidonique pour former les différents acides hydroxyperoxyeicosatétraénoïques (HpETE). Le 5-HpETE peut être transformé par la 5-lipoxygénase insérant un oxygène sur le composé pour former le leucotriène A₄ pour ensuite former le leucotriène B₄, ou être converti par une peroxydase pour former le 5-HETE. Le 12- et le 15-HpETE peuvent être convertis de la même façon en 12- et en 15-HETE respectivement. Le leucotriène A₄ et le 15-HpETE sont alternativement transformés en lipoxine A₄ (LXA₄) par la 15-lipoxygénase et la 5-lipoxygénase respectivement.

La 5-LOX possède deux activités catalytiques distinctes, elle ajoute en premier lieu un résidu hydroperoxyl (c'est-à-dire HO_2) au carbone 5 de l'acide arachidonique résultant en la formation de 5-HpETE (figure 30), suivi par l'insertion d'oxygène au même carbone, permettant la conversion du 5HpETE en divers leucotriènes (LTB₄, LTC₄, LTD₄ et LTE₄). Alternativement, l'activité d'une peroxydase (1 dans la figure 30) sur le 5HpETE permet la formation de l'acide 5(S)-HETE. Les

leucotriènes sont des agents très importants dans la réponse inflammatoire. Par exemple, le LTB4 a un effet chimiotactique sur les neutrophiles. Les leucotriènes induisent également une bronchoconstriction et augmentent la perméabilité vasculaire ³⁶⁷. Il y existe au moins quatre récepteurs des leucotriènes. Deux récepteurs ont été caractérisés qui lient le LTB4, appelés BLT1 et BLT2, et deux récepteurs qui lient les cystéinyl-leucotriènes appelés CysLT1 et CysLT2. Le 5-HETE peut aussi participer à l'inflammation puisqu'il est hautement exprimé principalement dans les cellules de l'immunité innée et celles participant aux réponses allergiques telles que les neutrophiles, les éosinophiles, les lymphocytes B et les monocytes ³⁶⁸.

Trois formes de 12-LOX, ajoutant un résidu hydroperoxyl au carbone 12 et/ou 15 de l'acide arachidonique (Figure 30), ont été identifiées : les types leucocytaires et plaquettaires (toutes deux des 12(S)-LOX) ainsi qu'une forme épidermique (également appelée 12(R)-LOX), avec des différences dans leur localisation tissulaires, de leur spécificité des substrats et de leur homologie séquentielle ^{363,364}. La 12-LOX de type « plaquettaire » convertit l'acide arachidonique en 12-(S)-HETE (Figure 30) alors que la 12-LOX de type « leucocytaire » (également appelée 12/15-LOX) métabolise l'acide arachidonique ou l'acide linoléique en 12(S)-HETE ou en 15(S)-HETE ^{363,364}. La 12-LOX épidermique permet la formation de 12(R)-HETE. La 12/15-lipoxygénase (12/15-LOX) est fortement exprimée dans les éosinophiles et dans l'épithélium des voies respiratoires, et elle a été largement étudiée dans le contexte de l'athérosclérose. Les deux isomères du 12-HETE contribuent notamment aux réponses inflammatoires en permettant entre autres la chimiotaxie des neutrophiles ^{369,370,371} et des monocytes/macrophages, leur liaison aux cellules endothéliales ^{372,373} et l'extravasation des cellules mononucléaires circulantes ^{374,375}. Ils sont également impliqués dans une variété de processus pathologiques comme dans la polyarthrite rhumatoïde et l'athérosclérose. Récemment un récepteur orphelin a été identifié pour interagir avec le 12-HETE, il s'agit du GPR31, liant spécifique le 12(S)-HETE, alors qu'il ne lie pas le 12(R)-HETE.

La 15-lipoxygénase, qui est largement distribuée dans les tissus, ajoute un résidu hydroperoxyl au carbone 15 de l'acide arachidonique formant le 15-HPETE, ensuite réduit par la glutathion peroxydase en 15-HETE (Figure 30) ^{365,366}. Il existe deux isotypes de la 15-LOX, la 15-LOX-1 et la 15-LOX-2 ³⁷⁶. Le substrat préférentiel de la 15-LOX-1 est l'acide linoléique, alors que celui de la 15-LOX-2 est l'acide arachidonique. La 15-LOX-1 métabolise l'acide linoléique en 13-S-HODE, qui diffère de la 15-LOX-2 qui convertit l'acide arachidonique en 15-HETE ³⁷⁶. Le 15-HETE est notamment impliqué dans la réponse inflammatoire, mais est souvent métabolisé rapidement en une large gamme de produits beaucoup plus puissants ^{377,378}.

Une autre enzyme métabolisant l'acide arachidonique a été récemment clonée, il s'agit de la 8-lipoxygénase, convertissant l'acide arachidonique en 8-HpETE, produit pouvant être également

transformé par une peroxydase pour former du 8-HETE. La fonction du 8-HPETE et du 8-HETE reste inconnue.

iii. Les lipoxines, métabolites pro-résolveurs

les LOX peuvent agir sur l'acide arachidonique pour produire des dérivés impliqués dans les processus inflammatoires, mais elles peuvent également agir en série pour fabriquer des produits dihydroxylés ou trihydroxylés qui ont des activités bien différentes des produits qui viennent d'être décrits. Ces produits comprennent notamment les lipoxines (LX), qui sont classées comme des eicosanoïdes non classiques et des médiateurs spécialisés de la résolution (SPM, specialized proresolving lipid mediators). En effet, les lipoxines se forment à la fin de la réponse inflammatoire pour résoudre cette inflammation. La biosynthèse des lipoxines nécessite deux actions enzymatiques distinctes de deux lipoxygénases sur l'acide arachidonique. Ce métabolisme en série peut se produire dans différents types de cellules qui n'expriment qu'une des deux lipoxygénases dans un processus appelé métabolisme transcellulaire.

Trois voies existent pour catalyser ces étapes et pour réaliser la synthèse des lipoxines. La voie « classique » implique une activité 5-LOX dans les leucocytes suivie d'une action de la 15-LOX ou de la 12/15-LOX dans les plaquettes (Figure 30). L'action de la 15-LOX suivie de l'action de la 5-LOX dans les leucocytes est la deuxième voie principale de synthèse de lipoxines. Dans ces deux voies, l'action successive des deux enzymes produit le 5(6)-époxytétraène, ensuite métabolisé en lipoxine A4 (LXA4) ou en lipoxine B4 (LXB4) par une hydrolydase.

En outre, l'action de l'aspirine peut induire une troisième voie de production des lipoxines. En effet, l'aspirine agit comme un agent acétylant où un groupe acétyle est lié par covalence à un résidu de serine dans le site actif des COX, inhibant leur action principale de production des prostanoides³⁷⁹. L'acétylation de COX-2 résultante via son activité peroxydase, aboutit également à la production d'un dérivé hydroxylé de l'acide arachidonique, le 15-(R)-HETE. Ce composé peut être ensuite métabolisé par la 5-LOX en 15-épi-LXA4 ou en 15-épi-LXB4 (également appelé ATL, *aspirin-triggered lipoxins*). Ces épimères des lipoxines sont des médiateurs anti-inflammatoires endogènes locaux agissant sur les neutrophiles et possédant des activités protectrices sur plusieurs tissus cibles^{380,381}.

Les lipoxines sont de puissants eicosanoïdes pro-résolveurs de l'inflammation et contrecarrent les actions des eicosanoïdes pro-inflammatoires (principalement LTB4 mais aussi PGE2 et TXA2). Les lipoxines LXA4 et la 15 épi-LXA4 provoquent leurs effets en se liant également à un GPCR, le récepteur FPR2, exprimé principalement dans les leucocytes phagocytaires, mais également dans les CMLV et les cellules endothéliales. Plusieurs mécanismes ont été démontrés favorisant la résolution de l'inflammation par les lipoxines à travers leurs récepteurs. La LXA4 ou son analogue induit par

l'aspirine la 15-epi-LXA4 inhibent la chimiotaxie des neutrophiles, leur adhésion vasculaire, leur migration trans-endothéliale, la génération de ROS et l'activation de NF-κB ³⁸². D'autre part, elles stimulent aussi la chimiotaxie des monocytes, l'efferocytose et la phagocytose non phlogistique des macrophages, réduisant la libération de cytokines inflammatoires. Dans les cellules endothéliales cérébrales, la lipoxine LXA4 prévient la rupture de la BHE en diminuant l'expression de VCAM1, de l'E-selectine, et de ICAM1 et de cytokines pro-inflammatoires et augmente l'expression de l'IL-10, cytokine anti-inflammatoire ^{383,384}. Dans les macrophages, la lipoxine LXA4 induit la stimulation des inhibiteurs de la MMP2 et réduit la phosphorylation de la sous-unité p65 de NF-κB ^{385,386}.

b. Les SPM, nouveaux acteurs de l'inflammation

i. Principe de la résolution de l'inflammation.

Lorsqu'elle est correctement régulée, la réponse inflammatoire se termine vers sa résolution. L'arrêt des processus inflammatoires n'est pas suffisant pour induire le retour à l'homéostasie du tissu lésé. Cette étape finale de l'inflammation est un processus actif qui, en plus de l'arrêt de l'inflammation, est associé à la régénération et à la restauration du tissu affecté ³⁸⁷. Pour que cela se produise, les débris cellulaires et tissulaires doivent être éliminés par phagocytose. L'activation pro-inflammatoire est remplacée par une réponse phagocytaire non phlogistique (du grec phlogiston : « la terre inflammable ») visant à éliminer les débris moléculaires et cellulaires, notamment via l'inversion du rapport entre les macrophages M1 (pro-inflammatoires) et les M2 (anti-inflammatoires) ³⁸⁸. Le flux des cellules immunitaires, comme les neutrophiles, est alors stoppé, résultant en une réduction du nombre de ces cellules inflammatoires dans le tissu affecté. Ceci s'effectue non seulement par une diminution de la sécrétion des chimiokines, mais aussi par une augmentation de l'induction de l'apoptose des neutrophiles qui seront ensuite soumis à une phagocytose ^{389,390}.

La recherche et la découverte de molécules qui servent de médiation à la résolution de l'inflammation, les SPM, dont font parties les lipoxines comme il l'a été souligné plus haut, ont été découvertes au cours de ces dernières années ³⁹¹. Ces médiateurs pro-résolveurs permettent de diminuer les médiateurs pro-inflammatoires, comme les cytokines pro-inflammatoires, les médiateurs lipidiques pro-inflammatoires et les facteurs de complément, et induisent l'augmentation de cytokines anti-inflammatoires et la stimulation de la phagocytose non phlogistique des débris cellulaires ³⁵⁴. Il existe des études montrant un effet protecteur des SPM sur les cardiomyocytes ³⁹², les CMLV ³⁹³, ainsi que sur d'autres types cellulaires ³⁹⁴. Un effet neuroprotecteur direct des SPM a également été démontré ³⁹⁵.

ii. Les SPM : gouverneurs de la résolution.

Ces SPM, agissant par leur liaison à des GPCR, sont principalement les dérivés des AGPI ω -3, et incluent les résolvines de la série D et E dérivées du DHA et de l'EPA respectivement, et les marésines et les protectines/neuroprotectines dérivées du DHA. Seules les lipoxines sont dérivées de l'acide arachidonique³⁹⁶⁻³⁹⁸ (Figure 31). Le DHA et l'EPA sont métabolisés en médiateurs par les cyclooxygénases et les lipoxygénases, les mêmes enzymes produisant les dérivés de l'acide arachidonique³⁹⁹.

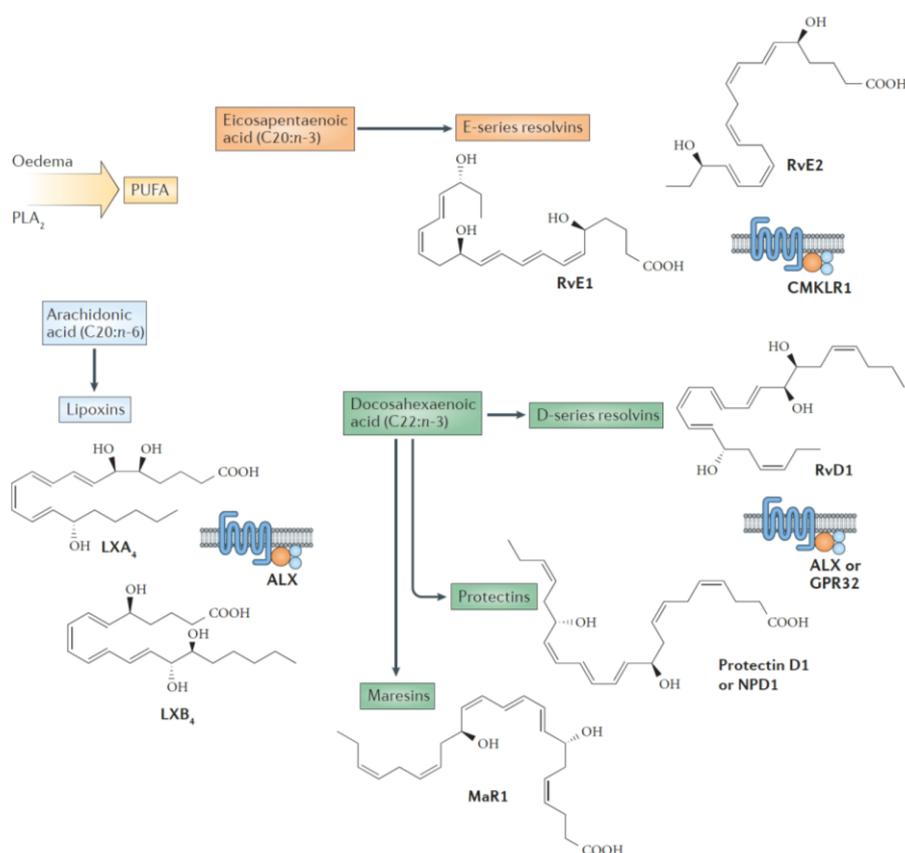


Figure 31. Les acides gras polyinsaturés, substrats pour les SPM.

Des médiateurs stéréosélectifs qui améliorent la défense de l'hôte, résistent à l'inflammation des tissus et stimulent la régénération des tissus. Ces médiateurs spécialisés de pro-résolution (SPM) sont produits de manière spatio-temporellement à partir d'AGPI essentiels qui sont soit libérés enzymatiquement par la PLA₂ à partir de membranes cellulaires soit livrés via le fluide d'un œdème provenant du plasma et allant aux exsudats. Les principales familles de SPM sont les lipoxines provenant de l'acide arachidonique (C20: 4n-6, en bleu clair), ainsi que les résolvines de la série E de l'acide eicosapentaénoïque (C20: 5n-3, en orange) et les résolvines de la série D, les protectines et les maresines à partir de l'acide docosahexaénoïque (C22: 6n-3, en vert). CMKLR1, récepteur 1 de chimiokine ; GPR32, récepteur couplé à la protéine G 32 ; LX, lipoxine ; MaR1, maresine 1 ; NPD1, neuroprotectine D1 ; RvD1, résolvine D1 ; RvE, résolvine E.⁴⁰⁰

Les résolvines sont classées en séries D et E en fonction de leur précurseur, soit le DHA, soit l'EPA, respectivement. Les résolvines E, métabolites di- ou tri-hydroxylés de l'EPA comprennent la RvE1, la RvE2 et la RvE3. Les résolvines E sont produites par l'action séquentielle du cytochrome P450 et de la 5-LOX, de manière transcellulaire, comme la lipoxine, impliquant des cellules endothéliales et des leucocytes. La biosynthèse de résolvines D est initiée par la 15-LOX qui transforme le DHA en 17S-hydroxy-DHA, alors transformé par la 5-LOX en résolvine RvD1, RvD2, RvD3 et RvD4 ⁴⁰¹. Comme on l'a vu, la synthèse de la plupart des SPM se produit par métabolisme transcellulaire. Les cellules endothéliales peuvent ainsi générer et sécréter des intermédiaires, tels que le 18-HEPE, qui peut alors être transformé par les leucocytes exprimant la 5-LOX pour générer des SPM tels que la RvE1 et la RvD1 ⁴⁰². Les résolvines bloquent la capture, le roulement et l'adhérence des neutrophiles sur l'endothélium, et atténuent la production de chimiokines de la part de celles-ci. Elles régulent également la perméabilité des capillaires et la polarisation des macrophages M2 aidant ainsi le remodelage et la réparation des vaisseaux. ^{403,404}.

Le DHA peut également être métabolisé uniquement par l'action de la 15-LOX pour former les protectines PD1 et PDX ⁴⁰¹. Les marésines, nommés marésine 1 (MaR1) et MaR2, proviennent de l'action de la 12-LOX sur le DHA. La MaR1 est principalement produite par les macrophages, d'où la dérivation de son nom provenant de : *macrophage mediator resolving inflammation*. Des études *in vitro* ont montré que la marésine 1 améliore l'absorption du peptide Aβ par les microglies et réduit les marqueurs pro-inflammatoires. Au niveau du système vasculaire, la MaR1 atténue l'adhésion des monocytes et la production de ROS dans les cellules endothéliales et les CMLV, associée à une diminution de l'expression de la molécule d'adhésion E-selectine dans les cellules endothéliales. Elle atténue également la libération de médiateurs pro-inflammatoires par les cellules endothéliales et les CMLV et provoque une atténuation de l'activation de NF-κB dans les deux types de cellules ⁴⁰⁵. La MaR1 provoque également une augmentation de l'AMP cyclique (AMPC) intracellulaire dans les cellules endothéliales et les CMLV.

En présence d'aspirine, comme pour l'acide arachidonique, plusieurs épimères de l'EPA et du DHA sont générés. Dans l'endothélium, la COX-2 acétylée par l'aspirine converti l'EPA en 18R-HEPE (acide 18R-hydroxyeicosapentaénoïque), qui est alors converti par la 5-LOX en AT-RvE1 et AT-RvE2. En présence de DHA, la COX-2 acétylée peut également conduire à la synthèse d'épimères de résolvines D et d'un épimère de PD1 identifié comme l'AT-PD1.

Les médiateurs pro-résolveurs sont capables de lier plusieurs GPCR, de même que leurs récepteurs peuvent lier plusieurs agonistes qui suscitent différents effets. Le RvD1 peut interagir avec

ALX/FRPR2 et GPR32 (Figure 31) ⁴⁰⁶, alors que les RvE1 et RvE2 sont des agonistes de ChemR23. Les cellules endothéliales et les CMLV expriment le ALX/FRPR2 le GPR32 et ChemR23 ; et sont des cibles cellulaires directes des SPM ⁴⁰⁷. Les RvE agissent également comme des agonistes partiels du récepteur du LTB4, le BLT1, inhibant l'activation de l'adénylate cyclase ⁴⁰⁸ et du NF-κB induite par le LTB4 permettant le blocage de l'infiltration des neutrophiles. Les principaux médiateurs de la résolution de l'inflammation, leurs récepteurs, et leur fonction sont décrit dans le tableau 3.

Médiateurs pro-résolveurs	Récepteurs	Fonctions
Résolvines	ALX/FRPR2, GPR32, BLT1, ChemR3	Arret de la migration leucocytaire, promeut l'efferocytose et la clairance bactérienne, limite le recrutement des neutrophiles, prévient la mort cellulaire, induit l'apoptose des neutrophiles et augmente le drainage lymphatique des leucocytes
Protectines	Non connu	Inhibe le recrutement des neutrophiles et régule la production de cytokines et de chemokines. Augmente la neuroprotection
Lipoxines	ALX/FRPR2, AhR, GPR32	Arret de la migration leucocytaire, promeut la clairance bactérienne, la production d'IL-10, l'efferocytose et la migration des monocytes, augmente le drainage lymphatique des leucocytes.
Marésines	Non connu	Bloque le recrutement des neutrophiles, réduit la production de ROS des neutrophiles, induit la régénération tissulaire, et la polarisation des macrophages de phénotype M1 en M2.

Tableau 3. Résumé des principaux médiateurs de la pro-résolution et leurs rôles en tant qu'éléments de résolution.

Les dérivés des AGPI, essentiellement des ω-3, en tant que médiateurs de la résolution, semblent être de bons acteurs pour diminuer et terminer l'inflammation dans le système vasculaire et cérébral. Une dérégulation de la production de médiateurs lipidiques pro-inflammatoires ou pro-résolveurs peuvent être particulièrement néfastes pour les tissus, et induire de graves conséquences. En effet une inhibition de la résolution de l'inflammation, empêche ainsi les tissus inflammés de retourner à leur homéostasie. Un riche apport en DHA dans les cellules et une diminution de leur niveau d'acide arachidonique semble être une condition essentielle pour parvenir à réduire une inflammation.

3. Implication des mécanismes de la voie des AGPI en condition pathologique

a. Remodelage des glycérophospholipides dans la MA

Alors que les glycérophospholipides du cerveau possèdent presque exclusivement des acides saturés ou mono-insaturés au sn-1, les acides gras au sn-2 sont beaucoup plus variés et dynamiques, subissant un remodelage continu ⁴⁰⁹. Dans la matière blanche, la position sn-2 est principalement constituée d'acide oléique, alors que dans la matière grise, le DHA et l'acide arachidonique prédominent ⁴¹⁰. C'est donc principalement la PLA2, qui joue un rôle dans la libération de DHA ou d'acide arachidonique dans le système nerveux central. Parmi les différentes PLA2 impliqués dans le remodelage des lipides membranaires, plusieurs ont été évaluées pour être altérées dans la MA. Chez les patients Alzheimer, les PLA2 dépendantes du calcium sont augmentées dans le liquide céphalorachidien ⁴¹¹ et la cPLA2 ⁴¹² est augmentée dans le cortex. Alors que la iPLA2 est diminuée à la fois dans le LCR ⁴¹³ et dans le cortex des patients Alzheimer ⁴¹⁴. Les activités des PLA2 spécifiques de l'acide arachidonique sont ainsi augmentées, alors que celles ayant une affinité pour le DHA diminuent ⁴¹⁵, contribuant à la libération d'acide arachidonique dans les cellules et favorisant ainsi la production de dérivés pro-inflammatoires ⁴¹⁶; et limitant la libération de DHA pouvant être utilisé dans la génération de SPM ⁴¹⁷.

b. Implication des AGPI dans la MA

Un certain nombre d'études ont étudié l'association des niveaux d'AGPI ω -3 ou du DHA avec la maladie d'Alzheimer en examinant des échantillons de cerveau post-mortem de patients. Des réductions de DHA dans différents phospholipides ont été signalées par plusieurs équipes ⁴¹⁸⁻⁴²². Le DHA est diminué dans certaines régions du cerveau des patients atteints de la MA, comme le pont, la matière blanche et, en particulier, la matière grise frontale et l'hippocampe. En outre, les produits du DHA, très sensibles à la peroxydation lipidique en raison de ses six doubles liaisons, sont élevés dans les cerveaux de patients Alzheimer. Ces altérations lipidiques semblent se produire non seulement chez les patients Alzheimer à un stade avancé de la maladie, mais aussi chez ceux aux premiers stades de la maladie ^{415,423}. La biosynthèse de DHA dans le foie est réduite chez les patients atteints de la maladie d'Alzheimer ⁴²⁴, contribuant vraisemblablement aux niveaux réduits de DHA démontrés dans les membranes corticales de patients Alzheimer ⁴²⁵ et aux niveaux de DHA dans le LCR et plasmatique. Yassine et al. ont démontré que l'allèle *APOE4* influence en plus les niveaux de DHA chez les patients Alzheimer. Les patients aux taux de peptide A β 42 les plus bas, étant porteurs de l'allèle *APOE4*, présentent des niveaux de DHA dans le LCR et plasmatique nettement inférieurs ⁴²⁶.

Quant aux modèles animaux, alors que les souris Tg2576 présentent une réduction des niveaux de DHA, celles-ci montrent en plus au cours du vieillissement une diminution de la teneur en acides gras polyinsaturés au sein des phospholipides ⁴²⁷. Dans une autre étude, la concentration d'acide arachidonique a été démontré pour être augmentée dans l'hippocampe d'un modèle de souris ⁴²⁸, confirmé par un afflux élevé d'acide arachidonique chez les patients atteints de la MA ⁴²⁹. Les prostaglandines et la COX-2, sont également retrouvées augmentées dans le cerveau des patients atteints de la MA ^{428,430}. L'augmentation de l'acide arachidonique, de la prostaglandine et de la COX-2 peut ainsi initier ou aggraver l'inflammation dans la MA ⁴³¹.

L'inflammation chronique, les niveaux réduits des ω -3, et l'augmentation des ω -6 dans le cerveau des patients Alzheimer, entraînant une diminution des niveaux des SPM, peut indiquer que la résolution de l'inflammation est dysfonctionnelle. Les niveaux des SPM, comme la NPD1, la LXA4, la RvD1 et la RvD5, sont en effet réduits dans le tissu cérébral des patients Alzheimer ^{395,432,433}. Les patients Alzheimer à un stade avancé, présentent également une réduction de certains SPM dans leur liquide céphalorachidien, comme la LXA4 ⁴³³. Cette diminution des SPM est en plus significativement corrélée à l'altération de leurs fonctions cognitives. Cette diminution de médiateurs pro-résolveurs ne s'explique par la diminution des enzymes permettant leur synthèse puisqu'elles sont retrouvées augmentées, comme la 15-LOX-2, la 12/15-LOX et la 5-LOX dans le cerveau des patients Alzheimer ^{433,434,435}. Cette augmentation pouvant être due à une compensation permettant d'essayer de produire des SPM, peut ainsi jouer un rôle particulièrement défavorable chez les patients Alzheimer, du fait de l'augmentation des niveaux d'acide arachidonique libéré des membranes, induisant l'augmentation de dérivés pro-inflammatoires comme les HETE et les leucotriènes.

En outre, l'activité des Δ -5 et Δ -6 désaturases cérébrales humaines diminue avec l'âge ^{436,437} augmentant ainsi la compétition de ces enzymes dans la production des ω -3 et ω -6 au cours du vieillissement ⁴³⁸. Ces enzymes sont en plus modulées par des cofacteurs alimentaires qui peuvent être déficients chez le plupart des personnes âgées ^{439,440}.

c. Effet des AGPI dans les ischémies et les hémorragies

Un certain nombre de pathologies dans le cerveau humain, autres que la MA, sont associées à une altération du métabolisme de l'acide arachidonique ^{441,442}, comme les accidents vasculaires cérébraux. Lors d'un AVC, dans lequel les ROS sont abondantes, l'augmentation du calcium intracellulaire et de l'activation des PLA2 sont observées, résultant en une accumulation rapide d'acides gras libres ^{443,444,445}. Ce sont plus particulièrement les niveaux protéiques et l'activité de la sPLA2 ^{446,447} et de la cPLA2 ^{448,449} qui sont augmentés, favorisant la libération d'acide arachidonique par les cellules. Dans un contexte pathologique, comme l'accident vasculaire cérébral ischémique et hémorragique, l'acide

arachidonique libre qui s'accumule peut ainsi subir un métabolisme oxydatif incontrôlé conduisant à la formation de prostaglandines, de leucotriènes, de thromboxanes, mais également à des produits de peroxydation lipidique induisant la formation de ROS et favorisant d'autant plus les dommages oxydatifs aux lipides ⁴⁵⁰.

Le déséquilibre rapide des lipides peroxydés par rapport aux antioxydants en cas d'accident vasculaire cérébral conduit ainsi à un processus pathologique, favorisant la production de médiateurs inflammatoires et le dommage des tissus. Cette observation est d'autant plus intéressante dans le cas des pathologies amyloïdes MA et AAC résultant dans les cas les plus sévères à des hémorragies et à des troubles ischémiques. La voie des médiateurs lipidiques semble donc jouer un rôle déterminant dans la gravité de ces pathologies.

4. L'impact des acides gras ω -3 alimentaires

La diminution des ω -3 et l'augmentation des ω -6 dans les pathologies neuronales, comme la MA et l'AAC, et leurs effets délétères peuvent être possiblement contrecarrées par l'augmentation de la prise alimentaire d'AGPI ω -3. Ces dernières années, les régimes alimentaires riche ω -3 ont soulevé un intérêt croissant pour de nombreuses pathologies. L'intérêt des AGPI ω -3 s'est développé depuis l'observation selon laquelle les Inuit du Groenland ont une faible morbidité pour les maladies cardio-vasculaires, comme l'athérosclérose, et les maladies dégénératives comme la MA, malgré un régime alimentaire riche en acide gras. Les Inuit ont en effet une alimentation riche en poissons gras, favorisant l'apport d'AGPI ω -3 ⁴⁵¹. De nombreuses études ont révélé par la suite qu'un apport élevé d'AGPI ω -3 dans d'autres populations, est associé à de multiples avantages pour la santé, dont un risque plus faible de démence, comme la MA ^{423,452,453}. En outre, les niveaux de DHA cérébraux sont positivement associés aux performances cognitives et comportementales. En effet, la supplémentation en AGPI ω -3 améliore la fonction cognitive chez les personnes non atteintes de démence ^{454,455}.

Comme mentionné plus haut, les voies métaboliques des AGPI ω -3 et ω -6 sont mutuellement dépendantes et peuvent donc avoir des effets inhibiteurs l'une sur l'autre puisqu'elles impliquent l'utilisation de mêmes enzymes ⁴⁵⁶. Ainsi, il a été suggéré que le rapport entre les apports ω -6 et ω -3 pourrait être un indicateur plus important du statut que l'apport absolu de l'un ou l'autre, car il reflète la concurrence mutuelle des deux types d'acides gras ⁴⁵⁷. La privation alimentaire ω -6 réduit la production d'AA et de ses dérivés, mais augmente également le DHA et ses métabolites ⁴⁵⁸, et vice versa ⁴⁵⁹. L'inhibition compétitive des ω -6 peut ainsi avoir des effets bénéfiques via une boucle de rétroaction positive si le rapport ω -6/ ω -3 devient déséquilibré.

Or dans nos sociétés occidentales actuelles, durant ce dernier siècle, les régimes alimentaires avec un rapport ω -6/ ω -3 de 1/1 ont évolué vers des ratios de 15/1 à 25/1 ⁴⁶⁰. Étant donné que l'apport accru d' ω -3 diminue la quantité d'AA dans les phospholipides membranaires des cellules impliquées dans l'inflammation, on peut s'attendre à ce que la production de médiateurs dérivés d'acide arachidonique diminue simplement en raison d'une quantité réduite de substrat disponible ³¹². De nombreuses études ont décrit une diminution de la production de prostaglandine et de leucotriènes par des cellules inflammatoires suite à l'utilisation de suppléments d'acides gras ω -3 ⁴⁶¹. Des effets similaires de tels suppléments ont été observés chez les patients atteints de maladies inflammatoires chroniques ⁴⁶².

L'intérêt pour les ω -3 pour la prévention de la MA a été appuyé par des études d'observation et des essais contrôlés randomisés, et d'études *in vivo* démontrant qu'une alimentation riche en ω -3 ou une supplémentation d'AGPI ω -3 présentent des effets positifs sur les capacités cognitives des individus atteints de la MA ⁴⁶³⁻⁴⁶⁵. De plus, dans ces études, des niveaux inférieurs d'AGPI ω -3 plasmatiques et érythrocytaires, biomarqueurs d'une incorporation réussite des AGPI alimentaires, sont liés à une cognition plus faible ⁴⁶⁶.

Collectivement, ces résultats appuient le rôle des ω -3 dans la prévention et l'amélioration des symptômes liés à la MA. **Cependant, il n'existe à l'heure actuelle aucune étude se concentrant sur l'effet des ω -3 dans la pathogenèse de l'AAC.** Les études *in vitro* et *in vivo* se situent effectivement le plus souvent dans le système neuronal en omettant l'action des ω -3 sur le système vasculaire en condition amyloïde. Or comme on l'a vu l'AAC est un facteur déterminant pour la gravité des processus pathologiques dans la MA, pouvant être liée à une plus grande morbidité et mortalité. Il devient ainsi particulièrement intéressant d'étudier l'effet des ω -3 sur les effets délétères de l'AAC, à savoir l'inflammation, l'accumulation de plaques vasculaires et les hémorragies résultantes.

Objectifs

Mon projet doctoral a consisté à évaluer l'impact d'une alimentation enrichie en DHA sur l'inflammation cérébro-vasculaire et périphérique et ses conséquences sur les dépôts de peptide A β parenchymateux et vasculaires au cours du vieillissement.

Pour ce faire, nous avons développé un projet *in vivo* en utilisant le modèle de souris transgéniques de la MA et de l'AAC, les Tg2576. Les animaux utilisés sont les souris transgéniques femelles Tg2576 et leurs témoins sauvages de la même fratrie descendant d'un croisement entre des mâles Tg2576 hétérozygotes et des femelles sauvages C57BL6.

Les animaux (souris Tg2576 et sauvages) ont été nourris soit avec un régime alimentaire placebo (modifié C1000, Altromin, Lage, Allemagne) soit avec un régime alimentaire enrichi en DHA. Notre modèle de souris ingère environ 3mg de DHA par jour. L'alimentation contrôle (régime Placebo) est constituée de croquettes sans DHA ayant un arôme « gout de poisson » équivalent à celui du régime DHA. Afin d'éviter que l'huile de poisson ne perturbe la prise alimentaire des souris, le changement d'alimentation s'est fait progressivement au cours du mois suivant le sevrage, avec des doses progressives de placebo avant d'être aléatoirement distribuées dans les groupes définitifs avec l'alimentation placebo ou enrichie en DHA.

1. Pour étudier l'effet du DHA sur le développement de l'AAC et de la MA chez ces souris, nous évaluons au cours du vieillissement si une alimentation enrichie en DHA permet :

(a) une diminution de l'inflammation périphérique et cérébro-vasculaire (à 10, 14 et 18 mois).

(b) une diminution des dépôts amyloïdes dans le parenchyme cérébral caractéristiques de la MA et dans les vaisseaux cérébraux caractéristiques de l'AAC (à 10, 14 et 18 mois).

(c) une réduction des microhémorragies associées aux angiopathies amyloïdes cérébrales (à 14 et 18 mois).

2. Nous avons également étudié *in vitro* dans les CMLV s'il existe un lien de cause à effet entre un médiateur lipidique pro-inflammatoire, le 12-HETE, dont on a montré qu'il est corrélé à la quantité des plaques vasculaires, et les conséquences de l'accumulation vasculaire de peptide A β .

En parallèle, nous avons mis en place une technique de dissection permettant d'isoler le cercle de Willis. Cette technique qui pourra éventuellement être utilisée dans des études ultérieures, permet d'analyser l'expression de gènes des vaisseaux cérébraux. Cette technique de dissection a été l'objet d'un article paru dans la revue JoVE (Journal of Visualized Experiments) en 2016 (Protocol for Isolating the Mouse Circle of Willis. Hur J, Blaise R, Limon I), présentée en Annexe 4.

Résultats

Les résultats précédents du laboratoire ont démontré que le peptide A β 1-40, forme majoritaire retrouvée dans l'AAC artérielle, induisait l'apoptose des CMLV, phénomène potentiellement responsable de la rupture des vaisseaux ¹³⁹. En outre, le peptide seul n'induit pas de réponse inflammatoire de la part des CMLV, mais pré-active certaines voies de signalisation (NF κ B et PI3K) pouvant potentialiser la réponse des CMLV à une inflammation ultérieure provenant probablement des cellules endothéliales adjacentes traitées au peptide A β 1-40 ²⁷². Par ailleurs, l'impact de l'inflammation dans l'AAC a été ainsi démontré pour être particulièrement délétère et pour participer activement au développement de cette pathologie conduisant aux hémorragies cérébrales. Dans le contexte de l'AAC, enrayer cette inflammation s'avère donc une piste particulièrement intéressante. Une large littérature a notamment montré les effets bénéfiques des AGPI ω -3, précurseurs de médiateurs bioactifs de la résolution de l'inflammation, sur la maladie d'Alzheimer, que ce soit par des études cliniques randomisées ou *in vivo* sur des modèles animaux transgéniques de la maladie. Cependant aucune de ces études n'a discriminé l'impact des effets des AGPI ω -3 sur le développement de dépôts parenchymateux et sur celui des dépôts vasculaires.

Afin de déterminer l'impact des AGPI ω -3 alimentaires sur l'ontogenèse de l'AAC, nous avons mis en place une étude *in vivo* en utilisant le modèle de souris transgéniques Tg2576, présentant aussi bien des plaques vasculaires et parenchymateuses, ayant reçues dès l'âge de 1 mois et 3 semaines un régime alimentaire enrichi en DHA. A l'issue de ce régime donné pendant une période de 8, 12 et 16 mois, le sang des souris a été prélevé pour évaluer l'incorporation du DHA dans les érythrocytes et le plasma ; la teneur en DHA dans la membrane des érythrocytes et du plasma constitue le biomarqueur de la consommation de DHA. Nous avons également quantifié dans le plasma certains médiateurs lipidiques pro-inflammatoires et pro-résolveurs de l'inflammation dérivés des AGPI ω -6 et ω -3, une alimentation enrichie en DHA étant susceptible de moduler la formation de ces dérivés. La surface des dépôts amyloïdes vasculaires et parenchymateux ainsi que l'étendue des hémorragies des régions corticales et hippocampales sont déterminées après le sacrifice des souris sur des tranches de cerveaux (Bregma -0.94 mm à Bregma -3.1 mm) en immunohistochimie et histochimie. Ainsi, nous avons pu observer que le niveau de DHA était très fortement augmenté (de 3 à 5 fois) dans les érythrocytes des souris ayant reçu un régime enrichi en DHA et ce, quel que soit la durée du régime alimentaire. Inversement, chez ces souris, le niveau de l'acide arachidonique érythrocytaire était fortement diminué (environ 1,5 fois). Sur l'ensemble des dérivés des AGPI ω -6 et ω -3 dosés par spectrométrie de masse dans le plasma des souris, seule la concentration de certains composés dépassait le seuil de détection.

Dans ces conditions, nous avons pu constater que les niveaux des médiateurs pro-inflammatoires dérivés de l'acide arachidonique, les 8/12-HETE (comprenant le 8-HETE et le 12-HETE, indistinguables en spectrométrie du fait de leur profils très similaires), le 11-HETE et le 15-HETE étaient

significativement diminués chez les souris ayant reçu un régime enrichi en DHA par rapport aux souris ayant reçu un régime placebo à 14 et 18 mois. Il en est de même pour la PGE2 dosée en ELISA à 18 mois. En revanche, les niveaux de certains médiateurs pro-résolveurs de l'inflammation ayant un profil semblable aux lipoxines et marésines, étaient augmentés. Cette première série d'expériences a ainsi pu mettre en évidence l'action bénéfique d'une alimentation enrichie en DHA sur les profils inflammatoires systémiques des souris Tg2576.

Notre deuxième série d'expériences réalisées sur coupes entières de cerveau, centralisées sur l'hippocampe, démontre que le régime enrichi en DHA - qui réajuste la balance entre médiateurs pro- et anti-inflammatoires et diminue l'inflammation systémique - permet de réduire la surface des dépôts de peptides A β vasculaires et de ralentir l'apparition du nombre et de la surface des foyers hémorragiques des souris Tg2576 de 14 et 18 mois. En revanche, il ne permet pas de réduire significativement la surface des dépôts parenchymateux, bien qu'une tendance se dessine sur les souris âgées de 18 mois. Enfin, nous avons pu constater une forte corrélation entre l'accumulation de plaques vasculaires, les hémorragies et les niveaux des 8/12-HETE ($r = 0,8368$ et $r = 0,7930$ respectivement).

La dernière partie de mon travail a donc visé à déterminer le lien entre le peptide A β 1-40, principal peptide retrouvé au niveau des vaisseaux dans l'AAC, la dégradation de la paroi vasculaire conduisant aux hémorragies et le 12-HETE au niveau vasculaire. En incubant des CMLV d'aorte de rat avec le peptide A β 1-40 (50 μ M), nous avons pu montrer qu'il induit une augmentation de l'expression de l'enzyme responsable de la production de 12-HETE, la 12/15-LOX, et de la production consécutive du 12(S)-HETE. Des expériences complémentaires réalisées en cytométrie en flux quantifiant l'apoptose des CMLV marquées à l'iodure de propidium démontrent que le 12-HETE est en partie responsable de la dégénérescence des CMLV induite par le peptide A β 1-40. Notre étude révèle donc également, et pour la première fois, un effet inattendu du 12-HETE dans le contexte amyloïde de l'AAC qui pourrait être en partie responsable de l'altération des vaisseaux favorisant l'apparition d'hémorragies intracérébrales.

L'ensemble de ces travaux a donné lieu à l'écriture d'un article intitulé **"A DHA-enriched diet reduces cerebrovascular β -amyloid deposition and associated microhemorrhages in the Tg2576-Alzheimer mouse model"** dont je suis le premier auteur (cf ci-après) qui est en cours de soumission au Journal of Pathology.

Publication n°1

Title: A DHA-enriched diet reduces cerebrovascular β -amyloid deposition and associated microhemorrhages in the Tg2576-Alzheimer mouse model

Justine Hur¹, Véronique Mateo², Nicolas Amalric³, Mégane Babiak¹, Gilbert Béréziat¹, Claire Kanoni-Truc⁴, Thierry Clerc⁴, Régis Blaise^{1*} and Isabelle Limon^{1*}

¹Sorbonne Universities, UPMC Univ Paris 06, Institute of Biology Paris-Seine, B2A, UMR8256, Paris, France.

²Sorbonne Universities, UPMC Univ Paris 06, Center for Immunology and Infectious Diseases, Immune Intervention and Biotherapies, UMRS CR7 - Inserm U1135, Paris, France.

³Synelvia, 516 rue Pierre et Marie Curie, F-31670, Labège cedex, France.

⁴Institut de Recherche Pierre Fabre, Centre R&D Pierre Fabre, Toulouse, France.

* joint last authors.

Corresponding author: Isabelle Limon

Abstract

Alzheimer's disease (AD) is a neurodegenerative disease histologically characterized by the presence of amyloid β ($A\beta$) plaques, the accumulation of Tau protein-related neurofibrillary tangles (NFT) in brain parenchyma and selective neuron loss from particular brain regions. $A\beta$ -peptides may also accumulate in the brain vascular system (cerebral amyloid angiopathy, CAA), either around the capillaries of the cerebellum, cerebral cortex and leptomeninges, or within the smooth muscle cell layer of medium and large cerebral arteries. CAA is thought to make a major contribution to AD pathogenesis, because $A\beta$ -induced vascular damage, often leading to microhemorrhages, limits the blood supply, depriving cells of glucose and oxygen and causing oxidative stress and cell death. Like AD, CAA is often accompanied by marked inflammation, aggravating associated vasculopathies. No evidence-based prevention or treatment strategies are currently available.

DHA is known to attenuate inflammation and may therefore be beneficial for the treatment of any disease with an inflammatory component. Using the Tg2576 transgenic mouse model of AD and CAA, we show here that a DHA-enriched diet throughout aging limits the accumulation of vascular deposits and microhaemorrhagic foci, with no effect on parenchymal $A\beta$ -peptide deposits. We also show that there is a strong correlation between the area covered by vascular amyloid deposits and hemorrhages and systemic 12-HETE levels. The lowest levels of 12-HETE, a lipid-derived pro-inflammatory product of 12-LOX, were found in DHA-fed mice. Finally, complementary *in vitro* experiments performed on "amyloid" vascular smooth muscle cells showed that the 12-LOX inhibitor baicalein almost completely blocked the $A\beta$ 1-40 peptide-induced apoptosis of these cells.

This study again highlights the important role of inflammation in CAA pathogenesis, whilst identifying potential new targets for preventive interventions. It also shows that DHA may have beneficial effects for the prevention of AD and related diseases, including CAA.

Key words: Alzheimer's disease, cerebral amyloid angiopathy, docosahexaenoic acid, cerebrovascular amyloid- β deposits, cerebrovascular hemorrhages.

Introduction

Alzheimer's disease (AD) is a chronic neurodegenerative disease accounting for 60 to 70% of all cases of age-related dementia [1]. AD is characterized by the presence of amyloid β ($A\beta$)-containing plaques, the accumulation of Tau protein-related neurofibrillary tangles (NFT), and a selective loss of neurons from particular regions of the brain. $A\beta$ -peptides often accumulate not only in the brain parenchyma, but also in the cerebrovasculature around the capillaries perfusing the cerebellum, cerebral cortex and leptomeninges (capillary CAA or CAA type 1), or within the medial layer of the medium and large cerebral arteries (non-capillary CAA or CAA type 2). CAA is increasingly recognized as a major contributor to the pathogenesis of AD [2] through the complications of deposit-related cerebral ischemia and hemorrhage [3].

A role for inflammation has been suggested in $A\beta$ -related cerebrovasculature degeneration, leading to microhemorrhages, cerebral hypoperfusion, stroke and blood-brain barrier disruption [4]. We have shown that the amyloid context of CAA, which hypersensitizes vascular smooth muscle cells (VSMCs) to a pro-inflammatory environment, promotes the dedifferentiation of VSMCs and, ultimately, their apoptosis, resulting in vessel rupture [5]. Kloppenbourg et al. (2010) reported that corticosteroid treatment improved the symptoms of CAA-related inflammation by reducing vasogenic edema. The implication of microglial cell-mediated neuroinflammation in neurological disorders has stimulated interest in the possible use of anti-inflammatory drugs for these indications [6–8]. However, all these compounds have either been shown to trigger adverse effects or to provide no real benefit. Therefore, “for the treatment of neuro-inflammation, one has to look beyond therapy with usual anti-inflammatory drugs” [9]. There is growing evidence to suggest that the generation of n-3 polyunsaturated fatty acid (PUFA) metabolites in the brain may serve as an internal protective mechanism against inflammation [9].

Docohexaenoic acid (DHA, C22: 6 n-3), a major w-3 PUFA obtained exclusively from food, and its metabolites modulate the vascular inflammatory response [10–21]. However, no data have been published concerning the effect of DHA or its metabolites on the alterations to cerebral vessels associated with the neurological disorders observed in AD.

We used the Tg2576 mouse model of AD, which also displays pathogenic CAA lesions, to determine whether a long-term anti-inflammatory DHA-enriched diet could attenuate the deposition of $A\beta$ in the brain and blood vessels and prevent CAA-associated hemorrhagic complications during aging. Systemic assays of pro- and anti-inflammatory lipid mediators in DHA-fed Tg2576 mice and *in vitro* experiments on parietal smooth muscle cells (SMCs) identified 12-HETE as a major pro-inflammatory eicosanoid component potentially responsible for $A\beta$ -induced vascular SMC apoptosis and CAA-related vessel alterations.

Materials and methods

Reagents

The reagents used are listed in supplementary table 1.

Animals. The animals used were female transgenic Tg2576 mice and wild-type controls consisting of siblings of the transgenic mice arising from a cross between heterozygous Tg2576 males (purchased from Taconic Biosciences, NY, USA) and wild-type C57BL6 females (Charles River, Saint Germain-Nuelles, France). The Tg2576 mouse overexpresses a human amyloid precursor protein (hAPP) gene carrying a mutation from a Swedish family (K670N/M671L). The study was performed in accordance with European Union standards for the care and use of laboratory animals, with the approval of the local ethics committee for animal experimentation (Ile de France-Paris-Committee, Authorization 4270). Animals were housed at the Charles Foix animal facility (Ivry sur Seine, France), which has accreditation from the AAALAC (Association for the Assessment and Accreditation of Laboratory Animal Care International) and is a dedicated facility for studies on aging rodents.

DHA-enriched diet. Studies of the time course of plaque development in the Tg2576 mouse [22–24] have reported the appearance of cerebrovascular amyloid deposits at about 9-10 months of age, with these plaques reaching maximal levels at about 16-18 months of age. The *in vivo* protocol used here to study the effects of a DHA-rich diet on β -amyloid deposits began when the mice were two months old. For the quantification of amyloid deposits in the cerebral parenchyma and vessels during aging, we killed mice at the ages of 10, 14 and 18 months (**Supplementary Figure 1**). Animals were fed either a modified C1000 diet (Altromin, Lage, Germany) enriched in DHA, or a control placebo diet (see the supplementary material).

Biolipid exploration. This exploration was performed by Synelvia SAS, Toulouse, France.

Docosahexaenoic acid (DHA) and arachidonic acid (AA) assays on red blood cells. DHA and AA levels were determined by gas chromatography-mass spectrometry (GC/MS) analysis (see the supplementary material). Fatty acid concentrations were calculated with external calibration. DHA and AA levels are expressed in μg per ml of blood.

Assay of eicosanoids in plasma. Eicosanoids were determined by liquid chromatography-mass spectrometry (LC/MS) analysis (see the supplementary material).

Coronal sections of the brain. Mice were anesthetized by an intraperitoneal injection of sodium pentobarbital (0.1 mg per g body weight) and transcardially perfused with 4% paraformaldehyde.

Their brains were removed, fixed by incubation in 4% paraformaldehyde for 24 h and sectioned with a vibratome (Leica, Wetzlar, Germany). We used 10 to 12 serial 30 μm slices cut at intervals of 180 μm from bregma -0.94 mm to bregma -3.1 mm, covering all the regions of interest used for each experiment. These slices were stored at -20°C in a cryoprotectant solution (30% ethylene glycol, 30% glycerol and 250 mM Tris, pH 7.5) until use.

Immunohistochemistry and histology. Coronal brain sections were incubated with a mixture of primary antibodies: mouse anti-A β antibody (BAM10 Abcam #7501, 1:200) and rabbit anti-SM22 antibody (Abcam #14106, 1:500) overnight at 4°C . Fluorescently labeled secondary antibodies were then incubated with the sections at room temperature for 1 h. The secondary antibodies were Alexa-488-conjugated donkey anti-rabbit IgG antibody (green, 1:1000), and Alexa-594 -conjugated donkey anti-mouse IgG antibody (red, 1:1000). Nuclei were counterstained blue with DAPI. Images were acquired with a NanoZoomer slide scanner (Hamamatsu Photonics K.K., Hamamatsu, Japan). The areas of the parenchymal and vessel plaques were measured as follows: the areas positive for the A β peptide and the SM22 protein were measured separately with ImageJ software. A threshold was set to remove all pixels with an area below 30 μm^2 , corresponding to a plaque size $<26 \mu\text{m}^2$. The total area covered by parenchymal plaques was obtained by remeasuring the A β -positive area after the manual deselection of vascular amyloid deposits, corresponding to ring-shaped A β -labeling colocalizing with SM22 staining. The CAA load was determined by subtracting the area of the parenchymal plaques from the total A β -positive area. The CAA load is expressed as the percentage of the total vessel area covered by vascular A β deposits.

For histology experiments, each brain section was sequentially stained with Congo red for amyloid plaque detection and Prussian blue for the detection of hemosiderin, the presence of this protein being indicative of hemorrhages. Nuclei were stained with Nuclear Red. Congo red staining was performed as described by Wilcock *et al.* (2006) [25]. For the quantification of hemorrhages, brain sections were immersed in a solution of hydrochloric acid (2.5%) and potassium ferrocyanide (2.5%), immediately heated in the microwave for 30 seconds at 900 watts and left at room temperature for 5 minutes. The sections were thoroughly washed in water and then mounted in Eukitt medium.

Hemorrhages were quantified by determining the size of the area stained blue (total hemorrhage area) or the number of blue spots (focal hemorrhages) with the color deconvolution plug-in of ImageJ software. A threshold was set to remove pixels of less than 31 μm^2 in size, corresponding to a plaque size $<26 \mu\text{m}^2$. Hemorrhaging was assessed by determining the mean proportion of total brain area covered by hemorrhages over the 12 brain slides studied. Focal hemorrhages were graded from 1 to 3, as described by Yan *et al.* (2015), based on the number of blue spots per mm^2 of brain [26].

Cell culture. Rat VSMCs were isolated as described by Blaise *et al.* (2012) [27]. The university ethics committee approved the experiments and all animal procedures conformed to European Directive 2010/63/EU. Experiments were performed on cells at passages 1 to 4. The cell treatment conditions are indicated in the figure legends. All incubations were performed at 37°C , in serum-free medium, under an atmosphere containing 5% CO_2 .

RT-PCR assays. Total RNA was extracted from VSMCs with the RNeasy kit. RT-PCR assays were performed as described by Blaise et al. (2012) [27]. The forward and reverse primer sequences used to amplify the cDNA were as follows: 12-lipoxygenase, GGTGCTGAAGCGCTCTACTT, GCTTCAAACAGAGTGCCTTTCT.

PGE₂ assay. PGE₂ secretion was evaluated on mouse plasma, with an enzyme immunoassay kit from Cayman Chemical SPI-BIO, used according to the manufacturer's instructions.

12-HETE assay. 12-HETE secretion was evaluated in VSM cell medium, with the enzyme immunoassay kit from Abcam, used according to the manufacturer's instructions.

Detection of apoptosis. Cell death was estimated as the percentage of hypodiploid nuclei (HN) identified by propidium iodide staining, as described by Mateo et al., 2007 [28]. Briefly, cells were resuspended in a hypotonic solution containing 0.1% sodium citrate, 0.1% Triton X-100, and 50 µg/mL propidium iodide. Cell nuclei were analyzed on an EPICS XL instrument, with Expo32 software (Becton Coulter). The percentage of cells in which apoptosis was induced was calculated as $100 \times (\text{percentage of experimental HN} - \text{percentage of spontaneous HN}) / (100 - \% \text{ of spontaneous HN})$.

Statistical analysis. Graphical representations were generated with GraphPad Prism 5 (GraphPad Software, Inc., La Jolla, CA, USA). Two-tailed Mann–Whitney tests were used for pairwise comparisons of groups. Spearman's rho was calculated for correlation analyses. $P < 0.05$ was considered statistically significant for pairwise comparisons of groups and correlation analyses.

A DHA-enriched diet modulates plasma levels of bioactive lipid mediators in Tg2576 mice (Tg)

Tg mice on a DHA-enriched or placebo diet were killed at the ages of 14 or 18 months, and the DHA and AA contents of red blood cells were analyzed by gas chromatography-mass spectrometry. These two diets will be referred to hereafter as the DHA and placebo diets. As expected red blood cell DHA levels were higher in the DHA group than in the placebo group, regardless of mouse age (14 mo, placebo vs. DHA in $\mu\text{g/ml}$ of blood: 36 ± 6.2 , $n = 6$ vs. 117 ± 10.7 , $n = 8$, $P < 0.001$; 18 mo, placebo vs. DHA: 45 ± 4.8 , $n = 7$ vs. 207 ± 10.8 , $n = 6$, $P < 0.01$, **Figure 1A**). Conversely, AA content was much lower in the DHA group than in the placebo group (placebo vs. DHA in $\mu\text{g/ml}$ of blood at 14 mo: 299.2 ± 263 vs. 145.5 ± 15.3 , $P < 0.001$ and 18 mo: 442.1 ± 34.9 vs. 297.7 ± 19.9 $P < 0.01$). However, food intake and body weight were very similar in the two groups (**Figure S1**). The omega-3/omega-6 PUFA ratio of cell membranes, which was 0.065 in the placebo group and 0.41 in the DHA group ($P < 0.001$) attest to efficient DHA intake in mice fed the DHA-enriched diet.

We then assessed the plasma concentration of pro-inflammatory hydroxyeicosatetraenoic acids (HETEs), the eicosanoid metabolites of AA, in both groups of mice, at the ages of 14 and 18 mo, by liquid chromatography/electrospray ionization mass spectrometry. The levels of all HETEs were significantly lower in the DHA group than in the placebo group (**Figure 1, C-E**): by factors of 5.8 for 8/12-HETE, 3.6 for 11-HETE and 2.4 for 15-HETE at 14 mo ($P < 0.001$), the corresponding values for 18 mo being 2.2, 4.2 and 2.7, respectively ($P < 0.01$). The plasma concentration of a major inflammation mediator, prostaglandin E₂, was also significantly lower in the DHA group than in the placebo group at 18 mo (placebo vs. DHA: 266.5 ± 73.6 vs. 82.2 ± 12.4 , $P < 0.01$), but no difference in the concentration of this molecule between the groups was observed in younger mice (14 mo, **Figure 1F**).

We also evaluated the plasma levels of several anti-inflammatory lipids, including lipoxins (LxA₄, LxB₄), resolvin D₁, 7-maresin 1 and protectin DX (PDX). None of these eicosanoids was present in large enough amounts for detection (**data not shown**). However, two unknown compounds, referred to here as unknown compounds #1 and #2, were detected at the same m/z as lipoxins (351 *uma*) and maresins/protectins (359, **Figure S2**) and may therefore be metabolites of AA or DHA. The amounts of both these unknown compounds, #1 (**Figure 1G**) and #2 (**Figure 1H**), were larger in the DHA group, at both ages. Thus, the DHA diet increases the amounts of n-3 PUFAs in cell membranes. We also found that the circulating levels of lipid mediators involved in the resolution of inflammation were higher in the DHA group, whereas those of pro-inflammatory, including AA and its metabolites, were lower in this group.

A DHA-enriched diet attenuates cerebral amyloid angiopathy and hemorrhages in Tg 2576 mice

The accumulation of A β in the blood vessel wall increases the risk of intracranial hemorrhage and stroke in the human brain. Previous studies have demonstrated the occurrence of spontaneous microhemorrhages in the APP Swedish double-mutation mouse models of Alzheimer's disease and related diseases, such as Tg2576 and APP23 [29,30]. We assessed the impact of the DHA diet on A β peptide deposition, by quantifying the areas covered by vascular and parenchymal amyloid plaques,

and the frequency and extent of bleeding, in the brains of mice from both groups, at the ages of 10 and/or 14 and 18 mo (**Figure 2**). Brain tissue was cut into 30-micron coronal sections, with 10 to 12 serial sections cut at 180 μm intervals (from bregma -0.94 mm to bregma -3.1 mm) through the hippocampus, encompassing all the regions of interest. CAA load was evaluated as the percent of the smooth muscle-22 (SM-22) area covered by amyloid, based on counts of vessels double-positive for SM-22 protein (green) and beta-amyloid peptide (red) and those immunolabeled only for SM-22 (**Figure 2A**). Parenchymal amyloid deposits were quantified by manually deselecting double-immunolabeled vascular plaques on each image. A threshold was set to remove pixels of less than 30 μm^2 , corresponding to a size of plaque of less than 26 μm^2 . The total brain area covered by amyloid deposits was very small at 10 mo and increased in an age-dependent manner, in both the parenchyma and vessels (**Figure 2B and C**). The DHA-enriched diet significantly decreased CAA at 14 and 18 mo (**Figure 2C**). The percent area covered by amyloid and expressing SM-22 was 47.72 ± 5.96 in the placebo group ($n = 6$) but only 16.81 ± 3.9 in the DHA group ($n = 4$) at 14 mo ($P < 0.01$), and 54.01 ± 5.40 ($n = 8$) in the placebo group and 27.76 ± 1.45 ($n = 9$) in the DHA group at 18 mo ($P < 0.001$). However, the DHA-enriched diet had no effect on amyloid loading in the parenchyma (**Figure 2B**). Thus, the DHA diet significantly decreased vascular β -amyloid load without decreasing amyloid deposition in the brain parenchyma.

We investigated whether a DHA-rich diet could also decrease bleeding episodes in the vicinity of amyloid deposits, using the same series of brain slides, with two successive stains, Congo red and Perle's Prussian blue. Cell nuclei were stained with a red nuclear stain for the assessment of brain structures. Hemorrhages were graded from 1 to 3, as described by Yan et al. (2015) [26], based on the number of blue spots within the hemorrhage zone (*i.e* the number of hemorrhage spots per cm^2 , **Figure 3A**). Hemorrhage extent was calculated by dividing mean hemorrhage area by total brain area.

As expected, the total extent of the hemorrhage area (**Figure 3B**) and the number of focal hemorrhages of grades 1 to 3 (**Figure 3C and D**) increased with aging, grade 1 hemorrhages being the most frequent. However, the total area of hemorrhages was lower in mice on the DHA diet than in those on the placebo diet (14 mo: 2.95-fold difference, $n=5$ and $n=3$, $P<0.05$; 18 mo: 2.5-fold difference, $n=8$ and $n=9$, $P<0.01$). Similar conclusions were drawn for analyses of hemorrhages by grade (**Figure 3C and 3D**). Prussian blue staining was undetectable on slides of brain tissue from 10-month-old Tg mice, regardless of the diet they were fed (**data not shown**).

We found a positive correlation between the hemorrhage extent and amyloid deposit size, for both diet groups and both ages considered (Spearman's coefficient of 0.745, $P < 0.001$, **Figure 3E**). The lower left square in Figure 3E, corresponding to mice with small plaque and hemorrhage areas, grouped together almost all the mice from the DHA groups, whereas the upper right square, corresponding to vessels with large plaque and hemorrhage areas contained almost exclusively data for mice on the placebo diet. These results provide support for the existence of a causal relationship between CAA and microhemorrhages. They also demonstrate that a DHA-enriched diet lessens CAA severity, thereby decreasing hemorrhage extent.

Inhibition of 12-lipoxygenase (12-LOX), which breaks AA down into 12-HETE, prevents the A β 1-40 peptide-induced apoptosis of VSMCs

We investigated the mechanism by which DHA reduces vascular amyloid deposition and hemorrhaging, by re-analyzing our results and looking for correlations with plasma HETE levels. We used the nonparametric Spearman's rank correlation coefficient to evaluate 19 pairs of data. Results are shown for each HETE for which plasma concentration was measured (**Figure 1**). Plasma concentrations of 8/12-HETE and, to a lesser extent, 11-HETE (**Figure 4A and B**), tended to increase with increasing plaque (**left**) and hemorrhage (**right**) areas. We obtained positive Spearman's correlation coefficients of 0.79 ($P < 0.001$) and 0.83 ($P < 0.001$), respectively, for 8/12-HETE and 0.55 ($P < 0.05$) and 0.6 ($P < 0.01$), respectively, for 11-HETE. Little or no correlation was detected for 15-HETE concentrations (**Figure 4C**).

We then explored whether the amyloid context of CAA affected arachidonic metabolism in the vessel wall, by incubating VSMCs with the A β 1-40 peptide and measuring i) 12-LOX levels and, ii) 12-HETE concentration in the culture medium. Incubation for 48 h in the presence of 50 μ M A β 1-40 peptide increased the levels of 12-LOX transcripts (by a factor of 9.7, $P = 0.0006$, $n = 7$) and 12-HETE secretion into the cell medium (by a factor of 2.6, $P = 0.0079$, $n = 5$) relative to those of untreated cells (**Figure 5A and B**). Consistently with the role of 12-LOX in 12-HETE production, even in this context, the 12-LOX inhibitor baicalein completely abolished the A β 1-40-induced secretion of 12-HETE.

We explored the possible causal nature of the relationship between 12-HETE secretion and VSMC degeneration in CAA, by determining the percentage of apoptotic nuclei in "amyloid" VSMCs treated with baicalein relative to that in untreated "amyloid VSMCs". 12-LOX inhibition almost halved the rate of VSM cell death induced by the A β 1-40 peptide (**Figure 5C and D**). Baicalein itself had no effect (**Figure 5C and D**). Thus, in the amyloid context of CAA, DHA may exert its effects on VSM cell death by decreasing 12-LOX activity, thereby decreasing the levels of the products of this enzyme.

Discussion

In the Tg2576 mouse model of Alzheimer's disease and CAA, as in other murine models of AD and AD patients, the extent of hemorrhages is correlated with that of amyloid deposits within the wall of cortex vessels [31]. We show here that n-3 PUFA intake from a young age, leading to lower plasma concentrations of pro-inflammatory eicosanoid metabolites of AA and higher levels of lipid mediators potentially capable of resolving inflammation, results in lower levels of cerebrovascular amyloid deposition, smaller numbers of focal hemorrhages and a smaller hemorrhage extent.

The plasma concentrations of lipid mediators capable of resolving inflammation, such as lipoxins LxA4 and LxB4, resolvin D1, 7-maresin 1 and protectin DX were below the detection threshold in both groups of mice. However, Tg2576 mice fed a DHA-enriched diet had significantly higher plasma concentrations of two unidentified compounds referred to as unknown compounds 1 and 2 (Figure 1), probably belonging to the lipoxin and maresin/protectin families, respectively, and lower levels of AA, pro-inflammatory HETEs and PGE2 than mice fed the placebo diet. The lipoxygenases and cyclooxygenases required for the synthesis of anti-inflammatory lipid mediators are also responsible for producing pro-inflammatory lipid mediators. This shift in production profile towards the resolution of inflammation, with lower levels of harmful lipid mediators and higher levels of beneficial mediators, reflects the previously described inhibition, by n-3 PUFAs, of AA metabolism by cyclooxygenases and lipoxygenases [32–34]. This retuning of the balance between lipid mediators in Tg2576 mice fed a DHA-enriched diet is also consistent with observations in AD patients receiving n-3 PUFA supplementation [35–37].

In this context, the higher plasma concentration of a lipoxin-like compound (unknown compound #1) in the DHA group was somewhat surprising, because lipoxins are produced from AA. However, 12/15-LOX has been shown to produce maresins indirectly from DHA [38]. Alternatively, the 12/15-LOX may undergo a “class switch” similar to that described for 5-LOX, in which the production profile switches from leukotrienes to lipoxins following phosphorylation of the serine 523 residue [39,40]. Such regulation has yet to be demonstrated for 12/15-LOX enzymes, but DHA modulates the production and activity of PKA [41] and other protein kinases already implicated in this class-switching process [39,42].

We showed *in vitro* that levels of 12-LOX, which may be able to shunt AA metabolism to lipoxygenases promoting the production of other anti-inflammatory mediators, were higher and that this enzyme was significantly more active in “amyloid” VSMCs (Figure 5A). This effect appears to extend to several regions of the cortex, because 12/15-LOX levels are significantly higher in the frontal and temporal regions of AD brains than in controls [43]. Other signaling pathways potentially involved in this shunt are upregulated in both animal models of AD and in AD patients. These findings support the use of PUFAs supplementation as a means of decreasing or slowing the progression of A β -associated diseases by stimulating the resolution of inflammation. This approach is particularly relevant given that secondary inflammatory responses are often more damaging than the primary challenge triggering them, particularly in the nervous system. These findings may also explain the failure of several trials using non-steroidal anti-inflammatory drugs, such as indomethacin, to treat AD [44]. However, we cannot exclude the possibility of synergy between non-steroidal anti-inflammatory drugs and DHA for the treatment of A β -related diseases, as already suggested on the basis of *in vitro* results [45].

DHA has no significant effect on cortex and hippocampal amyloid deposition, although a trend towards such an effect was observed. This is surprising, given the duration of the diet (up to 16 months) and the omega-6/omega-3 fatty acid ratio of 1.4 calculated on the basis of erythrocyte content (**Figure 1**). However, it is consistent with previous studies showing i) a poor correlation between omega-6/omega-3 fatty-acid ratio and A β 1-42 levels in the hippocampus in the APP/PS1 transgenic accelerated AD mouse strain given supplementation for four months, between the ages of six and 10 months [46]; ii) an improvement in vascular parameters and A β load within the vessel walls before any detectable effect on parenchymal deposits in APP/PS1 mice treated by long-term dietary supplementation, from the ages of two to 15 months with larger amounts of omega-3 (omega-6/omega-3 fatty acid ratio of 0.7) [47,48]. Together with the findings of Sutcliffe and coworkers showing that decreases in peripheral levels of A β peptide were sufficient to reduce A β peptide levels in the brain [49], this further highlights the importance of vascular factors in the development of AD.

Our findings clearly demonstrate a beneficial effect of a DHA-enriched diet, restricting CAA development. This, and our demonstration that the 12-LOX pathway contributes to the toxicity of A β in VSMCs (**Figure 5**) add to the existing evidence for a possible role of LOXs in the pathogenesis of neurodegenerative processes in AD [50–52]. 12-HETE has been shown to increase ROS level in various cell types, including VSMCs [53], and ROS have been implicated in the apoptosis of VSMCs; amyloid- β species also induce ROS production in VSMCs [54]. Based on these data, we can hypothesize that the A β -induced apoptosis of VSMCs is dependent on the release of 12-HETE, leading to the generation of reactive oxygen species. If this hypothesis proves to be correct, DHA may prevent VSMC death by limiting ROS production, through the inhibition of NADPH-oxidases by maresin and resolvin [55,56].

In conclusion, our findings establish, for the first time, that a DHA-enriched diet decreasing inflammation and favoring its resolution decreases the severity of CAA in Tg2576 mice, consistent with a crucial role of inflammation in amyloid- β -related diseases. Several studies in this mouse model have already shown that dietary DHA protects against β -amyloid production, accumulation, potential downstream toxicity and memory impairment [57]. We suggest that the dual effect of DHA on inflammation, with the resolution of chronic inflammation, may be the key to restoring β -amyloid peptide homeostasis and halting, or at least slowing, the progression of amyloid- β -related diseases. These findings are of particular importance in light of the data from human studies and animal models of AD indicating that cerebrovascular dysfunction precedes the development of cognitive decline and AD [58–60].

Acknowledgments

We would like to thank Stéphane Fouquet and David Godefroy of the Imaging Core Facility of the *Institut de la Vision* for slide scanning. We also thank Jean-François Gilles for helping to construct the macro for plaque quantification.

Statement of author contributions

RB, GB, CKT, TC and IL designed the study. RB and IL designed the *in vivo* experiments. RB, JH and VM designed the *in vitro* experiment. NA, RB, MB, JH carried out the experiments. RB and JH analyzed the data. JH generated the figures. JH, RB, and IL were involved in writing the paper and had gave final approval for the versions of the manuscript submitted and published.

Financial support

This work was supported by the pharmaceutical company “Pierre Fabre Laboratories”.

References

- 1 Alzheimer's Association. 2013 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimer's Dement J Alzheimer's Assoc* 2013; **9**: 208-245
- 2 Ghiso J, Tomidokoro Y, Revesz T, *et al.* Cerebral amyloid angiopathy and alzheimer's disease. *Hirosaki Igaku Hirosaki Med J* 2010; **61**: S111-S124
- 3 Greenberg SM. Cerebral amyloid angiopathy and dementia. Two amyloids are worse than one. *Neurology* 2002; **58**: 1587-1588
- 4 Yamada M. Cerebral amyloid angiopathy: emerging concepts. *J Stroke* 2015; **17**: 17-30
- 5 Vromman A, Trabelsi N, Rouxel C, *et al.* β -Amyloid context intensifies vascular smooth muscle cells induced inflammatory response and de-differentiation. *Aging Cell* 2013; **12**: 358-369
- 6 Aisen PS, Schmeidler J, Pasinetti GM. Randomized pilot study of nimesulide treatment in Alzheimer's disease. *Neurology* 2002; **58**: 1050-1054
- 7 Heneka MT, O'Banion MK. Inflammatory processes in Alzheimer's disease. *J Neuroimmunol* 2007; **184**: 69-91
- 8 Simonyi A, He Y, Sheng W, *et al.* Targeting NADPH oxidase and phospholipases A2 in Alzheimer's disease. *Mol Neurobiol* 2010; **41**: 73-86
- 9 Farooqui AA, Horrocks LA, Farooqui T. Modulation of inflammation in brain: a matter of fat. *J Neurochem* 2007; **101**: 577-599
- 10 Yates CM, Tull SP, Madden J, *et al.* Docosahexaenoic acid inhibits the adhesion of flowing neutrophils to cytokine stimulated human umbilical vein endothelial cells. *J Nutr* 2011; **141**: 1331-1334
- 11 Xu Z-Z, Zhang L, Liu T, *et al.* Resolvins RvE1 and RvD1 attenuate inflammatory pain via central and peripheral actions. *Nat Med* 2010; **16**: 592-597, 1p following 597
- 12 Tian H, Lu Y, Sherwood AM, *et al.* Resolvins E1 and D1 in choroid-retinal endothelial cells and leukocytes: biosynthesis and mechanisms of anti-inflammatory actions. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2009; **50**: 3613-3620
- 13 van Bussel BCT, Henry RMA, Schalkwijk CG, *et al.* Fish consumption in healthy adults is associated with decreased circulating biomarkers of endothelial dysfunction and inflammation during a 6-year follow-up. *J Nutr* 2011; **141**: 1719-1725
- 14 Siddiqui RA, Harvey KA, Ruzmetov N, *et al.* n-3 fatty acids prevent whereas *trans*-fatty acids induce vascular inflammation and sudden cardiac death. *Br J Nutr* 2009; **102**: 1811-1819
- 15 Richard D, Wolf C, Barbe U, *et al.* Docosahexaenoic acid down-regulates endothelial Nox 4 through a sPLA2 signalling pathway. *Biochem Biophys Res Commun* 2009; **389**: 516-522
- 16 Schaefer MB, Wenzel A, Fischer T, *et al.* Fatty acids differentially influence phosphatidylinositol 3-kinase signal transduction in endothelial cells: impact on adhesion and apoptosis. *Atherosclerosis* 2008; **197**: 630-637
- 17 Khalfoun B, Thibault F, Watier H, *et al.* Docosahexaenoic and eicosapentaenoic acids inhibit in vitro human endothelial cell production of interleukin-6. *Adv Exp Med Biol* 1997; **400B**: 589-597
- 18 Bousserouel S, Brouillet A, Béréziate G, *et al.* Different effects of n-6 and n-3 polyunsaturated fatty acids on the activation of rat smooth muscle cells by interleukin-1 beta. *J Lipid Res* 2003; **44**: 601-611
- 19 Delbosc S, Glorian M, Le Port A-S, *et al.* The benefit of docosahexanoic acid on the migration of vascular smooth muscle cells is partially dependent on Notch regulation of MMP-2/-9. *Am J Pathol* 2008; **172**: 1430-1440
- 20 Chen H, Li D, Chen J, *et al.* EPA and DHA attenuate ox-LDL-induced expression of adhesion molecules in human coronary artery endothelial cells via protein kinase B pathway. *J Mol Cell Cardiol* 2003; **35**: 769-775
- 21 De Caterina R, Libby P. Control of endothelial leukocyte adhesion molecules by fatty acids. *Lipids* 1996; **31 Suppl**: S57-63

- 22 Kim T-K, Lee J-E, Park S-K, *et al.* Analysis of differential plaque depositions in the brains of Tg2576 and Tg-APPswe/PS1dE9 transgenic mouse models of Alzheimer disease. *Exp Mol Med* 2012; **44**: 492-502
- 23 Shin HK, Jones PB, Garcia-Alloza M, *et al.* Age-dependent cerebrovascular dysfunction in a transgenic mouse model of cerebral amyloid angiopathy. *Brain J Neurol* 2007; **130**: 2310-2319
- 24 Robbins EM, Betensky RA, Domnitz SB, *et al.* Kinetics of cerebral amyloid angiopathy progression in a transgenic mouse model of Alzheimer disease. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* 2006; **26**: 365-371
- 25 Wilcock DM, Gordon MN, Morgan D. Quantification of cerebral amyloid angiopathy and parenchymal amyloid plaques with Congo red histochemical stain. *Nat Protoc* 2006; **1**: 1591-1595
- 26 Yan P, Zhu A, Liao F, *et al.* Minocycline reduces spontaneous hemorrhage in mouse models of cerebral amyloid angiopathy. *Stroke* 2015; **46**: 1633-1640
- 27 Blaise R, Mateo V, Rouxel C, *et al.* Wild-type amyloid beta 1-40 peptide induces vascular smooth muscle cell death independently from matrix metalloprotease activity. *Ageing Cell* 2012; **11**: 384-393
- 28 Mateo V, Ménager M, de Saint-Basile G, *et al.* Perforin-dependent apoptosis functionally compensates Fas deficiency in activation-induced cell death of human T lymphocytes. *Blood* 2007; **110**: 4285-4292
- 29 Winkler DT, Bondolfi L, Herzig MC, *et al.* Spontaneous hemorrhagic stroke in a mouse model of cerebral amyloid angiopathy. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* 2001; **21**: 1619-1627
- 30 Fryer JD, Taylor JW, DeMattos RB, *et al.* Apolipoprotein E markedly facilitates age-dependent cerebral amyloid angiopathy and spontaneous hemorrhage in amyloid precursor protein transgenic mice. *J Neurosci Off J Soc Neurosci* 2003; **23**: 7889-7896
- 31 Chen Y-W, Gurol ME, Rosand J, *et al.* Progression of white matter lesions and hemorrhages in cerebral amyloid angiopathy. *Neurology* 2006; **67**: 83-87
- 32 Wada M, DeLong CJ, Hong YH, *et al.* Enzymes and receptors of prostaglandin pathways with arachidonic acid-derived *versus* eicosapentaenoic acid-derived substrates and products. *J Biol Chem* 2007; **282**: 22254-22266
- 33 Norris PC, Dennis EA. Omega-3 fatty acids cause dramatic changes in TLR4 and purinergic eicosanoid signaling. *Proc Natl Acad Sci* 2012; **109**: 8517-8522
- 34 Gupta S, Kihara Y, Maurya MR, *et al.* Computational modeling of competitive metabolism between ω 3- and ω 6-polyunsaturated fatty acids in inflammatory macrophages. *J Phys Chem B* 2016; **120**: 8346-8353
- 35 Wang X, Hjorth E, Vedin I, *et al.* Effects of n-3 FA supplementation on the release of proresolving lipid mediators by blood mononuclear cells: the OmegAD study. *J Lipid Res* 2015; **56**: 674-681
- 36 Serini S, Bizzarro A, Piccioni E, *et al.* EPA and DHA differentially affect *in vitro* inflammatory cytokine release by peripheral blood mononuclear cells from Alzheimer's patients. *Curr Alzheimer Res* 2012; **9**: 913-923
- 37 Vedin I, Cederholm T, Freund-Levi Y, *et al.* Reduced prostaglandin F_{2α} release from blood mononuclear leukocytes after oral supplementation of ω 3 fatty acids: the OmegAD study. *J Lipid Res* 2010; **51**: 1179-1185
- 38 Dalli J, Zhu M, Vlasenko NA, *et al.* The novel 13S,14S-epoxy-maresin is converted by human macrophages to maresin 1 (MaR1), inhibits leukotriene A4 hydrolase (LTA4H), and shifts macrophage phenotype. *FASEB J* 2013; **27**: 2573-2583
- 39 Luo M, Jones SM, Phare SM, *et al.* Protein kinase A inhibits leukotriene synthesis by phosphorylation of 5-lipoxygenase on serine 523. *J Biol Chem* 2004; **279**: 41512-41520
- 40 Ye Y, Lin Y, Perez-Polo JR, *et al.* Phosphorylation of 5-lipoxygenase at ser523 by protein kinase A determines whether pioglitazone and atorvastatin induce proinflammatory leukotriene B4 or anti-inflammatory 15-epi-lipoxin a4 production. *J Immunol Baltim Md 1950* 2008; **181**: 3515-3523

- 41 Tai CC, Chen CY, Lee HS, *et al.* Docosahexaenoic acid enhances hepatic serum amyloid A expression via protein kinase A-dependent mechanism. *J Biol Chem* 2009; **284**: 32239-32247
- 42 Seung Kim HF, Weeber EJ, Sweatt JD, *et al.* Inhibitory effects of omega-3 fatty acids on protein kinase C activity *in vitro*. *Mol Psychiatry* 2001; **6**: 246-248
- 43 Praticò D, Zhukareva V, Yao Y, *et al.* 12/15-Lipoxygenase is increased in Alzheimer's disease. *Am J Pathol* 2004; **164**: 1655-1662
- 44 Miguel-Álvarez M, Santos-Lozano A, Sanchis-Gomar F, *et al.* Non-steroidal anti-inflammatory drugs as a treatment for Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis of treatment effect. *Drugs Aging* 2015; **32**: 139-147
- 45 Kondreddy VKR, Kamatham AN. Celecoxib, a COX-2 inhibitor, synergistically potentiates the anti-inflammatory activity of docosahexaenoic acid in macrophage cell line. *Immunopharmacol Immunotoxicol* 2016; **38**: 153-161
- 46 Oksman M, Iivonen H, Högberg E, *et al.* Impact of different saturated fatty acid, polyunsaturated fatty acid and cholesterol containing diets on beta-amyloid accumulation in APP/PS1 transgenic mice. *Neurobiol Dis* 2006; **23**: 563-572
- 47 Hooijmans CR, Rutters F, Dederen PJ, *et al.* Changes in cerebral blood volume and amyloid pathology in aged Alzheimer APP/PS1 mice on a docosahexaenoic acid (DHA) diet or cholesterol enriched typical western diet (TWD). *Neurobiol Dis* 2007; **28**: 16-29
- 48 Hooijmans CR, Van der Zee CEEM, Dederen PJ, *et al.* DHA- and cholesterol-containing diets influence Alzheimer-like pathology, cognition and cerebral vasculature in APP^{swe}/PS1^{dE9} mice. *Neurobiol Dis* 2009; **33**: 482-498
- 49 Sutcliffe JG, Hedlund PB, Thomas EA, *et al.* Peripheral reduction of β -amyloid is sufficient to reduce brain β -amyloid: implications for Alzheimer's disease. *J Neurosci Res* 2011; **89**: 808-814
- 50 Nagasawa K, Kakuda T, Higashi Y, *et al.* Possible involvement of 12-lipoxygenase activation in glucose-deprivation/reload-treated neurons. *Neurosci Lett* 2007; **429**: 120-125
- 51 Lebeau A, Terro F, Rostene W, *et al.* Blockade of 12-lipoxygenase expression protects cortical neurons from apoptosis induced by β -amyloid peptide. *Cell Death Differ* 2004; **11**: 875-884
- 52 Lebeau A, Esclaire F, Rostène W, *et al.* Baicalein protects cortical neurons from beta-amyloid (25-35) induced toxicity. *Neuroreport* 2001; **12**: 2199-2202
- 53 Somjen D, Kohen F, Limor R, *et al.* Estradiol-17 β increases 12- and 15-lipoxygenase (type2) expression and activity and reactive oxygen species in human umbilical vascular smooth muscle cells. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2016; **163**: 28-34
- 54 Reynolds MR, Singh I, Azad TD, *et al.* Heparan sulfate proteoglycans mediate A β -induced oxidative stress and hypercontractility in cultured vascular smooth muscle cells. *Mol Neurodegener* 2016; **11**
- 55 Chatterjee A, Sharma A, Chen M, *et al.* The pro-resolving lipid mediator maresin 1 (MaR1) attenuates inflammatory signaling pathways in vascular smooth muscle and endothelial cells. Sampson AP, ed. *PLoS ONE* 2014; **9**: e113480
- 56 Lee H-N, Surh Y-J. Resolvin D1-mediated NOX2 inactivation rescues macrophages undertaking efferocytosis from oxidative stress-induced apoptosis. *Biochem Pharmacol* 2013; **86**: 759-769
- 57 Jicha GA, Markesbery WR. Omega-3 fatty acids: potential role in the management of early Alzheimer's disease. *Clin Interv Aging* 2010; **5**: 45-61
- 58 de la Torre JC. Vascular risk factor detection and control may prevent Alzheimer's disease. *Ageing Res Rev* 2010; **9**: 218-225
- 59 Jellinger KA. Prevalence and impact of cerebrovascular lesions in Alzheimer and Lewy body diseases. *Neurodegener Dis* 2010; **7**: 112-115
- 60 Kalaria RN. Vascular basis for brain degeneration: faltering controls and risk factors for dementia. *Nutr Rev* 2010; **68 Suppl 2**: S74-87

Figure legends

Figure 1. Plasma concentrations of lipid mediators in Tg2576 fed a DHA-enriched or placebo diet. A. Analysis of docosahexaenoic acid (DHA; 22:6n-3) levels in the red blood cells of Tg2576 mice (at the ages of 14 and 18 months). DHA levels were analyzed by GC-MS method. This assay provided a quantitative analysis and the results are expressed in micrograms per milliliter of blood. **B-E.** Circulating arachidonic acid (AA, **B**), 8/12-hydroxyeicosatetraenoic acid (8/12-HETE, **C**), 11-HETE (**D**), 15-HETE (**E**), maresin-like-unknown 1 (**G**) and lipoxin-like unknown 2 (**H**) levels in plasma samples from 14- and 18-month-old Tg2576 mice. The results are expressed per milliliter of plasma. **F.** PGE₂ concentration in plasma samples of 14-month-old and 18-month-old Tg2576 mice. Groups were compared in Mann-Whitney tests for unpaired data. The values shown are means \pm SEM. *: $P < 0.05$; **: $P < 0.01$; ***: $P < 0.001$; ns: not significant.

Figure 2. β -amyloid plaques in the brain parenchyma and vessel walls of 14- and 18-month-old Tg2576 mice fed a DHA-enriched or placebo diet. A. Full acquisition (Nanozoomer) of a representative brain slide (bregma -1.69) obtained from 18-month-old Tg2576 mice fed a DHA-enriched or placebo diet. The whole brain structure is outlined, and the cell nuclei are stained with DAPI. Vessels and the A β -peptide were detected with antibodies against SM22 and A β peptide (BAM10), respectively. Bar = 500 μ m. **B-C.** Plaque area in the parenchyma (**B**) and cerebral vessel wall (**C**) in 10-, 14- and 18-month-old Tg2576 mice. The results are expressed as a ratio of parenchymal A β area to total brain area or as of the percentage of total vessel area occupied by vascular A β over total vessels area. The values shown are the mean plaque area calculated for the brain slices obtained for each mouse \pm SEM; white triangle: 10 months placebo; black triangle: 10 months DHA; white square: 14 months placebo; black square: 14 months DHA; white circle: 18 months placebo; black circle: 18 months DHA. Groups were compared in Mann-Whitney tests for unpaired data. **: $P < 0.01$; ***: $P < 0.001$; ns: not significant.

Figure 3. The DHA-enriched diet decreased the frequency of hemorrhage and the area associated with CAA. A. Full acquisition (Nanozoomer) of a representative brain slide (bregma -1.09) from 18-month-old Tg2576 mice fed a placebo diet. The whole brain structure is outlined, and the cell nuclei are stained with Fast Red. A β deposits and hemorrhages were detected by staining with Congo red and Prussian blue, respectively. Hemorrhage size is graded as follows: grade 1, 1-3 dots; grade 2, 3-10 dots; grade 3, >10 dots; images of grades 1 to 3 are provided at 10 x (grades 1 and 2) and 12.5 x (grade 3) higher magnifications. Gd: grade **B.** Hemorrhage area in 14- and 18-month-old Tg2576 mice. Arbitrary units: (area delineated by Prussian blue staining / total brain area) \times 100,000. **C.** Hemorrhage frequency in 14- and 18-month-old Tg2576 mice, defined as number of focal hemorrhages per cm². **D.** Correlation between vascular A β plaque area (plaque area / total brain area, y values) and hemorrhage area (x values) in 14- and 18-month-old Tg2576 mice. Groups are compared in Mann-Whitney tests for unpaired data. The values shown are means \pm SEM. *: $P < 0.05$; **: $P < 0.01$; ***: $P < 0.001$.

Figure 4. Correlation between lipid mediators and A β deposits in the vessel wall or hemorrhages. A-C. 8/12-HETE (**A**), 11-HETE (**B**), 15-HETE (**C**) versus vascular A β deposits in 14- and 18-month-old Tg2576 mice. **D-F.** 8/12-HETE (**D**), 11-HETE (**E**), 15-HETE (**F**) versus hemorrhage area in 14- and 18-month-old Tg2576 mice. White square: 14 months placebo; black square: 14 months DHA; white circle: 18 months placebo; black circle: 18 months DHA. The correlation was analyzed with Spearman's test for unpaired data. The Spearman correlation coefficient (r) is given in each panel.

Figure 5. A β ₁₋₄₀ peptide-induced vascular smooth muscle cell death is dependent on 12-LOX products. A-D. VSMCs treated (or not treated) for 48 h with 50 μ M A β ₁₋₄₀ peptide, with or without 100 μ M baicalein. **A.** qPCR results normalized relative to cyclophilin A levels. Scatter plots shown, with the means \pm SD calculated from 5 to 7 independent experiments. **B.** 12-HETE secretion. **C.** Representative dot plots of the numbers of apoptotic nuclei in VSMCs. SSC-A: Side-scattered light area. **D.** Percentage of total nuclei undergoing apoptosis. The values shown are the means \pm SD of 4

independent experiments. **A, B, D.** Groups were compared in Mann-Whitney tests for unpaired data. *** $P < 0.001$; ** $P < 0.01$; Ns: not significant.

Supplementary Figure 1. *In vivo* protocol. Cerebrovascular and parenchymal amyloid deposits appear at the age of 9-10 months, and are maximal at ages of 16 to 18 months. Hemorrhages appear at about 12 months and are maximal between 16 and 18 months. Tg2576 mice were killed at the ages of 10 (40 weeks), 14 (56 weeks) and 18 (72 weeks) months, for the quantification of amyloid deposits in the cerebral parenchyma and vessels, hemorrhages and lipid mediators. The fish aroma i.e. "placebo" was gradually introduced into dry food during the three weeks following weaning (period of adaptation). 0.5 ml/kg placebo ~ 33% the maximum value for DHA-free placebo; 1 ml/kg placebo ~ 66 % the maximum value of DHA-free placebo; 1.6 ml/kg = final value for DHA-free placebo. At the end of the adaptation period (seven weeks), the placebo contained 0 or 55% DHA.

Supplementary Figure 2. Food intake

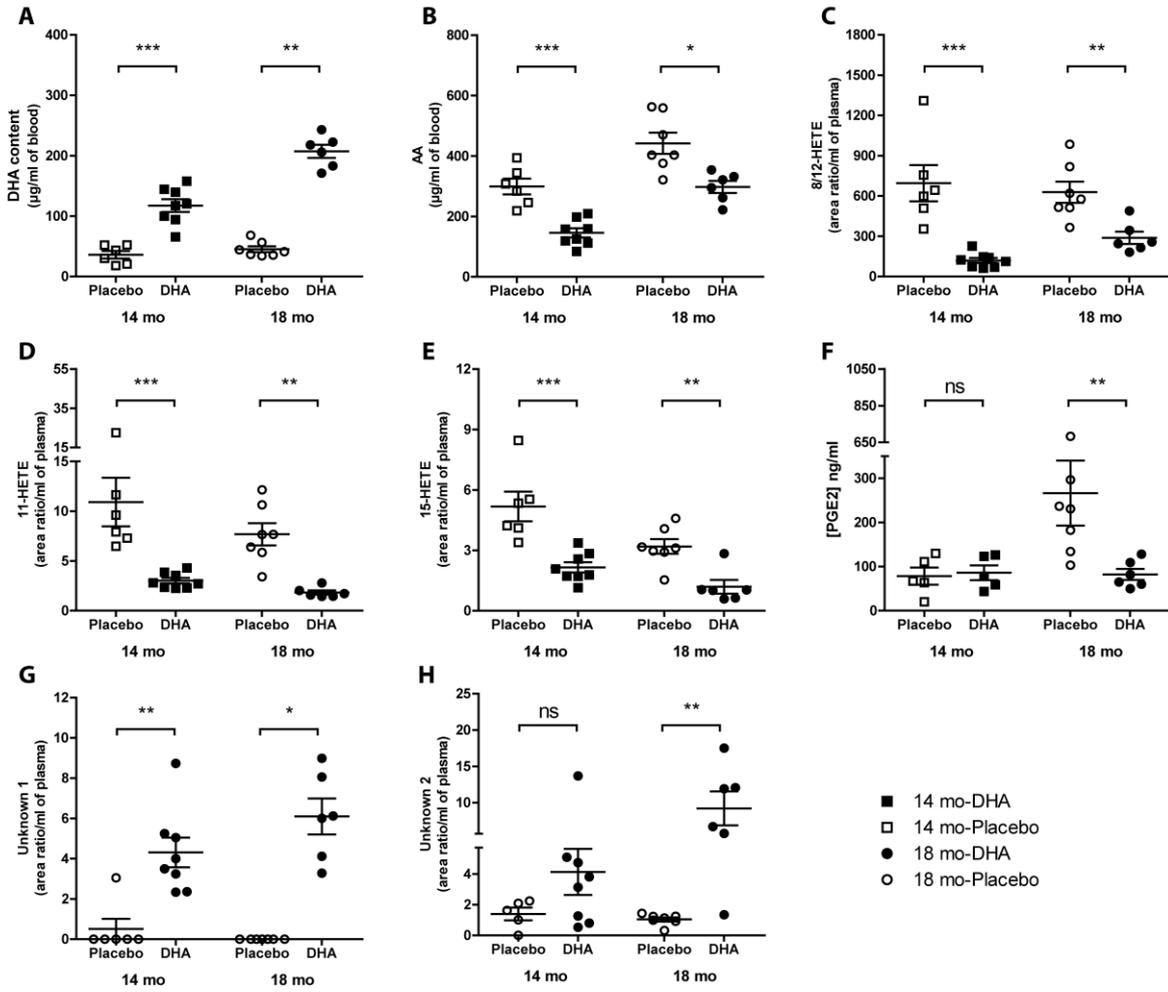


Figure 1.

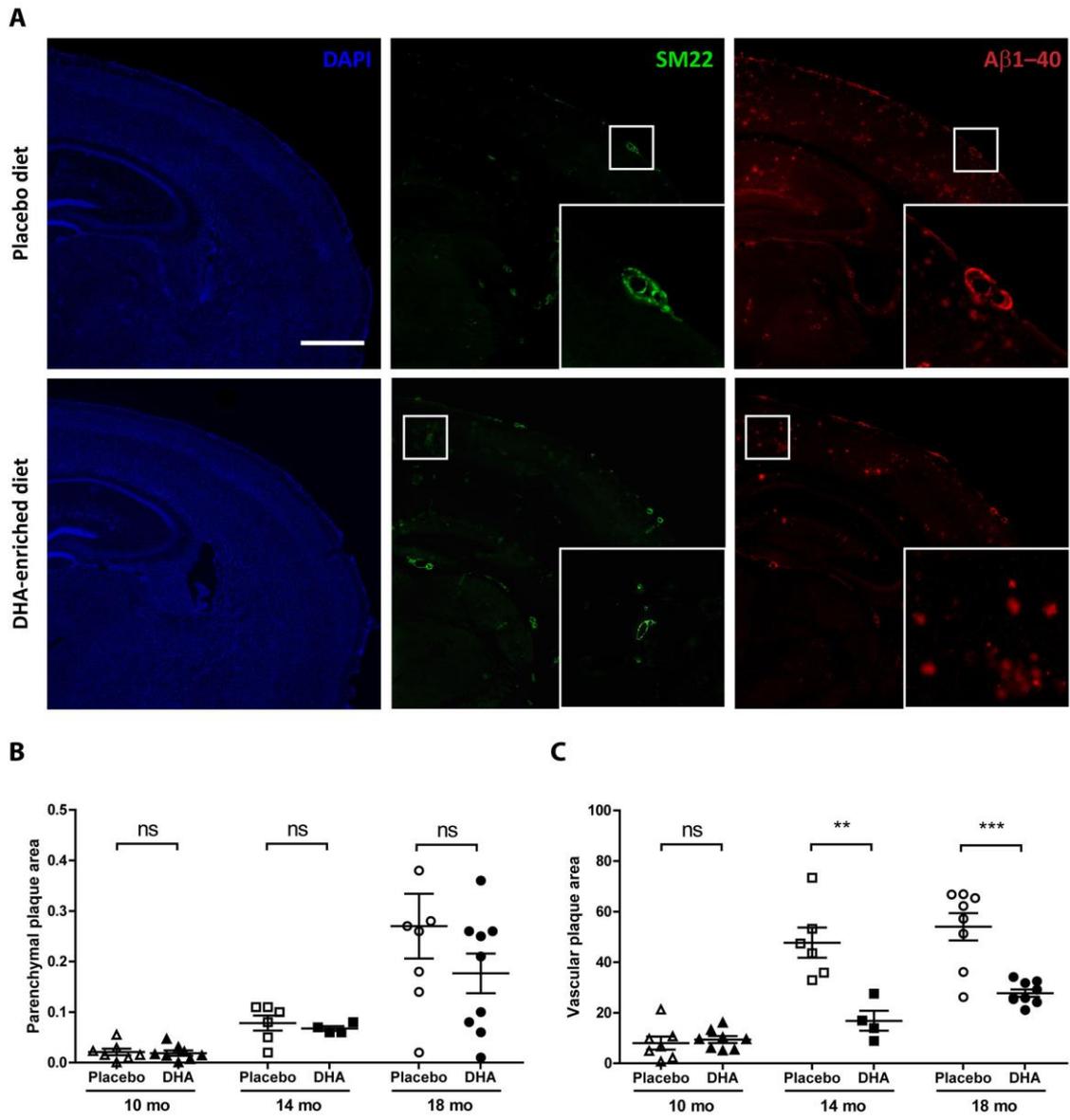


Figure 2.

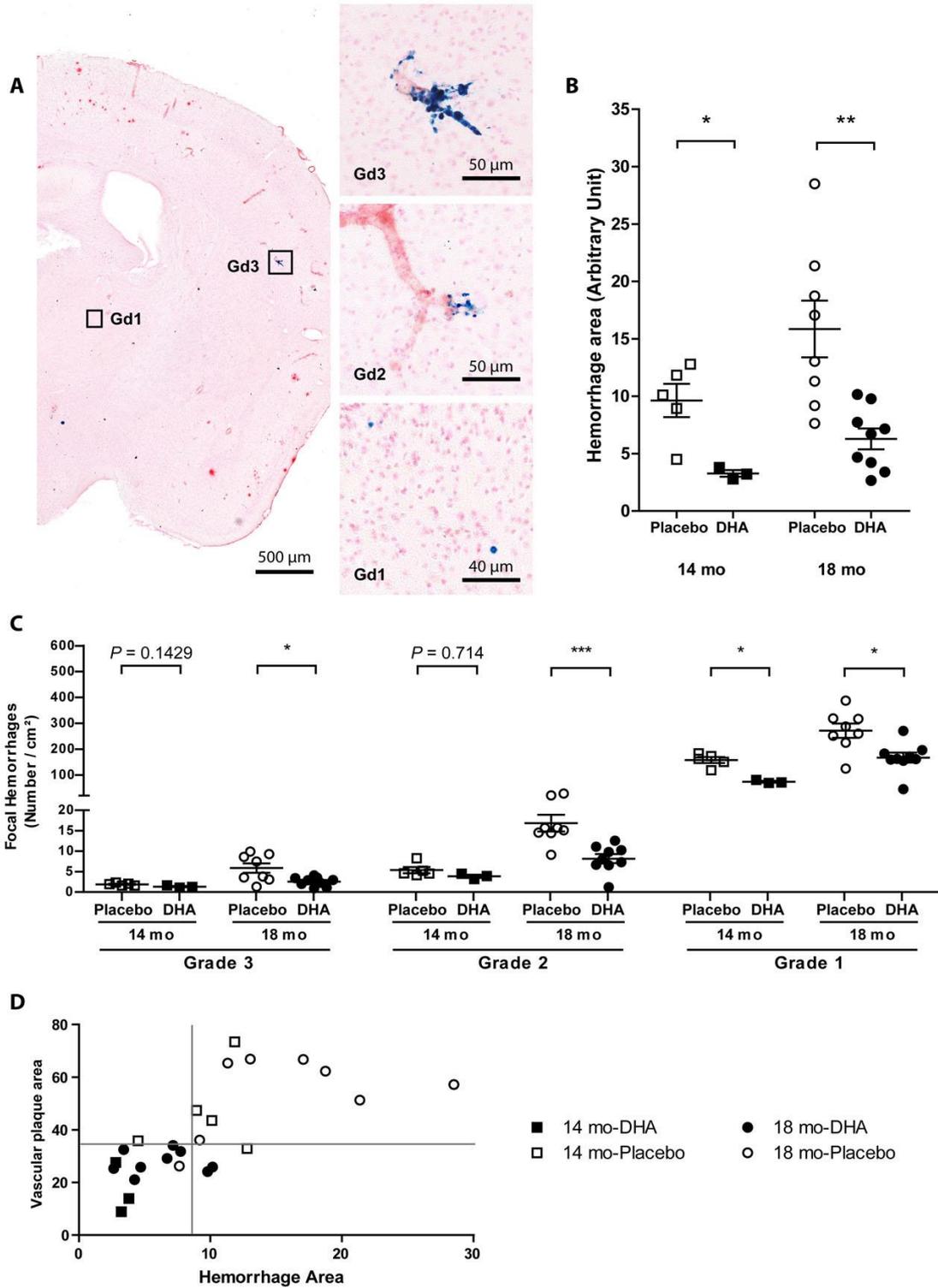


Figure 3.

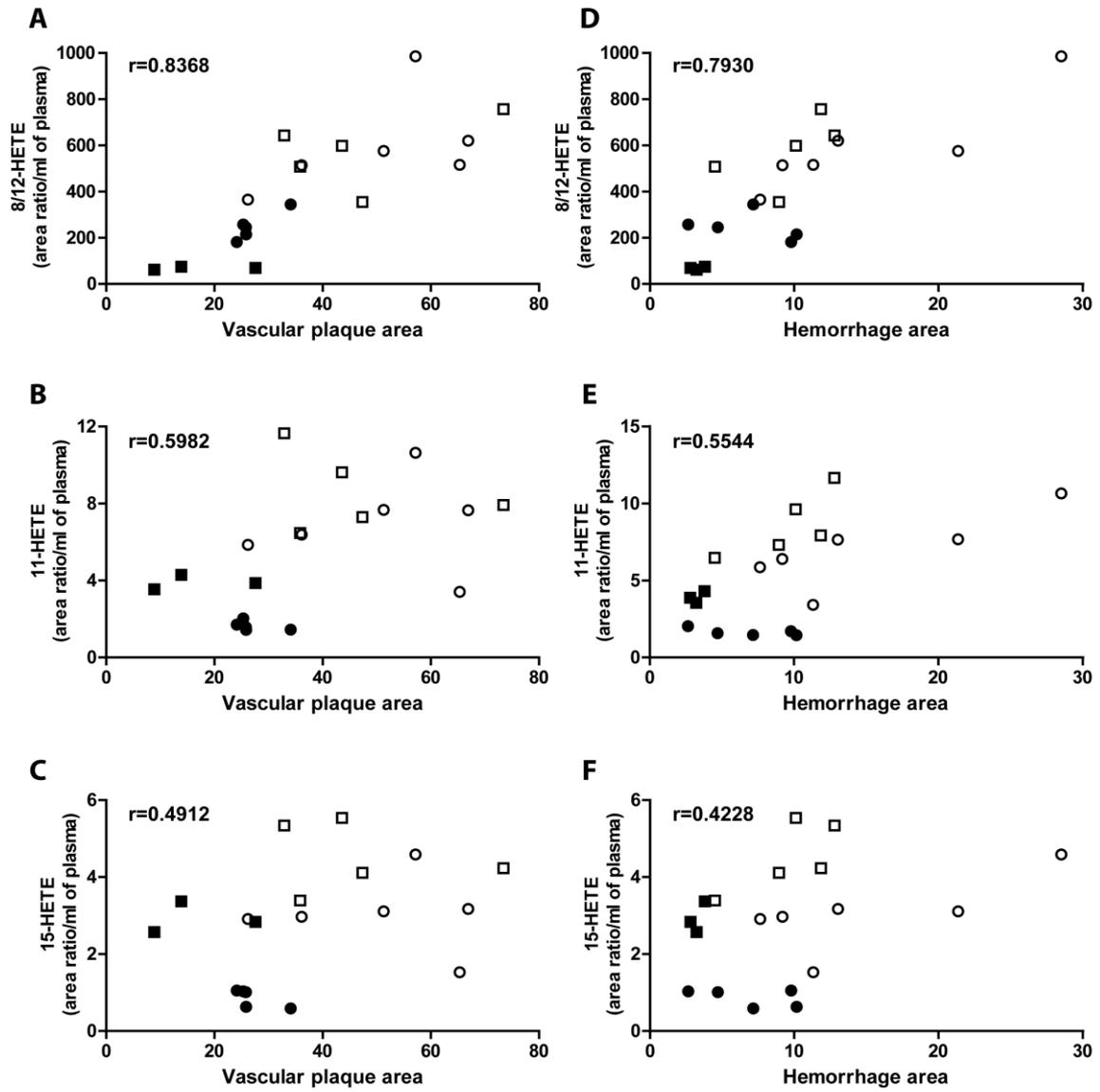


Figure 4.

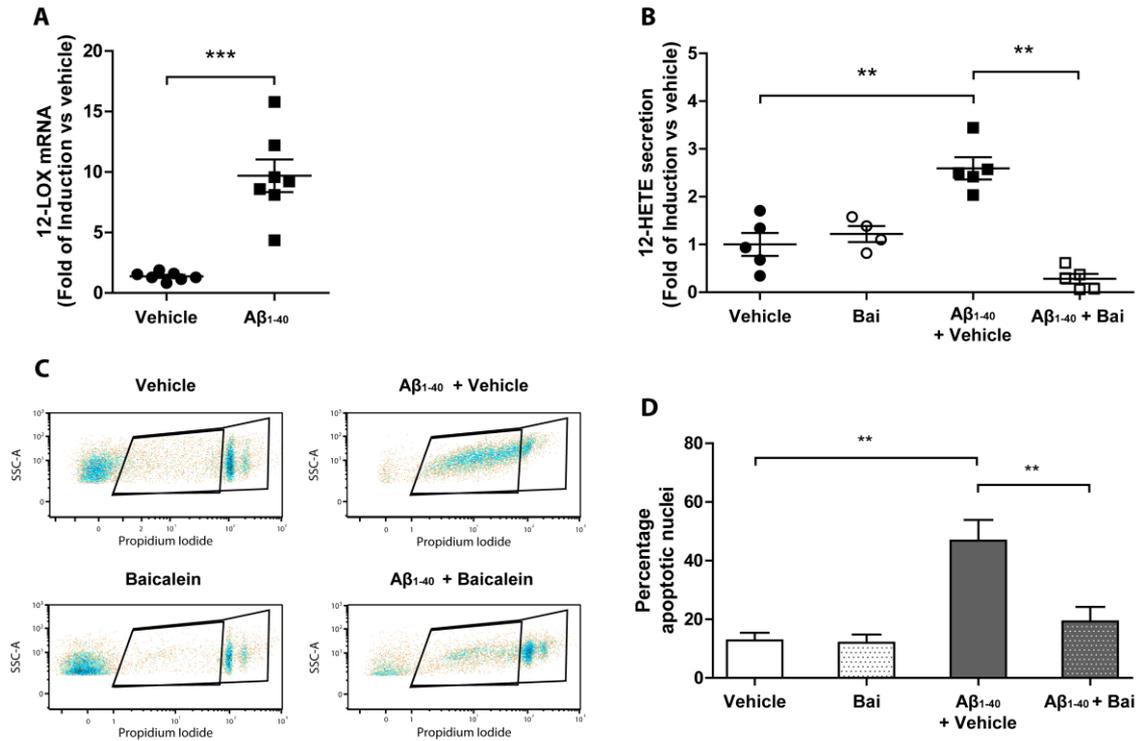
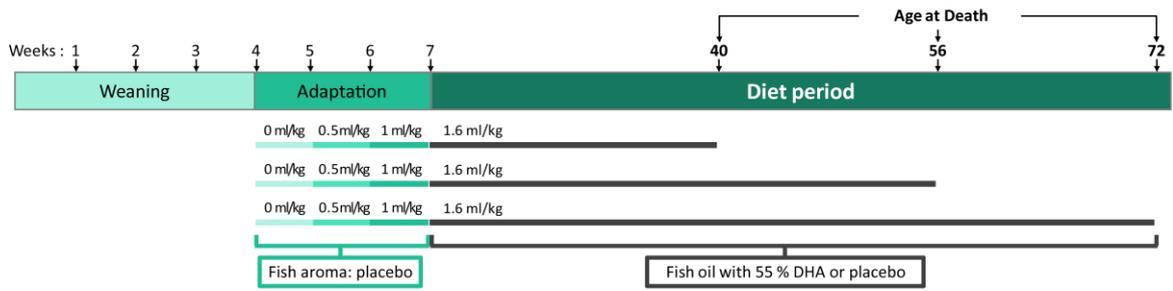
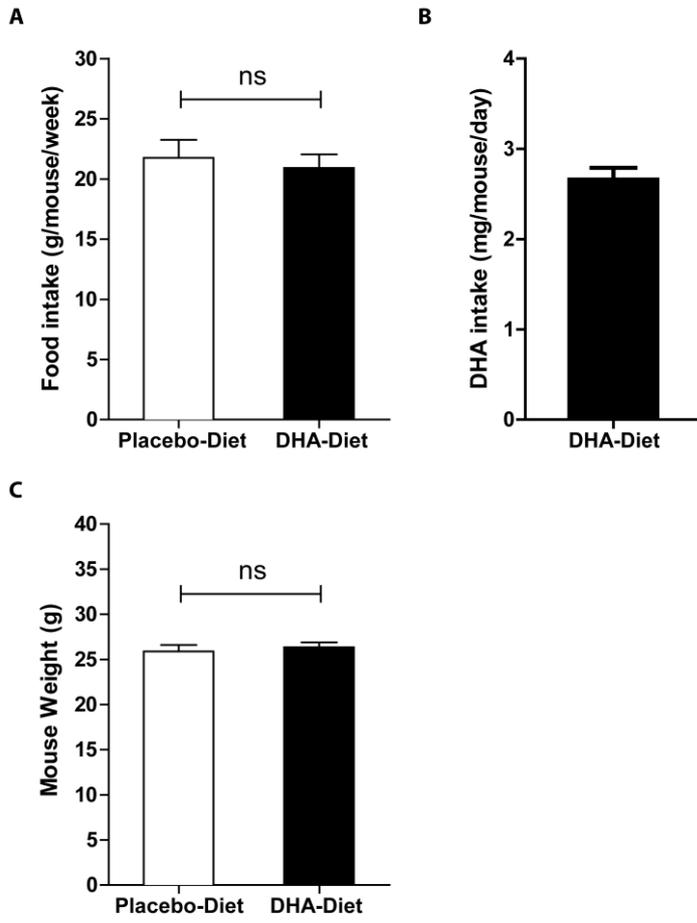


Figure 5.



Supplementary Figure 1.



Supplementary Figure 2.

Supplementary material

DHA-enriched diet

DHA was incorporated into dry food in fish oil, at a final concentration of 1.1 g of DHA/kg of dry food. Post-production analysis yielded a DHA content of 0.9 g per kg of dry food. Daily DHA intake reached 2.66 mg per mouse (**Supplementary Figure 2**). The DHA content of the dry food was calculated based on a dry-food intake of $21.3 \text{ g} \pm 1.07 \text{ g}$ per week. The placebo diet consisted of dry food supplemented with fish aroma. We avoided the problem of food intake being disturbed by the addition of placebo, by gradually modifying the food during the month after weaning (period of adaptation), by adding increasing doses of placebo, as described in **Supplementary Figure 1**: after weaning, mice were fed a normal diet for one week, with a diet containing 33% (~0.5 ml/kg of dry food) the maximum amount of placebo without DHA for one week and, finally, 66% (~1 ml/kg of dry food) placebo without DHA for one week. The mice were then randomly assigned to one of the two study groups (DHA-enriched diet or placebo diet group). Blood samples were collected from mice under anesthesia, and were stored at +4°C until use.

Biolipid exploration

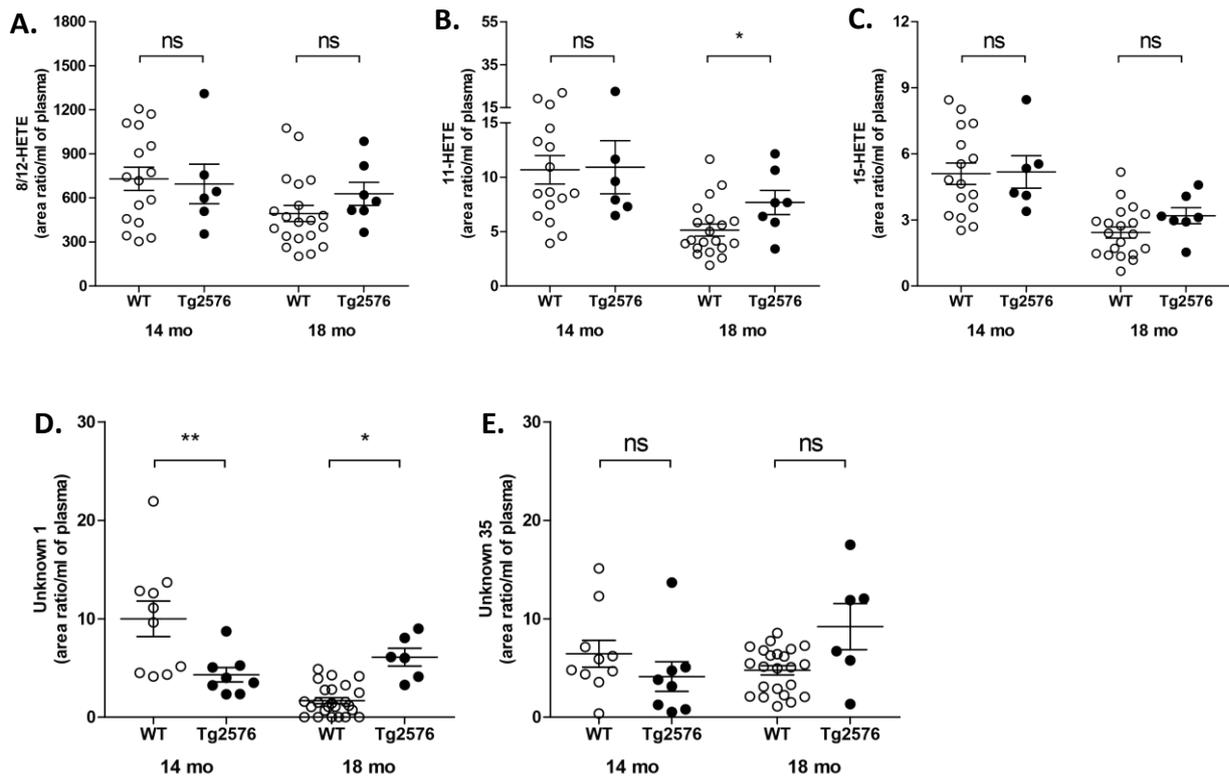
Red blood cells were isolated from the blood by centrifugation ($1500 \times g$ for 15 min at 4°C). Fatty acids, including DHA and AA (20:4 n-6) in particular, were converted to the corresponding methyl esters by incubation with 3N HCl in methanol. The fatty acid methyl esters were then extracted in n-hexane and analyzed on an Agilent 7890A gas chromatograph equipped with a 30 m SLB-IL111 fused silica capillary with a film thickness of 0.2 μm , coupled to an Agilent 5975C mass spectrometer. Gas chromatography was temperature-controlled. The injection port temperature was 250°C. The detector port temperature was 255°C and the carrier gas was helium, with a flow rate of 1.5 ml/min and a split ratio of 10:1. The injection volume was 2 μl and the fatty acids were identified with MS Database.

Assay of eicosanoids in plasma

Blood samples were centrifuged at $1500 \times g$ for 15 min at 4°C. Internal standards (IS) were then added to 90 μl of plasma and the mixture was diluted with acidified water (0.1% formic acid) to a final volume of 1 ml. The diluted supernatant was loaded onto a Strata-X cartridge, and the bioactive lipid mediators were eluted in 2 ml of ethyl acetate. The sample was evaporated to dryness under nitrogen at room temperature and reconstituted with 50 μl of methanol for injection. Eicosanoids were separated with an elution gradient of acetonitrile/0.1% formic acid (v/v) and water/0.1% formic acid (v/v), at a flow rate of 1 mL/min, on a C18 column. Electrospray ionization (ESI) mass spectra were acquired by negative ionization and selective ion monitoring. Eicosanoid content was estimated by determining analyte response factors (peak area of analyte of interest/peak area of IS) per ml of plasma.

Reagent	Source
Pentobarbital	Ceva Corporation (Libourne, France)
Mouse dry food	Altromin (Lage, Germany) <i>Special diet C1000 modified</i>
Paraformaldehyde	Electron Microscopy Sciences (Hatfield, England)
Eukitt	Dominique Dutscher (Brumath, France)
Mowiol	Biovalley (Nanterre, France)
Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM)	Sigma-Aldrich (Saint Quentin Fallavier, France)
Type I collagen from calf skin	
Glutamine	
Penicillin,	
Streptomycin	
Fatty acid-free bovine serum albumin	
Fetal calf serum	Gibco BRL (Cergy Pontoise, France)
Collagenase	Roche Diagnostics (Meylan, France)
Elastase	
Protease inhibitors	
LightCycler-DNA Master Plus SYBR Green	MWG Biotech AG (Courtaboeuf, France)
Oligonucleotides	
RNeasy Mini kit	Qiagen (Courtaboeuf, France)
RT-MMLV	Invitrogen (Cergy Pontoise, France)
Wild-type amyloid β 1-40 peptide	GeneCust (Dudelange, Luxembourg) <i>Analyzed by HPLC and mass spectrometry, with a purity of 94% to 98%</i>
PGE2 enzyme immunoassay kit	Cayman Chemical SPI-BIO (Massy, France)
Baicalein	

Supplementary Table 1. List of reagents and suppliers



Résultats additionnels, Figure 1. Concentrations plasmatiques des médiateurs lipidiques chez les Tg2576 et les souris sauvages. **A.** Niveaux plasmatiques de l'acide 8/12-hydroxyeicosatetraenoïque (8/12-HETE, **A**), 11-HETE (**B**), 15-HETE (**C**), de type marésines - unknown 1 (**D**) et de type lipoxines - unknown 35 (**E**) des souris de 14 et 18 mois Tg2576 et sauvages. Les groupes sont comparés avec un test de Mann-Whitney pour des données non-appariées. Les valeurs sont les moyennes \pm erreur type. *: $P < 0.05$; **: $P < 0.01$; ns: not significant.

Discussion

Le développement de l'AAC se caractérise par une dégénérescence progressive des cellules musculaires lisses de la paroi des vaisseaux cérébraux, consécutive aux dépôts amyloïdes ¹⁴¹. Cette dégénérescence fragilise les vaisseaux jusqu'à conduire, dans les cas les plus sévères, à des hémorragies cérébrales ¹³². En accord avec ces données nous observons, chez les souris Tg2576, **une corrélation positive entre la charge amyloïde des vaisseaux du cortex et de l'hippocampe et le nombre de foyers hémorragiques** présents dans ces régions du cerveau, que les souris soient âgées de 14 ou de 18 mois (**Publication n°1, Figure 3D**).

Nos résultats sont en accord avec ceux décrits par plusieurs études utilisant d'autres souris transgéniques montrant que l'accumulation des dépôts de peptide A β dans les vaisseaux cérébraux sont associées aux hémorragies ^{467,468,202}. Au vu de ces résultats, nous soutenons l'hypothèse selon laquelle la charge amyloïde vasculaire pourrait être en partie directement responsable de ces altérations cérébro-vasculaires. En effet, Winkler et al. ont montré que l'accumulation du peptide A β était suffisante pour donner lieu à des hémorragies récurrentes chez les souris APP23 ⁴⁶⁷ ; et des résultats similaires ont été rapportés pour d'autres modèles de souris transgéniques surexprimant l'APP, comme les TgSwDI et les APPDutch ^{468,202}, qui développent des hémorragies spontanées en association avec des dépôts de peptide A β vasculaires. Ces résultats corroborent également ceux obtenus à partir des Tg2576 et PDAPP, dont l'inactivation du gène codant pour l'Apolipoprotéine E (ApoE), protéine impliquée dans l'accumulation de peptides A β vasculaires chez ces souris, empêche complètement les dépôts vasculaires et en conséquence les hémorragies ²¹⁰ ; indiquant que l'accumulation de peptide A β dans les vaisseaux puisse être directement responsable de l'apparition des hémorragies. D'après ces données, la diminution de l'accumulation de peptide A β au niveau vasculaire permettant la restauration de la BHE serait donc suffisante pour induire une diminution de l'apparition des hémorragies.

Cependant, on remarque également que **les deux paramètres mesurés** - à savoir la charge amyloïde et le nombre de foyers hémorragiques - **sont corrélés positivement aux niveaux systémiques à deux médiateurs lipidiques pro-inflammatoires**, le 12-HETE et le 11-HETE. (**Publication n°1, Figure 4A-E**).

Nous émettons l'hypothèse selon laquelle l'inflammation systémique relative aux dérivés circulants de l'acide arachidonique puisse influencer le développement des plaques amyloïdes des gros et moyens vaisseaux et donc l'homéostasie vasculaire. Bien que le mécanisme reste à déterminer, nous suggérons au regard de la littérature que ces dérivés pro-inflammatoires permettraient, dans un premier temps, le recrutement de cellules de l'immunité au sein de la paroi vasculaire par chimiotaxie. Cette première étape déclencherait une inflammation intra-pariétale qui, à proximité des plaques cérébro-vasculaires, serait potentialisée, entraînant une sur-inflammation et une surproduction de peptide A β de la part des CMLV, plongeant les cellules pariétales dans un cercle

vicieux fatal pour l'homéostasie vasculaire. Pour étayer cette hypothèse, il conviendrait de déterminer si une inflammation locale serait présente à proximité des plaques vasculaires.

En accord avec cette hypothèse, il a été démontré que le 12-HETE permet la chimiotaxie des neutrophiles ⁴⁶⁹, l'adhésion des monocytes aux cellules endothéliales ⁴⁷⁰, et l'extravasation des cellules mononucléaires circulantes ⁴⁷¹. De plus, les CMLV placées en contexte amyloïde i) sont hypersensibles à l'inflammation et décuplent l'inflammation pariétale en transitant vers un état super-inflammatoire ²⁷² et ii) initient l'accumulation locale de peptides A β 1-40 ¹⁴¹, en augmentant l'expression de l'APP, la production du peptide A β et en diminuant son élimination ^{472,473}. Il convient de noter cependant qu'il serait plus probable dans notre modèle de souris que l'inflammation puisse jouer un rôle sur la clairance du peptide A β plutôt que sur la production de celui-ci. En effet, les souris Tg2576 présentent une surproduction de peptide en raison de l'expression du transgène APP suédois avec un promoteur principalement neuronal et non vasculaire ; il est donc peu probable que l'inflammation puisse agir sur la production déjà très abondante de peptide.

Si l'inflammation a un rôle accélérateur sur l'accumulation de peptides A β au sein de la paroi vasculaire et participe de ce fait indirectement au développement de foyers hémorragiques associées à l'AAC, il se pourrait qu'elle ait également un effet direct sur ces hémorragies. En effet, Marottoli et al (2017) ont démontré *in vivo* que l'inflammation périphérique induit un dysfonctionnement cérébrovasculaire, notamment une augmentation de la perméabilité cérébrovasculaire et une diminution de l'épaisseur du mur artériel des vaisseaux dans le modèle de souris transgénique 5xFAD ⁴⁷⁴. En outre, Wojtasa et coll. (2017) démontrent que le modèle de souris APP/PS1 invalidée pour le gène codant CLU/ApoJ, une autre apolipoprotéine impliquée dans la clairance des peptides A β au niveau de la BHE, présente une diminution générale de l'inflammation associée à un nombre significativement inférieur de foyers hémorragiques malgré des dépôts amyloïdes vasculaires particulièrement importants ⁴⁷⁵. Pour autant, le mécanisme moléculaire par lequel l'inflammation aurait une influence directe et indépendante de l'accumulation du peptide A β sur l'altération vasculaire reste à déterminer.

L'ensemble de ces données tendrait à prouver que l'inflammation pourrait jouer un rôle direct sur le développement hémorragique de l'AAC.

La diminution systémique des dérivés lipidiques pro-inflammatoires associée à une alimentation enrichie en DHA pourrait ainsi diminuer l'accumulation de peptides A β 1-40 intrapariétale et, en conséquence, l'étendue des foyers hémorragiques. En effet, nous avons pu démontrer qu'une alimentation enrichie en DHA, chez les souris Tg2676, permet de diminuer significativement les médiateurs lipidiques pro-inflammatoires, comme le 11-, les 8/12-, le 15-HETE, et la PGE2 (**Publication n°1, Figure 1C-F**), l'étendue des plaques vasculaires (**Publication n°1, Figure 2C**) et l'apparition du nombre et de la surface des foyers hémorragiques (**Publication n°1, Figure 3B et C**).

Chez les souris soumises à une alimentation enrichie en DHA, outre la diminution des médiateurs pro-inflammatoires plasmatiques, on assiste à l'augmentation significative de deux médiateurs ayant des profils de type SPM (médiateurs spécialisés de la résolution de l'inflammation). L'un présente un profil en spectrométrie de masse comparable à celui d'une marésine (**Publication n°1, Figure 1G**), et l'autre à celui d'une lipoxine (**Publication n°1, Figure 1H**). Comme nous l'avons vu dans l'introduction les voies des ω -3 et des ω -6 sont en étroite concurrence du fait de l'utilisation des mêmes enzymes (**cf Figure 29 de l'introduction**). De ce fait, l'augmentation de l'incorporation du DHA dans les membranes cellulaires (**Publication n°1, Figure 1A**) chez les souris Tg2576 permet ainsi d'une part de diminuer les niveaux d'acide arachidonique membranaire (**Publication n°1, Figure 1B**) et de favoriser la libération du DHA par les PLA2. Elle contrecarre également l'utilisation de l'acide arachidonique par les LOX, pour favoriser celle du DHA et la production de médiateurs impliqués dans la résolution de l'inflammation. Ce réajustement de la balance entre les molécules pro-inflammatoires et résolutives de l'inflammation corrèle avec une diminution de dépôts amyloïdes cérébro-vasculaires et celle des foyers hémorragiques.

Ce changement de profil des médiateurs lipidiques de l'inflammation est en accord avec l'inhibition induite par les AGPI ω -3 du métabolisme de l'acide arachidonique impliquant les COX et les LOX, précédemment décrite⁴⁷⁶⁻⁴⁷⁸. Elles corroborent ce qui a été observé chez les patients atteints de la MA, recevant une supplémentation en AGPI ω -3^{479,480}. Au vu des propriétés des SPM (décrites dans l'introduction), ces médiateurs **pourraient favoriser la diminution des cellules inflammatoires sur le système cérébro-vasculaire et augmenter la réparation tissulaire**. Enfin, elles viennent renforcer l'intérêt croissant que suscitent ces molécules dans les pathologies amyloïdes, dans laquelle la résolution de l'inflammation cérébrale est altérée. Ces données pourraient expliquer l'échec des thérapies utilisant les anti-inflammatoires non stéroïdiens³⁰³⁻³⁰⁵ qui inhibent les cyclooxygénases et, de ce fait, le processus de résolution de l'inflammation induit par les SPM (**cf tableau 3 de l'introduction**).

En se basant sur les études montrant que la lipoxine LXA4 et la Marésine 1 améliorent le recrutement des cellules microgliales et l'absorption du peptide A β par celles-ci facilitant son élimination^{395,481}, nous pourrions même suggérer que ce type de thérapie favoriserait la polarisation des macrophages vers un phénotype anti-inflammatoire M2, et ainsi promouvoir l'élimination du peptide A β de la paroi vasculaire par ces cellules. Le maintien du peptide A β au sein de la paroi favoriserait sa production locale de la part des cellules endothéliales et/ou CMLV et empêcherait la régénération tissulaire nécessaire au recouvrement de l'homéostasie vasculaire. Si un tel processus se vérifiait, il soulignerait **le rôle crucial de la résolution de l'inflammation dans le maintien de l'homéostasie**

vasculaire en contexte amyloïde. En attendant, on notera que des améliorations cliniques significatives ont été observées après administration de LXA4 à des souris 3xTg-MA ⁴⁸².

Si la famille des marésines dérive du DHA, celle des lipoxines, elle, est issue de l'acide arachidonique. Aussi, était-il surprenant de voir la concentration plasmatique de l'un de ses membres augmenter chez les souris soumises à un régime riche en DHA (**Publication n°1, Figure 1H**). Cependant, la 12/15-LOX pourrait potentiellement subir une "commutation" similaire à celle décrite pour la 5-LOX, qui lui permet de produire des lipoxines à la place des leucotriènes. Bien qu'une telle régulation n'ait pas encore été démontrée pour les enzymes 12/15-LOX ^{483,484}, on soulignera le fait que le DHA puisse moduler la production et l'activité de la PKA ⁴⁸⁵ et d'autres protéines kinases impliquées dans ce processus de commutation ^{483,486}.

Si le ou les récepteurs des marésines restent inconnus, celui de certaines lipoxines a été identifié. Il est maintenant connu que la lipoxine LXA4 induit ces voies de signalisation pro-résolutrices via sa liaison avec une grande affinité avec le récepteur ALX/FPR2 (Formyl peptide receptor 2, **cf Figure 30 de l'introduction**) ⁴⁰⁰. Ce récepteur, exprimé dans de nombreux types cellulaires incluant les CMLV et les cellules endothéliales ⁴⁰⁷, a également été signalé comme un récepteur de nombreux autres médiateurs, en dehors de LXA4, et joue un double rôle selon le ligand impliqué dans son activation. En effet, une caractéristique importante du récepteur FPR2 est qu'il reconnaît à la fois les signaux pro-inflammatoires et les signaux de pro-résolution, déterminant ainsi en fonction de son ligand le cours de l'inflammation. Une variété de peptides déclenchant la signalisation pro-inflammatoire a été signalée pour lier ALX/FPR2 ⁴⁸⁷. Chez nos souris, l'apport alimentaire en DHA qui se traduit par une augmentation de lipoxines pourrait ainsi favoriser l'occupation de ce récepteur par la LXA4 et l'activation de voies de signalisation résolutives de l'inflammation. En faveur de cette hypothèse, plusieurs études démontrent qu'il existe chez les patients atteints de la MA un déséquilibre des agonistes endogènes des récepteurs ALX/FPR2 en faveur de ligands qui entrent en compétition avec les molécules anti-inflammatoires et pro-résolutrices de l'inflammation ^{395,432,433,488}.

Alors que les niveaux élevés du récepteur ALX/FPR2 sont détectés par les phagocytes mononucléaires entourant et infiltrant les plaques amyloïdes dans les tissus cérébraux des patients atteints de MA ⁴⁸⁸, FPR2 semble être un récepteur physiopathologiquement pertinent dans les réponses pro-inflammatoires médiées par le peptide A β puisqu'il peut être reconnu et activé par celui-ci ⁴⁸⁹. Le peptide A β 1-42 agit effectivement comme un agoniste de ALX/FPR2, qui participe à son internalisation et à son agrégation fibrillaire au sein des macrophages et des microglies, induisant l'apoptose de ces cellules ([ref](#)). En se liant au récepteur ALX/FPR2, le peptide A β oligomérique induit également une réponse inflammatoire de la part de cellules microgliales ⁴⁹⁰, et provoque une production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS en anglais) ³⁶. Si ce récepteur reconnaissait

également le peptide A β 1-40, on pourrait envisager que **la lipoxine LXA4 entre en compétition avec ce dernier tant au niveau des macrophages que des CMLV ou cellules endothéliales pour contrecarrer ses effets cellulaires toxiques.** En accord avec cette hypothèse, on citera les articles de Wu et coll. (2011) et de Medeiros et coll. (2013) qui mettent respectivement en évidence que l'injection cérébrale de LXA4 ou du 15-epi-LXA4 empêche la libération de cytokines pro-inflammatoires et l'activation de NF-kB induite par le peptide A β dans le cortex et l'hippocampe mais favorise celle d'IL-10 et de TGF- β chez les souris Tg2576 et les souris sauvages ayant eu une administration de peptide A β ^{491,481}.

La production de SPM par une alimentation enrichie en DHA est donc particulièrement pertinente pour cibler les récepteurs ALX/FPR2, sachant que la lipoxine s'agit du principal ligand de FPR2 ayant une grande affinité avec celui-ci, afin de résoudre l'inflammation persistante et de bloquer les effets toxiques du peptide A β .

Le DHA pourrait limiter l'accumulation de peptides A β vasculaire et ses conséquences hémorragiques en induisant un effet anti-inflammatoire, et ce, en interagissant avec des récepteurs, comme le GPR120 récepteur membranaire ou le récepteur nucléaire PPAR γ ⁴⁹². En effet, (i) le GPR120, qui reconnaît les acides gras polyinsaturés à longue chaîne, est exprimé par les macrophages, les cellules dendritiques, les adipocytes mais également les CMLV ⁴⁹³; (ii) l'activation de GPR120 par le DHA et l'EPA supprime les réponses inflammatoires dans plusieurs types cellulaires dont les CMLV ⁴⁹⁴. Concernant PPAR γ , en se liant à celui-ci, le DHA inhibe les réponses inflammatoires en bloquant l'activation de NF-kB, et la production de MMP-9 dans les CMLV. Cet effet est d'autant plus pertinent dans les CMLV « amyloïdes » dans lesquelles le peptide A β pré-active la voie NF-kB et potentialise la réponse inflammatoire notamment *via* la production de MMP9, pouvant être une des causes majeures de rupture de la paroi vasculaire ²⁷².

Comme nous l'avons montré, la concentration de DHA est augmentée dans les membranes d'érythrocytes issues des souris Tg2576 soumises à un régime riche en DHA (**Publication n°1, Figure 1A**). Outre son action *via* la production des SPM, le DHA incorporé au sein des phospholipides membranaires pourrait moduler le clivage de l'APP de telle sorte que la production de peptides A β s'en trouve diminuée. En effet, comme on l'a vu dans l'introduction, les chaînes d'acides gras du DHA présentent 6 doubles liaisons, désordonnant l'alignement des phospholipides, augmentant la fluidité des membranes et modifiant ainsi l'organisation, l'activité de regroupement et la signalisation des protéines ⁴⁹⁵. En accord avec ceci, l'incorporation de DHA facilite l'interaction de l' α -secrétase avec l'APP pour produire des fragments non toxiques et empêcher la formation de peptides A β et protège la séquence de reconnaissance et le site de clivage intramembranaire de la γ -secrétase. Par ailleurs, il inhibe directement la fibrillation et la formation d'espèces oligomères toxiques de peptides

A β ⁴⁹⁶⁻⁵⁰⁰. Cependant, chez les Tg2576, il semble peu probable que ce mécanisme joue un rôle important dans la diminution de l'accumulation des peptides A β au niveau cérébro-vasculaire. En effet, la double mutation Swedish est probablement trop efficace à favoriser le clivage de la β -sécrétase, pour être contrecarré par un taux de DHA membranaire augmenté. Cette observation serait donc plus pertinente dans le cas de pathologies amyloïdes sporadiques ; elle est d'autant plus pertinente que les patients atteints de la MA sporadique, présentent une diminution des niveaux de DHA dans les phospholipides qui rigidifie les membranes et favorise le mécanisme amyloïdogénique de l'APP⁵⁰¹.

Dans notre modèle de souris, nous avons observé que le niveau de 12-HETE plasmatique était celui qui représentait un plus fort coefficient de corrélation avec la charge de plaque amyloïde vasculaire et l'étendue des foyers hémorragiques en comparaison avec celui des deux autres dérivés de l'acide arachidonique (11- et 15-HETE, **Publication n°1 Figure 4**). Nous avons également montré qu'une incubation des CMLV d'aorte de rat en présence du peptide A β 1-40 induisait une augmentation de l'expression de la 12/15-LOX, l'enzyme qui hydrolyse l'acide arachidonique en 12-HETE (**Publication n°1 Figure 5A**) ; ceci se traduisant par une élévation de la concentration du 12-HETE dans le milieu de culture de ces cellules (**Publication n°1 Figure 5B**). Enfin, l'inhibition de cette enzyme réduit de plus de la moitié l'effet apoptotique du peptide A β 1-40 (**Publication n°1 Figure 5D**). **Etant donné que la dégénérescence de CMLV participe à l'altération vasculaire de l'AAC et l'apparition des hémorragies cérébrales, nous suggérons que l'action pro-apoptotique du 12-HETE puisse en être en partie responsable.**

Nos données sont corroborées par celles de nombreuses publications qui montrent l'altération de la voie de la 12/15-LOX dans la MA et dans les troubles ischémiques. On citera plus particulièrement celles de :

- Pratico et coll. (2004) qui en apportent la première preuve ; en effet, ils démontrent une augmentation de l'expression et de l'activité de cette enzyme dans le cortex frontal et temporal de patients MA analysé post-mortem ainsi que des niveaux de ses produits pro-inflammatoires (12 et 15-HETE)⁵⁰².
- Yang et coll. (2010) qui présentent des résultats similaires à ceux de Pratico et coll. mais chez des souris Tg2576 *ie* dans le même modèle murin que le nôtre⁵⁰³.
- Poloyac et coll. (2005) et Farias et coll. (2011) qui relèvent des niveaux élevés de 12-HETE dans le liquide céphalo-rachidien chez les patients présentant des lésions cérébrales traumatiques⁵⁰⁴, ou des hémorragies sub-arachnoïdes⁵⁰⁵.

Nos données sont également en accord avec celles de :

- Lebeau et coll. (2004) qui démontrent que l'inhibition de la 12/15-LOX -ici induite par une stratégie siRNA- bloque l'apoptose induite par le peptide A β 1-42 dans les neurones corticaux de rat ⁵⁰⁶.

- Pallast et coll., (2010) qui associent l'augmentation de l'expression du facteur inducteur d'apoptose (AIF) à celle de la 12/15-LOX dans des neurones de souris ⁵⁰⁷.

L'effet délétère d'une dérégulation de la voie impliquant la 12/15-LOX au niveau cérébro-vasculaire est étayée par l'étude de Leyen et coll. (2006), dans un modèle murin d'ischémie cérébrale transitoire. En effet, elle montre d'une part que la 12/15-LOX est augmentée dans la zone entourant l'infarctus primaire et, d'autre part, que l'inhibition de cette enzyme par injection intrapéritonéale de la baicaleine protège les territoires en aval de cette ischémie. Un degré similaire de protection est observé chez les souris invalidées pour le gène codant la 12/15-LOX ⁵⁰⁸. En outre, ces résultats démontrent un lien de cause à effet entre le stress oxydatif et l'activation de la 12/15-LOX à l'origine d'un processus apoptotique. Sur la base de ces résultats, nous proposons que l'apoptose des CMLV induite par le peptide A β 1-40 et dépendante des produits pro-inflammatoires de la 12/15-LOX soit la conséquence de l'induction par ce peptide d'un stress oxydatif. Si cette hypothèse s'avère correcte, le DHA pourrait prévenir la mort des CMLV en limitant la production de ROS, *via* l'inhibition de la NADPH-oxidase par la marésine et la résolvine ^{509,510}.

L'importance de la dérégulation de la 12/15-LOX dans les pathologies amyloïdes est telle que plusieurs publications suggèrent l'inhibition de cette enzyme comme thérapie.

Cependant, la 12/15-LOX génère aussi bien des médiateurs pro-inflammatoires que des lipoxines, marésines et protectines participant à la résolution de l'inflammation. **Aussi, le blocage de la 12/15-LOX ne semble pas être une perspective envisageable puisqu'elle condamne les tissus à échouer un retour vers l'homéostasie en les empêchant d'amorcer la résolution de l'inflammation.** Cette remarque s'appuie notamment sur une étude réalisée dans deux modèles de souris d'arthrite, maladie inflammatoire chronique, qui démontre que l'inactivation du gène de la 12/15-LOX conduit à une inflammation incontrôlée associée à des lésions tissulaires. Cette inflammation exacerbée résulte d'une augmentation de l'expression de gènes inflammatoires mais également d'une diminution de la concentration plasmatique de lipoxines. En outre, les macrophages déficients en 12/15-LOX affichent un niveau significativement réduit de lipoxines, corrélé à une augmentation de l'expression de gènes inflammatoires ⁵¹¹ ; la conversion du DHA en 14-HpDHA, le précurseur de la marésine 1, est également considérablement réduite ⁵¹². En revanche, l'hyperactivité pathologique de la 12/15-LOX observée chez les patients atteints de l'AAC et/ou MA ^{434,435} peut être mise à profit par un apport exogène en AGPI ω -3. En effet, il devrait permettre, non seulement de réduire l'inflammation liée à l'accumulation de peptides A β mais également, et surtout, d'amplifier et/ou rétablir le processus de résolution de l'inflammation. Le métabolisme du DHA dans le cas de la MA et/ou CAA est résumé dans le schéma ci-dessous (Figure 32).

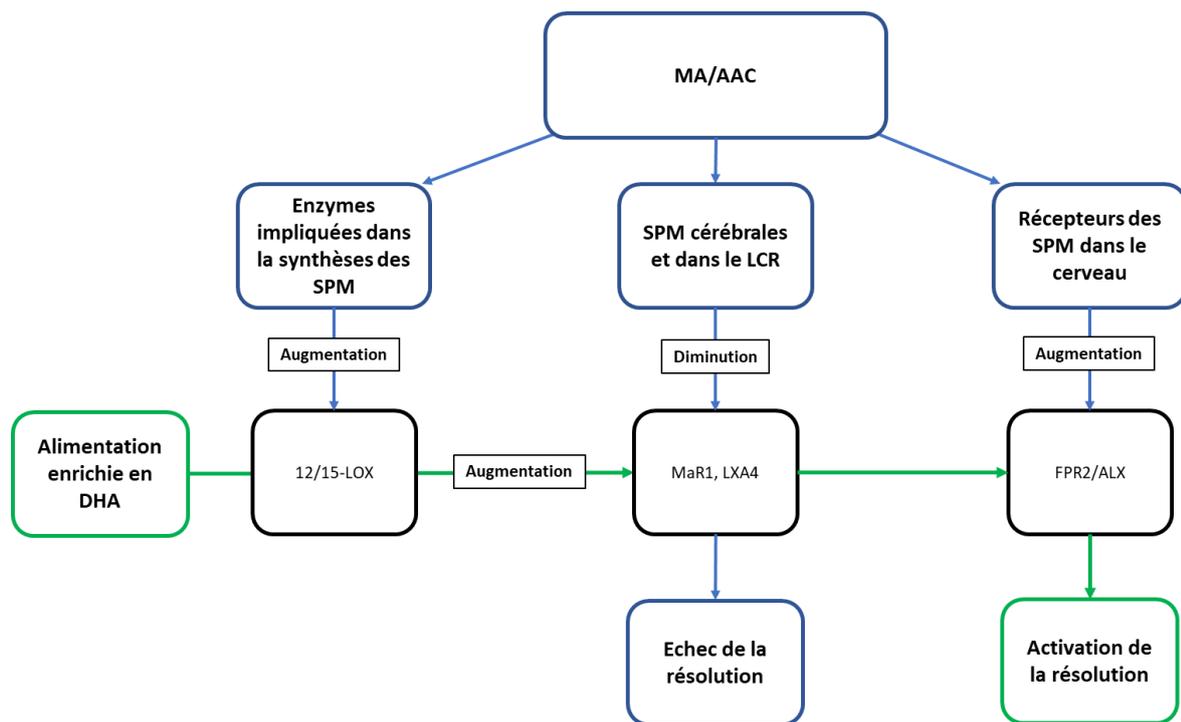


Figure 32. Schéma représentant l'effet du DHA sur la résolution de l'inflammation dans le contexte de la Maladie d'Alzheimer et de l'AAC.

Les patients atteints de la MA/AAC présentent une augmentation des récepteurs des SPM (comme FRP2/ALX) et des enzymes permettant leur synthèse (comme la 12/15-LOX) dans leur cerveau. L'augmentation de ces enzymes ne permet pourtant pas d'augmenter les niveaux des dérivés pro-résoluteurs, qui se retrouvent diminués (marésine 1 - MaR1, et lipoxine A4 - LXA4), résultant en un échec de la résolution de l'inflammation. L'apport de DHA alimentaire permettrait de restaurer les niveaux des SPM grâce à l'action des LOX, favorisant in fine leur liaison à leurs récepteurs permettant ainsi d'initier la résolution de l'inflammation et le retour à l'homéostasie des tissus cérébral et cérébro-vasculaire lésés.

Dans notre modèle et conditions expérimentales, si l'alimentation enrichie en DHA réduit très significativement l'accumulation de peptides amyloïde au sein de la paroi des gros et moyens vaisseaux du cortex et l'hippocampe au cours du vieillissement (**Publication n°1, Figure 2A**), elle n'a aucun effet sur l'évolution des plaques parenchymateuses (**Publication n°1, Figure 2B**). Notre étude permet donc, et ce pour la première fois, de mettre en évidence que l'effet du DHA puisse être différent en fonction du tissu cérébral analysé (parenchyme cérébral et stroma). En effet, la plupart des études analyse la charge amyloïde en immunohistochimie sans distinguer ces deux tissus.

Ce manque de finesse dans l'analyse est bien illustré dans l'étude de Lim et coll. (2005) et pourrait expliquer notre divergence de résultats pourtant obtenus sur le même modèle murin. [Dans cette étude un régime alimentaire enrichi en DHA donné à des souris Tg2576 à partir de 17 ou 19 mois jusqu'à 22 mois (âge du sacrifice) réduit significativement le nombre et l'aire des plaques]. Ceci est d'autant plus envisageable qu'en dosant la concentration en peptide A β 1-40 versus celle du peptide A β 1-42 dans les homogénats de cerveau de ces souris (respectivement majoritaire au niveau des plaques vasculaires et parenchymateuses), seul le niveau de peptide A β 1-40 est augmentée par un

régime dépourvu de DHA ⁵¹³. Il se pourrait donc que la différence observée au terme du régime DHA soit due à une diminution des plaques vasculaires plutôt qu'à celle des plaques parenchymateuses. L'absence d'effet d'un régime riche en DHA sur la taille des plaques parenchymateuses se retrouve dans un autre modèle de souris transgéniques, les APP/PS1. Toutefois, dans ce modèle, il s'agirait d'un défaut du transport du DHA puisque aucune élévation du niveau d'acides gras ω -3 corticaux n'a pu être détectée contrairement aux souris sauvages ⁵¹⁴. Au regard de cette étude, il serait intéressant d'analyser la teneur en DHA des membranes de neurones issues des souris Tg2576 et sauvages soumises à nos conditions de régime riche en DHA pour évaluer l'hypothèse d'un défaut de passage du DHA au travers de la BHE chez ces souris. Quoi qu'il en soit, chez les patients Alzheimer ou souffrant d'AAC, une éventuelle perturbation du transport du DHA est à considérer pour optimiser les effets d'une telle supplémentation puisque ce dernier est fonction du type d'allèle *APOE* ⁵¹⁵. Par ailleurs, la forme moléculaire du DHA (*ie* sa position dans les triglycérides ou les phospholipides ou son type d'estérification), affecte son absorption et sa distribution aux organes. Par exemple, les esters éthyliques qui sont la forme la plus courante dans les produits à base d'huile de poisson présentent un niveau plus faible d'absorption ⁵¹⁶; le DHA incorporé dans les triglycérides à la position sn-2 est absorbé plus efficacement que le DHA aux positions sn-1 et sn-3 ⁵¹⁷. On note également que le DHA incorporé dans les phospholipides est plus résistant à la peroxydation que celui incorporé dans les triglycérides et les esters éthyliques ⁵¹⁸. Il serait donc plus efficace pour diminuer la teneur en acide arachidonique dans le sérum et le foie, indiquant que l'équilibre des médiateurs lipidiques dérivées de l'acide arachidonique et du DHA, aussi, serait modifié par la forme moléculaire du DHA ⁵¹⁸. Dans les études expérimentales *in vivo* utilisant des souris transgéniques APP, la forme moléculaire incorporée dans le régime est rarement spécifiée; de plus, il existe une grande diversité de composition (teneur en DHA et rapport ω -3/ ω -6 et de durée des régimes qui d'ailleurs explique très certainement les résultats divergents de la littérature. Aussi est-il difficile de définir la durée et le type régime DHA « idéal » ainsi que l'âge auquel il faudrait le débiter pour optimiser ses effets bénéfiques tant sur l'accumulation parenchymateuse et vasculaire du peptide A β que sur les performances cognitives. Une catégorisation plus rigoureuse des différentes formes moléculaires d'acides gras utilisés dans les régimes alimentaires tant dans les études *in vivo* chez la souris que dans les études cliniques chez l'homme contribuerait sans nul doute à mieux le définir. De plus, elle pourrait permettre une meilleure compréhension des mécanismes moléculaires qui sous-tendent les pathologies amyloïdes.

Dans notre étude, le niveau des médiateurs lipidiques plasmatiques évalué à partir des groupes de souris Tg2576 soumises à un régime normal ne présente pas de différences significatives avec celui des souris contrôles sauvages correspondantes (**Résultats additionnels, Figure 1**). Il en va de même

pour fonctions cognitives mesurées (à savoir des tests cognitifs de mémoire spatiale et d'exploration, comme la Piscine de Morris, le labyrinthe Y et la reconnaissance d'objet). A notre connaissance, une seule analyse lipidomique comparative a été effectuée sur homogénats de tissus cérébraux et plasmas de souris Tg2576 également mutées pour la protéine tau (Tg2576 x JNPL3) à 3 trois âges, 4, 10 et 15 mois ; chez ces souris, ces 3 âges correspondent respectivement à la phase pré-symptomatique, de symptômes précoces et de symptômes tardifs ⁵¹⁹. Aucun des HETE dont la concentration a été évaluée dans notre étude ne présente un taux plasmatique significativement différent par rapport à celui des souris sauvages contrôles, et ce, quel que soit l'âge auquel les dosages ont été effectués ; des résultats similaires ont été obtenus pour la PGE2. Plus précisément, sur 13 métabolites de l'acide arachidonique dosés, seuls deux présentent une concentration significativement augmentée, le 18-HETE et le 5,15-diHETE. Globalement, le modèle de souris Tg2576 ne présente pas d'inflammation systémique différente de celle des souris contrôles de même âge. On remarque également que, dans les homogénats de cerveau, le taux de 12-HETE et de 15-HETE reste constant.

Pourtant, le cerveau des patients atteints de MA présente des niveaux plus élevés de 12-HETE que les sujets témoins ⁵⁰². Aussi, à la lumière de notre étude et de celle de Tajima et coll (2013), ce modèle de souris paraît peu pertinent pour la recherche de marqueurs de la MA. Toutefois, il reste utile pour évaluer l'effet de régimes enrichis en AGPI n-3 sur la cinétique du développement des plaques et des altérations vasculaires.

Conclusion

Les acides gras ω -3, tels que le DHA, sont des éléments importants pour les membranes des cellules neuronales. Les niveaux de DHA du cerveau diminuent avec l'âge, en particulier chez les patients atteints de la maladie d'Alzheimer, indiquant qu'une teneur réduite en DHA peut contribuer à la détérioration de la mémoire et à d'autres fonctions cognitives. Outre leur rôle au niveau neuronal, comme on l'a vu, les acides gras ω -3 ont été prouvés pour avoir des effets anti-inflammatoires et pro-résolveurs de l'inflammation, des actions positives sur le stress oxydatif, sur l'activation des voies anti-apoptotiques et protègent contre les lésions post-ischémiques. Des études épidémiologiques suggèrent que l'apport plus élevé de poissons gras et d'acides gras ω -3 est associé à un risque réduit de démences.

Notre travail a permis de montrer pour la première fois les effets bénéfiques d'une alimentation riche en DHA sur la pathogenèse de l'angiopathie amyloïde cérébrale et des conséquences associées à savoir les hémorragies et l'inflammation systémique, dans le modèle de souris Tg2576. Nos résultats démontrent l'intérêt d'un apport élevé de DHA et de la production de ses dérivés pro-résolveurs de l'inflammation pour diminuer les conséquences néfastes des pathologies amyloïdes. La diminution des hémorragies par ce régime est d'autant plus intéressante puisqu'elles favorisent chez les patients des déficits cognitifs plus importants chez les patients atteints de la maladie d'Alzheimer.

En effet, l'angiopathie amyloïde cérébrale et les altérations vasculaires sont une composante importante de la maladie d'Alzheimer ; et favorise une plus grande morbidité et mortalité chez ces patients en provoquant des troubles ischémiques et hémorragiques. Ces altérations vasculaires ne devraient pas être laissées pour compte dans l'intervention thérapeutique des patients atteints de la maladie d'Alzheimer, d'autant plus que les dépôts amyloïdes dans les vaisseaux cérébraux sont encore plus fréquents vers les stades avancés de la maladie d'Alzheimer. Ceci est appuyé par la gravité accrue de l'AAC suite à l'immunothérapie dans les essais cliniques chez les patients atteints de la MA augmentant les dépôts des plaques vasculaires et accélérant les dommages vasculaires en induisant de graves hémorragies. De plus, l'accumulation de peptide sous forme de plaques n'est pas la seule composante présente dans la MA et l'AAC ; plusieurs mécanismes supplémentaires sont proposés comme mécanismes combinatoires pour expliquer la physiopathologie de ces maladies, comme les voies inflammatoires, le dysfonctionnement métabolique et le stress oxydatif.

Certains experts estiment qu'il est important de diagnostiquer la maladie d'Alzheimer aussi tôt que possible pour permettre un traitement avant que la pathologie complète affecte le cerveau. Pour l'heure, aucun traitement ne permet de stopper ces pathologies, et leur diagnostic n'est effectué que sur des individus à un stade avancé de la maladie. Ainsi, les acides gras ω -3 ont un intérêt particulier

en action préventive des pathologies amyloïdes et devraient être apportés en quantités suffisante pendant toute la durée de vie des individus, afin de diminuer le risque de développer de telles pathologies.

Au cours de ces dernières années, de nombreuses études cliniques prouvent que différents composés alimentaires pourraient contribuer à réduire les risques pour la maladie d'Alzheimer et à favoriser le maintien de la performance cognitive. Par conséquent, les nutriments essentiels comme les ω -3 peuvent avoir un grand potentiel pour retarder l'apparition de cette pathologie si les individus ont une alimentation optimale durant leur vie. L'absence d'une thérapie établie contre les pathologies amyloïdes, dont l'incidence devrait augmenter rapidement dans une société vieillissante, et les rôles établis de toute une série d'éléments nutritifs attirent notre attention vers l'amélioration de l'alimentation non seulement des adultes plus âgés mais aussi de la population générale.

Références bibliographiques

1. Alzheimer, A., Stelzmann, R. A., Schnitzlein, H. N. & Murtagh, F. R. An English translation of Alzheimer's 1907 paper, 'Über eine eigenartige Erkrankung der Hirnrinde'. *Clin. Anat. N. Y. N* **8**, 429–431 (1995).
2. Kidd, M. Paired helical filaments in electron microscopy of Alzheimer's disease. *Nature* **197**, 192–193 (1963).
3. Glenner, G. G. & Wong, C. W. Alzheimer's disease: initial report of the purification and characterization of a novel cerebrovascular amyloid protein. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **120**, 885–890 (1984).
4. Grundke-Iqbal, I. *et al.* Abnormal phosphorylation of the microtubule-associated protein tau (tau) in Alzheimer cytoskeletal pathology. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **83**, 4913–4917 (1986).
5. Brion, J. P., Flament-Durand, J. & Dustin, P. Alzheimer's disease and tau proteins. *Lancet Lond. Engl.* **2**, 1098 (1986).
6. Hardy, J. & Selkoe, D. J. The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: progress and problems on the road to therapeutics. *Science* **297**, 353–356 (2002).
7. Reisberg, B., Auer, S. R. & Monteiro, I. M. Behavioral pathology in Alzheimer's disease (BEHAVE-AD) rating scale. *Int. Psychogeriatr.* **8 Suppl 3**, 301-308; discussion 351-354 (1996).
8. Jellinger, K. A. Alzheimer disease and cerebrovascular pathology: an update. *J. Neural Transm. Vienna Austria 1996* **109**, 813–836 (2002).
9. Viswanathan, A. & Greenberg, S. M. Cerebral amyloid angiopathy in the elderly. *Ann. Neurol.* **70**, 871–880 (2011).
10. Chen, G. *et al.* Amyloid beta: structure, biology and structure-based therapeutic development. *Acta Pharmacol. Sin.* (2017). doi:10.1038/aps.2017.28
11. Dawkins, E. & Small, D. H. Insights into the physiological function of the β -amyloid precursor protein: beyond Alzheimer's disease. *J. Neurochem.* **129**, 756–769 (2014).
12. Decock, M. *et al.* Glycines from the APP GXXXG/GXXXA Transmembrane Motifs Promote Formation of Pathogenic A β Oligomers in Cells. *Front. Aging Neurosci.* **8**, (2016).
13. Nhan, H. S. & Koo, E. H. The--YENPTY--domain of the amyloid precursor protein: much more than just endocytosis? *BioEssays News Rev. Mol. Cell. Dev. Biol.* **35**, 844 (2013).
14. Gu nette, S., Strecker, P. & Kins, S. APP Protein Family Signaling at the Synapse: Insights from Intracellular APP-Binding Proteins. *Front. Mol. Neurosci.* **10**, (2017).
15. M ller, U. C. & Zheng, H. Physiological functions of APP family proteins. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* **2**, a006288 (2012).
16. Kang, J. *et al.* The precursor of Alzheimer's disease amyloid A4 protein resembles a cell-surface receptor. *Nature* **325**, 733–736 (1987).
17. Prasher, V. P. *et al.* Molecular mapping of Alzheimer-type dementia in Down's syndrome. *Ann. Neurol.* **43**, 380–383 (1998).
18. Liu, L. *et al.* A transgenic rat that develops Alzheimer's disease-like amyloid pathology, deficits in synaptic plasticity and cognitive impairment. *Neurobiol. Dis.* **31**, 46–57 (2008).
19. Sandbrink, R., Masters, C. L. & Beyreuther, K. APP gene family. Alternative splicing generates functionally related isoforms. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **777**, 281–287 (1996).
20. Nalivaeva, N. N. & Turner, A. J. The amyloid precursor protein: a biochemical enigma in brain development, function and disease. *FEBS Lett.* **587**, 2046–2054 (2013).
21. M ller, U. C., Deller, T. & Korte, M. Not just amyloid: physiological functions of the amyloid precursor protein family. *Nat. Rev. Neurosci.* **18**, 281–298 (2017).
22. Sandbrink, R., Masters, C. L. & Beyreuther, K. APP gene family: unique age-associated changes in splicing of Alzheimer's betaA4-amyloid protein precursor. *Neurobiol. Dis.* **1**, 13–24 (1994).
23. Vignini, A. *et al.* Amyloid precursor protein expression is enhanced in human platelets from subjects with Alzheimer's disease and frontotemporal lobar degeneration: a real-time PCR study. *Exp. Gerontol.* **48**, 1505–1508 (2013).
24. Evin, G. Platelets and Alzheimer's disease: Potential of APP as a biomarker. *World J. Psychiatry* **2**, 102 (2012).

25. Lukiw, W. J. *et al.* Protein-DNA interactions in the promoter region of the amyloid precursor protein (APP) gene in human neocortex. *Brain Res. Mol. Brain Res.* **22**, 121–131 (1994).
26. Ho, A. & Südhof, T. C. Binding of F-spondin to amyloid-beta precursor protein: a candidate amyloid-beta precursor protein ligand that modulates amyloid-beta precursor protein cleavage. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **101**, 2548–2553 (2004).
27. Sosa, L. J. *et al.* Amyloid precursor protein is an autonomous growth cone adhesion molecule engaged in contact guidance. *PLoS One* **8**, e64521 (2013).
28. Wolfe, M. S. & Guénette, S. Y. APP at a glance. *J. Cell Sci.* **120**, 3157–3161 (2007).
29. Soba, P. *et al.* Homo- and heterodimerization of APP family members promotes intercellular adhesion. *EMBO J.* **24**, 3624–3634 (2005).
30. Howell, B. W., Herrick, T. M. & Cooper, J. A. Reelin-induced tyrosine [corrected] phosphorylation of disabled 1 during neuronal positioning. *Genes Dev.* **13**, 643–648 (1999).
31. Rice, D. S. *et al.* Disabled-1 acts downstream of Reelin in a signaling pathway that controls laminar organization in the mammalian brain. *Dev. Camb. Engl.* **125**, 3719–3729 (1998).
32. Young-Pearse, T. L. *et al.* A critical function for beta-amyloid precursor protein in neuronal migration revealed by in utero RNA interference. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* **27**, 14459–14469 (2007).
33. Ashley, J., Packard, M., Ataman, B. & Budnik, V. Fasciclin II signals new synapse formation through amyloid precursor protein and the scaffolding protein dX11/Mint. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* **25**, 5943–5955 (2005).
34. Rogelj, B., Mitchell, J. C., Miller, C. C. J. & McLoughlin, D. M. The X11/Mint family of adaptor proteins. *Brain Res. Rev.* **52**, 305–315 (2006).
35. Sullivan, S. E., Dillon, G. M., Sullivan, J. M. & Ho, A. Mint proteins are required for synaptic activity-dependent amyloid precursor protein (APP) trafficking and amyloid β generation. *J. Biol. Chem.* **289**, 15374–15383 (2014).
36. Willem, M. *et al.* η -Secretase processing of APP inhibits neuronal activity in the hippocampus. *Nature* **526**, 443–447 (2015).
37. Haass, C., Kaether, C., Thinakaran, G. & Sisodia, S. Trafficking and Proteolytic Processing of APP. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* **2**, a006270 (2012).
38. Das, U. *et al.* Activity-induced convergence of APP and BACE-1 in acidic microdomains via an endocytosis-dependent pathway. *Neuron* **79**, 447–460 (2013).
39. Das, U. *et al.* Visualizing APP and BACE-1 approximation in neurons yields insight into the amyloidogenic pathway. *Nat. Neurosci.* **19**, 55–64 (2016).
40. van der Kant, R. & Goldstein, L. S. B. Cellular functions of the amyloid precursor protein from development to dementia. *Dev. Cell* **32**, 502–515 (2015).
41. Willnow, T. E., Petersen, C. M. & Nykjaer, A. VPS10P-domain receptors — regulators of neuronal viability and function. *Nat. Rev. Neurosci.* (2010). doi:10.1038/nrn2516
42. Hoey, S. E., Williams, R. J. & Perkinson, M. S. Synaptic NMDA receptor activation stimulates alpha-secretase amyloid precursor protein processing and inhibits amyloid-beta production. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* **29**, 4442–4460 (2009).
43. Hoe, H.-S., Lee, H.-K. & Pak, D. T. S. The upside of APP at synapses. *CNS Neurosci. Ther.* **18**, 47–56 (2012).
44. Kuhn, P.-H. *et al.* ADAM10 is the physiologically relevant, constitutive alpha-secretase of the amyloid precursor protein in primary neurons. *EMBO J.* **29**, 3020–3032 (2010).
45. Tomita, T. Molecular mechanism of intramembrane proteolysis by γ -secretase. *J. Biochem. (Tokyo)* **156**, 195–201 (2014).
46. Andersson, E. R. & Lendahl, U. Therapeutic modulation of Notch signalling — are we there yet? *Nat. Rev. Drug Discov.* **13**, 357–378 (2014).
47. Vassar, R. *et al.* Function, therapeutic potential and cell biology of BACE proteases: current status and future prospects. *J. Neurochem.* **130**, 4–28 (2014).

48. Prox, J. *et al.* Postnatal Disruption of the Disintegrin/Metalloproteinase ADAM10 in Brain Causes Epileptic Seizures, Learning Deficits, Altered Spine Morphology, and Defective Synaptic Functions. *J. Neurosci.* **33**, 12915–12928 (2013).
49. Yan, R. Physiological Functions of the β -Site Amyloid Precursor Protein Cleaving Enzyme 1 and 2. *Front. Mol. Neurosci.* **10**, (2017).
50. Benilova, I., Karran, E. & De Strooper, B. The toxic A β oligomer and Alzheimer's disease: an emperor in need of clothes. *Nat. Neurosci.* **15**, 349–357 (2012).
51. Turner, P. R., O'Connor, K., Tate, W. P. & Abraham, W. C. Roles of amyloid precursor protein and its fragments in regulating neural activity, plasticity and memory. *Prog. Neurobiol.* **70**, 1–32 (2003).
52. Nikolaev, A., McLaughlin, T., O'Leary, D. D. M. & Tessier-Lavigne, M. APP binds DR6 to trigger axon pruning and neuron death via distinct caspases. *Nature* **457**, 981–989 (2009).
53. Ozaki, T. *et al.* The intracellular domain of the amyloid precursor protein (AICD) enhances the p53-mediated apoptosis. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **351**, 57–63 (2006).
54. Bertrand, E. *et al.* A short cytoplasmic domain of the amyloid precursor protein induces apoptosis in vitro and in vivo. *Mol. Cell. Neurosci.* **18**, 503–511 (2001).
55. Habib, A., Sawmiller, D. & Tan, J. Restoring Soluble Amyloid Precursor Protein α Functions as a Potential Treatment for Alzheimer's Disease. *J. Neurosci. Res.* **95**, 973–991 (2017).
56. Salbaum, J. M. & Ruddle, F. H. Embryonic expression pattern of amyloid protein precursor suggests a role in differentiation of specific subsets of neurons. *J. Exp. Zool.* **269**, 116–127 (1994).
57. Haass, C. *et al.* Amyloid beta-peptide is produced by cultured cells during normal metabolism. *Nature* **359**, 322–325 (1992).
58. Shoji, M. *et al.* Production of the Alzheimer amyloid beta protein by normal proteolytic processing. *Science* **258**, 126–129 (1992).
59. Araki, E. *et al.* Alternative pathway of insulin signalling in mice with targeted disruption of the IRS-1 gene. *Nature* **372**, 186–190 (1994).
60. Pearson, H. A. & Peers, C. Physiological roles for amyloid beta peptides. *J. Physiol.* **575**, 5–10 (2006).
61. Shankar, G. M. *et al.* Natural oligomers of the Alzheimer amyloid-beta protein induce reversible synapse loss by modulating an NMDA-type glutamate receptor-dependent signaling pathway. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* **27**, 2866–2875 (2007).
62. Parihar, M. S. & Brewer, G. J. Amyloid- β as a Modulator of Synaptic Plasticity. *J. Alzheimers Dis.* **22**, 741–763 (2010).
63. Kumar, D. K. V. *et al.* Amyloid- β peptide protects against microbial infection in mouse and worm models of Alzheimer's disease. *Sci. Transl. Med.* **8**, 340ra72-340ra72 (2016).
64. Soscia, S. J. *et al.* The Alzheimer's Disease-Associated Amyloid β -Protein Is an Antimicrobial Peptide. *PLOS ONE* **5**, e9505 (2010).
65. Bading, J. R. *et al.* Brain Clearance of Alzheimer's Amyloid- β 40 in the Squirrel Monkey: A SPECT Study in a Primate Model of Cerebral Amyloid Angiopathy. *J. Drug Target.* **10**, 359–368 (2002).
66. Storck, S. E. *et al.* Endothelial LRP1 transports amyloid- β (1-42) across the blood-brain barrier. *J. Clin. Invest.* **126**, 123–136 (2016).
67. Nelson, A. R., Sagare, A. P. & Zlokovic, B. V. Blood-Brain Barrier Transport of Alzheimer's Amyloid β -Peptide. in *Developing Therapeutics for Alzheimer's Disease* 251–270 (Elsevier, 2016). doi:10.1016/B978-0-12-802173-6.00009-5
68. Zhao, Z. *et al.* Central role for PICALM in amyloid- β blood-brain barrier transcytosis and clearance. *Nat. Neurosci.* **18**, 978–987 (2015).
69. Nelson, A. R., Sagare, A. P. & Zlokovic, B. V. Role of clusterin in the brain vascular clearance of amyloid- β . *Proc. Natl. Acad. Sci.* 201711357 (2017). doi:10.1073/pnas.1711357114
70. Weller, R. O., Subash, M., Preston, S. D., Mazanti, I. & Carare, R. O. Perivascular drainage of amyloid-beta peptides from the brain and its failure in cerebral amyloid angiopathy and Alzheimer's disease. *Brain Pathol. Zurich Switz.* **18**, 253–266 (2008).

71. Deane, R., Sagare, A. & Zlokovic, B. V. The role of the cell surface LRP and soluble LRP in blood-brain barrier Abeta clearance in Alzheimer's disease. *Curr. Pharm. Des.* **14**, 1601–1605 (2008).
72. Hersh, L. B. & Rodgers, D. W. Nephilysin and amyloid beta peptide degradation. *Curr. Alzheimer Res.* **5**, 225–231 (2008).
73. Qiu, W. Q. & Folstein, M. F. Insulin, insulin-degrading enzyme and amyloid-beta peptide in Alzheimer's disease: review and hypothesis. *Neurobiol. Aging* **27**, 190–198 (2006).
74. Liang, F., Jia, J., Wang, S., Qin, W. & Liu, G. Decreased plasma levels of soluble low density lipoprotein receptor-related protein-1 (sLRP) and the soluble form of the receptor for advanced glycation end products (sRAGE) in the clinical diagnosis of Alzheimer's disease. *J. Clin. Neurosci.* **20**, 357–361 (2013).
75. Sagare, A. P. *et al.* Impaired Lipoprotein Receptor-Mediated Peripheral Binding of Plasma Amyloid- β ; is an Early Biomarker for Mild Cognitive Impairment Preceding Alzheimer's Disease. *J. Alzheimer's Dis.* 25–34 (2011). doi:10.3233/JAD-2010-101248
76. Bachmeier, C. *et al.* A multifaceted role for apoE in the clearance of beta-amyloid across the blood-brain barrier. *Neurodegener. Dis.* **11**, 13–21 (2013).
77. Ball, K. K., Cruz, N. F., Mrak, R. E. & Diener, G. A. Trafficking of glucose, lactate, and amyloid-beta from the inferior colliculus through perivascular routes. *J. Cereb. Blood Flow Metab. Off. J. Int. Soc. Cereb. Blood Flow Metab.* **30**, 162–176 (2010).
78. Chen, Y.-R. & Glabe, C. G. Distinct early folding and aggregation properties of Alzheimer amyloid-beta peptides Abeta40 and Abeta42: stable trimer or tetramer formation by Abeta42. *J. Biol. Chem.* **281**, 24414–24422 (2006).
79. Kaye, R. *et al.* Common structure of soluble amyloid oligomers implies common mechanism of pathogenesis. *Science* **300**, 486–489 (2003).
80. Esler, W. P. *et al.* Alzheimer's disease amyloid propagation by a template-dependent dock-lock mechanism. *Biochemistry (Mosc.)* **39**, 6288–6295 (2000).
81. LeVine, H. Thioflavine T interaction with synthetic Alzheimer's disease beta-amyloid peptides: detection of amyloid aggregation in solution. *Protein Sci. Publ. Protein Soc.* **2**, 404–410 (1993).
82. Kiskis, J. *et al.* Plaque-associated lipids in Alzheimer's diseased brain tissue visualized by nonlinear microscopy. *Sci. Rep.* **5**, (2015).
83. Shafir, Y., Durell, S. R., Anishkin, A. & Guy, H. R. Beta-barrel models of soluble amyloid beta oligomers and annular protofibrils. *Proteins Struct. Funct. Bioinforma.* **78**, 3458–3472 (2010).
84. Fändrich, M., Schmidt, M. & Grigorieff, N. Recent progress in understanding Alzheimer's β -amyloid structures. *Trends Biochem. Sci.* **36**, 338–345 (2011).
85. Jarrett, J. T., Berger, E. P. & Lansbury, P. T. The carboxy terminus of the beta amyloid protein is critical for the seeding of amyloid formation: implications for the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Biochemistry (Mosc.)* **32**, 4693–4697 (1993).
86. Vandersteen, A. *et al.* A comparative analysis of the aggregation behavior of amyloid- β peptide variants. *FEBS Lett.* **586**, 4088–4093 (2012).
87. Burdick, D. *et al.* Assembly and aggregation properties of synthetic Alzheimer's A4/beta amyloid peptide analogs. *J. Biol. Chem.* **267**, 546–554 (1992).
88. Williams, T. L. & Serpell, L. C. Membrane and surface interactions of Alzheimer's A β peptide--insights into the mechanism of cytotoxicity. *FEBS J.* **278**, 3905–3917 (2011).
89. Terry, R. D. The pathogenesis of Alzheimer disease: an alternative to the amyloid hypothesis. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* **55**, 1023–1025 (1996).
90. Kirkitadze, M. D., Bitan, G. & Teplow, D. B. Paradigm shifts in Alzheimer's disease and other neurodegenerative disorders: the emerging role of oligomeric assemblies. *J. Neurosci. Res.* **69**, 567–577 (2002).
91. Kaye, R. & Lasagna-Reeves, C. A. Molecular Mechanisms of Amyloid Oligomers Toxicity. *J. Alzheimer's Dis.* **33**, S67–S78 (2013).
92. Lai, A. Y. & McLaurin, J. Mechanisms of Amyloid-Beta Peptide Uptake by Neurons: The Role of Lipid Rafts and Lipid Raft-Associated Proteins. *Int. J. Alzheimer's Dis.* **2011**, 1–11 (2011).

93. Sandwall, E. *et al.* Heparan sulfate mediates amyloid-beta internalization and cytotoxicity. *Glycobiology* **20**, 533–541 (2010).
94. Kagan, B. L. Membrane pores in the pathogenesis of neurodegenerative disease. *Prog. Mol. Biol. Transl. Sci.* **107**, 295–325 (2012).
95. Adeoye, O. & Broderick, J. P. Advances in the management of intracerebral hemorrhage. *Nat. Rev. Neurol.* **6**, 593–601 (2010).
96. Qureshi, A. I., Mendelow, A. D. & Hanley, D. F. Intracerebral haemorrhage. *Lancet Lond. Engl.* **373**, 1632–1644 (2009).
97. Biffi, A. & Greenberg, S. M. Cerebral Amyloid Angiopathy: A Systematic Review. *J. Clin. Neurol.* **7**, 1 (2011).
98. Cipolla, M. *The Cerebral Circulation*. (Morgan & Claypool Publishers, 2009).
99. Hossmann, K.-A. Pathophysiology and therapy of experimental stroke. *Cell. Mol. Neurobiol.* **26**, 1057–1083 (2006).
100. Vrselja, Z., Brkic, H., Mrdenovic, S., Radic, R. & Curic, G. Function of circle of Willis. *J. Cereb. Blood Flow Metab. Off. J. Int. Soc. Cereb. Blood Flow Metab.* **34**, 578–584 (2014).
101. Munuera, J. *et al.* Venous imaging-based biomarkers in acute ischaemic stroke. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* **88**, 62–69 (2017).
102. Cohen, Z., Bonvento, G., Lacombe, P. & Hamel, E. Serotonin in the regulation of brain microcirculation. *Prog. Neurobiol.* **50**, 335–362 (1996).
103. Nishimura, N., Schaffer, C. B., Friedman, B., Lyden, P. D. & Kleinfeld, D. Penetrating arterioles are a bottleneck in the perfusion of neocortex. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **104**, 365–370 (2007).
104. Iadecola, C. & Nedergaard, M. Glial regulation of the cerebral microvasculature. *Nat. Neurosci.* **10**, 1369–1376 (2007).
105. Lee, R. M. Morphology of cerebral arteries. *Pharmacol. Ther.* **66**, 149–173 (1995).
106. Hassler, O. The windows of the internal elastic lamella of the cerebral arteries. *Virchows Arch. Pathol. Anat. Physiol. Klin. Med.* **335**, 127–132 (1962).
107. Walmsley, J. G. & Canham, P. B. Orientation of nuclei as indicators of smooth muscle cell alignment in the cerebral artery. *Blood Vessels* **16**, 43–51 (1979).
108. Zervas, N. T., Liszczak, T. M., Mayberg, M. R. & Black, P. M. Cerebrospinal fluid may nourish cerebral vessels through pathways in the adventitia that may be analogous to systemic vasa vasorum. *J. Neurosurg.* **56**, 475–481 (1982).
109. Rennels, M. L. & Nelson, E. Capillary innervation in the mammalian central nervous system: an electron microscopic demonstration. *Am. J. Anat.* **144**, 233–241 (1975).
110. Klein, B., Kuschinsky, W., Schröck, H. & Vetterlein, F. Interdependency of local capillary density, blood flow, and metabolism in rat brains. *Am. J. Physiol.* **251**, H1333-1340 (1986).
111. Ballabh, P., Braun, A. & Nedergaard, M. The blood-brain barrier: an overview: structure, regulation, and clinical implications. *Neurobiol. Dis.* **16**, 1–13 (2004).
112. MÉNAGER, GARNIER-LAPLAU & GAYFFON. *Toxicologie nucléaire environnementale et humaine*. (2009).
113. Zhang, J. H. *et al.* The vascular neural network—a new paradigm in stroke pathophysiology. *Nat. Rev. Neurol.* **8**, 711–716 (2012).
114. Dore-Duffy, P. & LaManna, J. C. Physiologic angiodynamics in the brain. *Antioxid. Redox Signal.* **9**, 1363–1371 (2007).
115. Hartmann, D. A. *et al.* Pericyte structure and distribution in the cerebral cortex revealed by high-resolution imaging of transgenic mice. *Neurophotonics* **2**, 041402 (2015).
116. Attwell, D., Mishra, A., Hall, C. N., O’Farrell, F. M. & Dalkara, T. What is a pericyte? *J. Cereb. Blood Flow Metab. Off. J. Int. Soc. Cereb. Blood Flow Metab.* **36**, 451–455 (2016).
117. Nehls, V. & Drenckhahn, D. Heterogeneity of microvascular pericytes for smooth muscle type alpha-actin. *J. Cell Biol.* **113**, 147–154 (1991).
118. Zlokovic, B. V. Neurovascular pathways to neurodegeneration in Alzheimer’s disease and other disorders. *Nat. Rev. Neurosci.* **12**, 723–738 (2011).

119. Risau, W. & Wolburg, H. Development of the blood-brain barrier. *Trends Neurosci.* **13**, 174–178 (1990).
120. Hawkins, B. T. & Davis, T. P. The blood-brain barrier/neurovascular unit in health and disease. *Pharmacol. Rev.* **57**, 173–185 (2005).
121. Abbott, N. J., Rönnebeck, L. & Hansson, E. Astrocyte–endothelial interactions at the blood–brain barrier. *Nat. Rev. Neurosci.* **7**, 41–53 (2006).
122. Begley, D. J. & Brightman, M. W. Structural and functional aspects of the blood-brain barrier. *Prog. Drug Res. Fortschritte Arzneimittelforschung Progres Rech. Pharm.* **61**, 39–78 (2003).
123. Wright, J. R. & Calkins, E. Relationship of amyloid deposits in the human aorta to aortic atherosclerosis. A postmortem study of 100 individuals over 60 years of age. *Lab. Investig. J. Tech. Methods Pathol.* **30**, 767–773 (1974).
124. Yamada, M. Cerebral Amyloid Angiopathy: Emerging Concepts. *J. Stroke* **17**, 17 (2015).
125. Olichney, J. M. *et al.* Cerebral infarction in Alzheimer’s disease is associated with severe amyloid angiopathy and hypertension. *Arch. Neurol.* **52**, 702–708 (1995).
126. Yamada, M. Cerebral amyloid angiopathy: emerging concepts. *J. Stroke* **17**, 17–30 (2015).
127. Vinters, H. V., Wang, Z. Z. & Secor, D. L. Brain parenchymal and microvascular amyloid in Alzheimer’s disease. *Brain Pathol. Zurich Switz.* **6**, 179–195 (1996).
128. Vinters, H. V. & Gilbert, J. J. Cerebral amyloid angiopathy: incidence and complications in the aging brain. II. The distribution of amyloid vascular changes. *Stroke* **14**, 924–928 (1983).
129. Yamada, M., Tsukagoshi, H., Otomo, E. & Hayakawa, M. Cerebral amyloid angiopathy in the aged. *J. Neurol.* **234**, 371–376 (1987).
130. Thal, D. R. *et al.* Two types of sporadic cerebral amyloid angiopathy. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* **61**, 282–293 (2002).
131. Kumar-Singh, S. Hereditary and Sporadic Forms of A β -Cerebrovascular Amyloidosis and Relevant Transgenic Mouse Models. *Int. J. Mol. Sci.* **10**, 1872–1895 (2009).
132. Vonsattel, J. P. *et al.* Cerebral amyloid angiopathy without and with cerebral hemorrhages: a comparative histological study. *Ann. Neurol.* **30**, 637–649 (1991).
133. Okazaki, H., Reagan, T. J. & Campbell, R. J. Clinicopathologic studies of primary cerebral amyloid angiopathy. *Mayo Clin. Proc.* **54**, 22–31 (1979).
134. Gray, F., Dubas, F., Roullet, E. & Escourolle, R. Leukoencephalopathy in diffuse hemorrhagic cerebral amyloid angiopathy. *Ann. Neurol.* **18**, 54–59 (1985).
135. Vidal, R. *et al.* Senile dementia associated with amyloid beta protein angiopathy and tau perivascular pathology but not neuritic plaques in patients homozygous for the APOE-epsilon4 allele. *Acta Neuropathol. (Berl.)* **100**, 1–12 (2000).
136. Davis, J., Cribbs, D. H., Cotman, C. W. & Van Nostrand, W. E. Pathogenic amyloid beta-protein induces apoptosis in cultured human cerebrovascular smooth muscle cells. *Amyloid Int. J. Exp. Clin. Investig. Off. J. Int. Soc. Amyloidosis* **6**, 157–164 (1999).
137. Fossati, S. *et al.* Differential activation of mitochondrial apoptotic pathways by vasculotropic amyloid-beta variants in cells composing the cerebral vessel walls. *FASEB J. Off. Publ. Fed. Am. Soc. Exp. Biol.* **24**, 229–241 (2010).
138. Mok, S. S. *et al.* Toxicity of substrate-bound amyloid peptides on vascular smooth muscle cells is enhanced by homocysteine: Ab is toxic to vascular smooth muscle cells. *Eur. J. Biochem.* **269**, 3014–3022 (2002).
139. Blaise, R. *et al.* Wild-type amyloid beta 1-40 peptide induces vascular smooth muscle cell death independently from matrix metalloprotease activity. *Aging Cell* **11**, 384–393 (2012).
140. Kusumoto, Y., Lomakin, A., Teplow, D. B. & Benedek, G. B. Temperature dependence of amyloid beta-protein fibrillization. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **95**, 12277–12282 (1998).
141. Wisniewski, H. M. & Wegiel, J. Beta-amyloid formation by myocytes of leptomeningeal vessels. *Acta Neuropathol. (Berl.)* **87**, 233–241 (1994).
142. Kawai, A., Ballantyne, D., Mückenhoff, K. & Scheid, P. Chemosensitive medullary neurones in the brainstem–spinal cord preparation of the neonatal rat. *J. Physiol.* **492** (Pt 1), 277–292 (1996).

143. Davis-Salinas, J., Saporito-Irwin, S. M., Cotman, C. W. & Van Nostrand, W. E. Amyloid beta-protein induces its own production in cultured degenerating cerebrovascular smooth muscle cells. *J. Neurochem.* **65**, 931–934 (1995).
144. Wisniewski, T., Golabek, A. A., Kida, E., Wisniewski, K. E. & Frangione, B. Conformational mimicry in Alzheimer's disease. Role of apolipoproteins in amyloidogenesis. *Am. J. Pathol.* **147**, 238–244 (1995).
145. Fossati, S., Ghiso, J. & Rostagno, A. TRAIL death receptors DR4 and DR5 mediate cerebral microvascular endothelial cell apoptosis induced by oligomeric Alzheimer's A β . *Cell Death Dis.* **3**, e321 (2012).
146. Kitazume, S. *et al.* Soluble Amyloid Precursor Protein 770 Is Released from Inflamed Endothelial Cells and Activated Platelets: A NOVEL BIOMARKER FOR ACUTE CORONARY SYNDROME. *J. Biol. Chem.* **287**, 40817–40825 (2012).
147. Dietrich, H. H., Xiang, C., Han, B. H., Zipfel, G. J. & Holtzman, D. M. Soluble amyloid- β , effect on cerebral arteriolar regulation and vascular cells. *Mol. Neurodegener.* **5**, 15 (2010).
148. Paris, D. *et al.* Vasoactive effects of A beta in isolated human cerebrovessels and in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease: role of inflammation. *Neurol. Res.* **25**, 642–651 (2003).
149. Zipfel, G. J., Han, H., Ford, A. L. & Lee, J.-M. Cerebral Amyloid Angiopathy: Progressive Disruption of the Neurovascular Unit. *Stroke* **40**, S16–S19 (2009).
150. Christie, R., Yamada, M., Moskowitz, M. & Hyman, B. Structural and functional disruption of vascular smooth muscle cells in a transgenic mouse model of amyloid angiopathy. *Am. J. Pathol.* **158**, 1065–1071 (2001).
151. Park, L. *et al.* Nox2-derived radicals contribute to neurovascular and behavioral dysfunction in mice overexpressing the amyloid precursor protein. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **105**, 1347–1352 (2008).
152. Hamel, E., Nicolakakis, N., Aboukassim, T., Ongali, B. & Tong, X.-K. Oxidative stress and cerebrovascular dysfunction in mouse models of Alzheimer's disease. *Exp. Physiol.* **93**, 116–120 (2008).
153. Gentile, M. T. *et al.* Mechanisms of Soluble β -Amyloid Impairment of Endothelial Function. *J. Biol. Chem.* **279**, 48135–48142 (2004).
154. Lamoke, F. *et al.* Amyloid β peptide-induced inhibition of endothelial nitric oxide production involves oxidative stress-mediated constitutive eNOS/HSP90 interaction and disruption of agonist-mediated Akt activation. *J. Neuroinflammation* **12**, (2015).
155. Jabłońska-Trypuć, A., Matejczyk, M. & Rosochacki, S. Matrix metalloproteinases (MMPs), the main extracellular matrix (ECM) enzymes in collagen degradation, as a target for anticancer drugs. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* **31**, 177–183 (2016).
156. Yan, P. *et al.* Matrix metalloproteinase-9 degrades amyloid-beta fibrils in vitro and compact plaques in situ. *J. Biol. Chem.* **281**, 24566–24574 (2006).
157. Deb, S. & Gottschall, P. E. Increased production of matrix metalloproteinases in enriched astrocyte and mixed hippocampal cultures treated with beta-amyloid peptides. *J. Neurochem.* **66**, 1641–1647 (1996).
158. Lee, J.-M. *et al.* Matrix metalloproteinase-9 and spontaneous hemorrhage in an animal model of cerebral amyloid angiopathy. *Ann. Neurol.* **54**, 379–382 (2003).
159. Hernandez-Guillamon, M. *et al.* Matrix metalloproteinase 2 (MMP-2) degrades soluble vasculotropic amyloid-beta E22Q and L34V mutants, delaying their toxicity for human brain microvascular endothelial cells. *J. Biol. Chem.* **285**, 27144–27158 (2010).
160. Du, H., Li, P., Wang, J., Qing, X. & Li, W. The interaction of amyloid β and the receptor for advanced glycation endproducts induces matrix metalloproteinase-2 expression in brain endothelial cells. *Cell. Mol. Neurobiol.* **32**, 141–147 (2012).
161. Tai, L. M., Holloway, K. A., Male, D. K., Loughlin, A. J. & Romero, I. A. Amyloid-beta-induced occludin down-regulation and increased permeability in human brain endothelial cells is mediated by MAPK activation. *J. Cell. Mol. Med.* **14**, 1101–1112 (2010).

162. Hartz, A. M. S. *et al.* Amyloid- β contributes to blood-brain barrier leakage in transgenic human amyloid precursor protein mice and in humans with cerebral amyloid angiopathy. *Stroke* **43**, 514–523 (2012).
163. Yang, Y., Estrada, E. Y., Thompson, J. F., Liu, W. & Rosenberg, G. A. Matrix metalloproteinase-mediated disruption of tight junction proteins in cerebral vessels is reversed by synthetic matrix metalloproteinase inhibitor in focal ischemia in rat. *J. Cereb. Blood Flow Metab. Off. J. Int. Soc. Cereb. Blood Flow Metab.* **27**, 697–709 (2007).
164. Marco, S. & Skaper, S. D. Amyloid beta-peptide1-42 alters tight junction protein distribution and expression in brain microvessel endothelial cells. *Neurosci. Lett.* **401**, 219–224 (2006).
165. Zlokovic, B. V. The blood-brain barrier in health and chronic neurodegenerative disorders. *Neuron* **57**, 178–201 (2008).
166. Zhang, W., Huang & Jing, F. Contribution of blood platelets to vascular pathology in Alzheimer's disease. *J. Blood Med.* 141 (2013). doi:10.2147/JBM.S45071
167. Brundel, M. *et al.* High prevalence of cerebral microbleeds at 7Tesla MRI in patients with early Alzheimer's disease. *J. Alzheimers Dis. JAD* **31**, 259–263 (2012).
168. Tolppanen, A.-M. *et al.* Incidence of stroke in people with Alzheimer disease: a national register-based approach. *Neurology* **80**, 353–358 (2013).
169. Chi, N.-F., Chien, L.-N., Ku, H.-L., Hu, C.-J. & Chiou, H.-Y. Alzheimer disease and risk of stroke: a population-based cohort study. *Neurology* **80**, 705–711 (2013).
170. Grammas, P. Neurovascular dysfunction, inflammation and endothelial activation: implications for the pathogenesis of Alzheimer's disease. *J. Neuroinflammation* **8**, 26 (2011).
171. Calhoun, M. E. *et al.* Neuronal overexpression of mutant amyloid precursor protein results in prominent deposition of cerebrovascular amyloid. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **96**, 14088–14093 (1999).
172. Van Dorpe, J. *et al.* Prominent cerebral amyloid angiopathy in transgenic mice overexpressing the london mutant of human APP in neurons. *Am. J. Pathol.* **157**, 1283–1298 (2000).
173. Weller, R. O. *et al.* Cerebral amyloid angiopathy: amyloid beta accumulates in putative interstitial fluid drainage pathways in Alzheimer's disease. *Am. J. Pathol.* **153**, 725–733 (1998).
174. Davies, T. A. *et al.* Beta amyloid fragments derived from activated platelets deposit in cerebrovascular endothelium: usage of a novel blood brain barrier endothelial cell model system. *Amyloid Int. J. Exp. Clin. Investig. Off. J. Int. Soc. Amyloidosis* **7**, 153–165 (2000).
175. Li, Q. X. *et al.* Secretion of Alzheimer's disease A β amyloid peptide by activated human platelets. *Lab. Invest. J. Tech. Methods Pathol.* **78**, 461–469 (1998).
176. Kalaria, R. N. Vascular basis for brain degeneration: faltering controls and risk factors for dementia. *Nutr. Rev.* **68 Suppl 2**, S74-87 (2010).
177. Deane, R., Wu, Z. & Zlokovic, B. V. RAGE (yin) versus LRP (yang) balance regulates alzheimer amyloid beta-peptide clearance through transport across the blood-brain barrier. *Stroke* **35**, 2628–2631 (2004).
178. Sutcliffe, J. G., Hedlund, P. B., Thomas, E. A., Bloom, F. E. & Hilbush, B. S. Peripheral reduction of β -amyloid is sufficient to reduce brain β -amyloid: implications for Alzheimer's disease. *J. Neurosci. Res.* **89**, 808–814 (2011).
179. Hardy, J. & Selkoe, D. J. The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: progress and problems on the road to therapeutics. *Science* **297**, 353–356 (2002).
180. Levy, E. *et al.* Mutation of the Alzheimer's disease amyloid gene in hereditary cerebral hemorrhage, Dutch type. *Science* **248**, 1124–1126 (1990).
181. Deane, R. *et al.* LRP/amyloid beta-peptide interaction mediates differential brain efflux of A β isoforms. *Neuron* **43**, 333–344 (2004).
182. van Duinen, S. G. *et al.* Hereditary cerebral hemorrhage with amyloidosis in patients of Dutch origin is related to Alzheimer disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **84**, 5991–5994 (1987).
183. Wang, Z., Natté, R., Berliner, J. A., van Duinen, S. G. & Vinters, H. V. Toxicity of Dutch (E22Q) and Flemish (A21G) mutant amyloid beta proteins to human cerebral microvessel and aortic smooth muscle cells. *Stroke* **31**, 534–538 (2000).

184. Eisenhauer, P. B., Johnson, R. J., Wells, J. M., Davies, T. A. & Fine, R. E. Toxicity of various amyloid beta peptide species in cultured human blood-brain barrier endothelial cells: increased toxicity of dutch-type mutant. *J. Neurosci. Res.* **60**, 804–810 (2000).
185. Davis, J. & Van Nostrand, W. E. Enhanced pathologic properties of Dutch-type mutant amyloid beta-protein. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **93**, 2996–3000 (1996).
186. Hendriks, L. *et al.* Presenile dementia and cerebral haemorrhage linked to a mutation at codon 692 of the beta-amyloid precursor protein gene. *Nat. Genet.* **1**, 218–221 (1992).
187. Brooks, W. S. *et al.* Hemorrhage is uncommon in new Alzheimer family with Flemish amyloid precursor protein mutation. *Neurology* **63**, 1613–1617 (2004).
188. Miravalle, L. *et al.* Substitutions at codon 22 of Alzheimer's abeta peptide induce diverse conformational changes and apoptotic effects in human cerebral endothelial cells. *J. Biol. Chem.* **275**, 27110–27116 (2000).
189. Basun, H. *et al.* Clinical and neuropathological features of the arctic APP gene mutation causing early-onset Alzheimer disease. *Arch. Neurol.* **65**, 499–505 (2008).
190. Kumar-Singh, S. *et al.* In vitro studies of Flemish, Dutch, and wild-type beta-amyloid provide evidence for two-staged neurotoxicity. *Neurobiol. Dis.* **11**, 330–340 (2002).
191. Farzan, M., Schnitzler, C. E., Vasilieva, N., Leung, D. & Choe, H. BACE2, a beta -secretase homolog, cleaves at the beta site and within the amyloid-beta region of the amyloid-beta precursor protein. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **97**, 9712–9717 (2000).
192. Huet, A. & Derreumaux, P. Impact of the Mutation A21G (Flemish Variant) on Alzheimer's β -Amyloid Dimers by Molecular Dynamics Simulations. *Biophys. J.* **91**, 3829–3840 (2006).
193. Melchor, J. P., McVoy, L. & Van Nostrand, W. E. Charge alterations of E22 enhance the pathogenic properties of the amyloid beta-protein. *J. Neurochem.* **74**, 2209–2212 (2000).
194. Nilsberth, C. *et al.* The 'Arctic' APP mutation (E693G) causes Alzheimer's disease by enhanced Abeta protofibril formation. *Nat. Neurosci.* **4**, 887–893 (2001).
195. Murakami, K. *et al.* Synthesis, aggregation, neurotoxicity, and secondary structure of various A beta 1-42 mutants of familial Alzheimer's disease at positions 21-23. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **294**, 5–10 (2002).
196. Tsubuki, S., Takaki, Y. & Saido, T. C. Dutch, Flemish, Italian, and Arctic mutations of APP and resistance of Abeta to physiologically relevant proteolytic degradation. *Lancet Lond. Engl.* **361**, 1957–1958 (2003).
197. Tamaoka, A. *et al.* APP717 missense mutation affects the ratio of amyloid beta protein species (A beta 1-42/43 and a beta 1-40) in familial Alzheimer's disease brain. *J. Biol. Chem.* **269**, 32721–32724 (1994).
198. Herl, L. *et al.* Mutations in amyloid precursor protein affect its interactions with presenilin/gamma-secretase. *Mol. Cell. Neurosci.* **41**, 166–174 (2009).
199. Walker, L. C. Animal models of cerebral beta-amyloid angiopathy. *Brain Res. Brain Res. Rev.* **25**, 70–84 (1997).
200. Lee, J. H., Bacskai, B. J. & Ayata, C. Genetic Animal Models of Cerebral Vasculopathies. in *Progress in Molecular Biology and Translational Science* **105**, 25–55 (Elsevier, 2012).
201. Wisniewski, T. & Sigurdsson, E. M. Murine models of Alzheimer's disease and their use in developing immunotherapies. *Biochim. Biophys. Acta BBA - Mol. Basis Dis.* **1802**, 847–859 (2010).
202. Herzig, M. C. *et al.* Abeta is targeted to the vasculature in a mouse model of hereditary cerebral hemorrhage with amyloidosis. *Nat. Neurosci.* **7**, 954–960 (2004).
203. Herzig, M. C., Van Nostrand, W. E. & Jucker, M. Mechanism of cerebral beta-amyloid angiopathy: murine and cellular models. *Brain Pathol. Zurich Switz.* **16**, 40–54 (2006).
204. Sturchler-Pierrat, C. *et al.* Two amyloid precursor protein transgenic mouse models with Alzheimer disease-like pathology. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **94**, 13287–13292 (1997).
205. Hsiao, K. *et al.* Correlative memory deficits, Abeta elevation, and amyloid plaques in transgenic mice. *Science* **274**, 99–102 (1996).

206. Praticò, D., Uryu, K., Leight, S., Trojanowski, J. Q. & Lee, V. M. Increased lipid peroxidation precedes amyloid plaque formation in an animal model of Alzheimer amyloidosis. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* **21**, 4183–4187 (2001).
207. Irizarry, M. C. *et al.* Abeta deposition is associated with neuropil changes, but not with overt neuronal loss in the human amyloid precursor protein V717F (PDAPP) transgenic mouse. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* **17**, 7053–7059 (1997).
208. Ramos-Rodriguez, J. J. *et al.* Increased Spontaneous Central Bleeding and Cognition Impairment in APP/PS1 Mice with Poorly Controlled Diabetes Mellitus. *Mol. Neurobiol.* **53**, 2685–2697 (2016).
209. Irizarry, M. C. *et al.* Modulation of A beta deposition in APP transgenic mice by an apolipoprotein E null background. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **920**, 171–178 (2000).
210. Fryer, J. D. *et al.* Apolipoprotein E markedly facilitates age-dependent cerebral amyloid angiopathy and spontaneous hemorrhage in amyloid precursor protein transgenic mice. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* **23**, 7889–7896 (2003).
211. Oddo, S. *et al.* Triple-transgenic model of Alzheimer's disease with plaques and tangles: intracellular Abeta and synaptic dysfunction. *Neuron* **39**, 409–421 (2003).
212. Billings, L. M., Oddo, S., Green, K. N., McGaugh, J. L. & LaFerla, F. M. Intraneuronal Abeta causes the onset of early Alzheimer's disease-related cognitive deficits in transgenic mice. *Neuron* **45**, 675–688 (2005).
213. Sasaguri, H. *et al.* APP mouse models for Alzheimer's disease preclinical studies. *EMBO J.* e201797397 (2017). doi:10.15252/emboj.201797397
214. Farooqui, A. A. *Neurochemical Aspects of Alzheimer's Disease : Risk Factors, Pathogenesis, Biomarkers, and Potential Treatment Strategies.* (2017).
215. Grammas, P. Neurovascular dysfunction, inflammation and endothelial activation: Implications for the pathogenesis of Alzheimer's disease. *J. Neuroinflammation* **8**, 26 (2011).
216. Dá Mesquita, S. *et al.* Insights on the pathophysiology of Alzheimer's disease: The crosstalk between amyloid pathology, neuroinflammation and the peripheral immune system. *Neurosci. Biobehav. Rev.* **68**, 547–562 (2016).
217. Heppner, F. L., Ransohoff, R. M. & Becher, B. Immune attack: the role of inflammation in Alzheimer disease. *Nat. Rev. Neurosci.* **16**, 358–372 (2015).
218. Karch, C. M. & Goate, A. M. Alzheimer's Disease Risk Genes and Mechanisms of Disease Pathogenesis. *Biol. Psychiatry* **77**, 43–51 (2015).
219. Perry, V. H. & Teeling, J. Microglia and macrophages of the central nervous system: the contribution of microglia priming and systemic inflammation to chronic neurodegeneration. *Semin. Immunopathol.* **35**, 601–612 (2013).
220. Lawson, L. J., Perry, V. H. & Gordon, S. Turnover of resident microglia in the normal adult mouse brain. *Neuroscience* **48**, 405–415 (1992).
221. Kim, Y. S. & Joh, T. H. Microglia, major player in the brain inflammation: their roles in the pathogenesis of Parkinson's disease. *Exp. Mol. Med.* **38**, 333–347 (2006).
222. Sastre, M., Klockgether, T. & Heneka, M. T. Contribution of inflammatory processes to Alzheimer's disease: molecular mechanisms. *Int. J. Dev. Neurosci.* **24**, 167–176 (2006).
223. Xavier, A. L., Menezes, J. R. L., Goldman, S. A. & Nedergaard, M. Fine-tuning the central nervous system: microglial modelling of cells and synapses. *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* **369**, 20130593–20130593 (2014).
224. Griffin, W. S. *et al.* Glial-neuronal interactions in Alzheimer's disease: the potential role of a 'cytokine cycle' in disease progression. *Brain Pathol. Zurich Switz.* **8**, 65–72 (1998).
225. Wojtera, M., Sikorska, B., Sobow, T. & Liberski, P. P. Microglial cells in neurodegenerative disorders. *Folia Neuropathol.* **43**, 311–321 (2005).
226. Morales, I., Guzmán-Martínez, L., Cerda-Troncoso, C., Farías, G. A. & Maccioni, R. B. Neuroinflammation in the pathogenesis of Alzheimer's disease. A rational framework for the search of novel therapeutic approaches. *Front. Cell. Neurosci.* **8**, (2014).

227. Thériault, P., ElAli, A. & Rivest, S. The dynamics of monocytes and microglia in Alzheimer's disease. *Alzheimers Res. Ther.* **7**, (2015).
228. Haass, C. & Selkoe, D. J. Soluble protein oligomers in neurodegeneration: lessons from the Alzheimer's amyloid beta-peptide. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **8**, 101–112 (2007).
229. Ries, M. & Sastre, M. Mechanisms of A β Clearance and Degradation by Glial Cells. *Front. Aging Neurosci.* **8**, (2016).
230. Lucin, K. M. *et al.* Microglial beclin 1 regulates retromer trafficking and phagocytosis and is impaired in Alzheimer's disease. *Neuron* **79**, 873–886 (2013).
231. Krabbe, G. *et al.* Functional Impairment of Microglia Coincides with Beta-Amyloid Deposition in Mice with Alzheimer-Like Pathology. *PLOS ONE* **8**, e60921 (2013).
232. Hickman, S. E., Allison, E. K. & El Khoury, J. Microglial dysfunction and defective beta-amyloid clearance pathways in aging Alzheimer's disease mice. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* **28**, 8354–8360 (2008).
233. Grathwohl, S. A. *et al.* Formation and maintenance of Alzheimer's disease beta-amyloid plaques in the absence of microglia. *Nat. Neurosci.* **12**, 1361–1363 (2009).
234. Lampron, A., Elali, A. & Rivest, S. Innate immunity in the CNS: redefining the relationship between the CNS and its environment. *Neuron* **78**, 214–232 (2013).
235. Zabel, M. *et al.* A shift in microglial β -amyloid binding in Alzheimer's disease is associated with cerebral amyloid angiopathy. *Brain Pathol. Zurich Switz.* **23**, 390–401 (2013).
236. Bell, R. D. & Zlokovic, B. V. Neurovascular mechanisms and blood-brain barrier disorder in Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol. (Berl.)* **118**, 103–113 (2009).
237. Asherson, R. A., Cervera, R., Triplett, D. A. & Abramson, S. B. *Vascular Manifestations of Systemic Autoimmune Diseases.* (2001).
238. Anderson, J. M. & Miller, K. M. Biomaterial biocompatibility and the macrophage. *Biomaterials* **5**, 5–10 (1984).
239. Zabel, M. K. & Kirsch, W. M. From development to dysfunction: Microglia and the complement cascade in CNS homeostasis. *Ageing Res. Rev.* **12**, 749–756 (2013).
240. Liu, S. *et al.* TLR2 Is a Primary Receptor for Alzheimer's Amyloid Peptide To Trigger Neuroinflammatory Activation. *J. Immunol.* **188**, 1098–1107 (2012).
241. Stewart, C. R. *et al.* CD36 ligands promote sterile inflammation through assembly of a Toll-like receptor 4 and 6 heterodimer. *Nat. Immunol.* **11**, 155–161 (2010).
242. Deane, R. *et al.* A multimodal RAGE-specific inhibitor reduces amyloid β -mediated brain disorder in a mouse model of Alzheimer disease. *J. Clin. Invest.* **122**, 1377–1392 (2012).
243. Halle, A. *et al.* The NALP3 inflammasome is involved in the innate immune response to amyloid-beta. *Nat. Immunol.* **9**, 857–865 (2008).
244. Lee, K. M. New advances on glial activation in health and disease. *World J. Virol.* **4**, 42 (2015).
245. Heppner, F. L., Ransohoff, R. M. & Becher, B. Immune attack: the role of inflammation in Alzheimer disease. *Nat. Rev. Neurosci.* **16**, 358–372 (2015).
246. Nagele, R. G., D'Andrea, M. R., Lee, H., Venkataraman, V. & Wang, H.-Y. Astrocytes accumulate A beta 42 and give rise to astrocytic amyloid plaques in Alzheimer disease brains. *Brain Res.* **971**, 197–209 (2003).
247. Vijayan, V. K. *et al.* Astrocyte hypertrophy in the Alzheimer's disease hippocampal formation. *Exp. Neurol.* **112**, 72–78 (1991).
248. Blanco, A., Alvarez, S., Fresno, M. & Muñoz-Fernández, M. Á. Amyloid- β induces cyclooxygenase-2 and PGE2 release in human astrocytes in NF- κ B dependent manner. *J. Alzheimers Dis. JAD* **22**, 493–505 (2010).
249. Kraft, A. W. *et al.* Attenuating astrocyte activation accelerates plaque pathogenesis in APP/PS1 mice. *FASEB J.* **27**, 187–198 (2013).
250. Verkhratsky, A., Rodríguez, J. J. & Parpura, V. Astroglia in neurological diseases. *Future Neurol.* **8**, 149–158 (2013).
251. Terry, R. D. Cell death or synaptic loss in Alzheimer disease. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* **59**, 1118–1119 (2000).

252. Walker, D. G., Dalsing-Hernandez, J. E., Campbell, N. A. & Lue, L.-F. Decreased expression of CD200 and CD200 receptor in Alzheimer's disease: A potential mechanism leading to chronic inflammation. *Exp. Neurol.* **215**, 5–19 (2009).
253. Mott, R. T. *et al.* Neuronal expression of CD22: novel mechanism for inhibiting microglial proinflammatory cytokine production. *Glia* **46**, 369–379 (2004).
254. Sullivan, G. W., Sarembock, I. J. & Linden, J. The role of inflammation in vascular diseases. *J. Leukoc. Biol.* **67**, 591–602 (2000).
255. Glezeva, N., Horgan, S. & Baugh, J. A. Monocyte and macrophage subsets along the continuum to heart failure: Misguided heroes or targetable villains? *J. Mol. Cell. Cardiol.* **89**, 136–145 (2015).
256. El Khoury, J. *et al.* Ccr2 deficiency impairs microglial accumulation and accelerates progression of Alzheimer-like disease. *Nat. Med.* **13**, 432–438 (2007).
257. Hickey, W. F. & Kimura, H. Perivascular microglial cells of the CNS are bone marrow-derived and present antigen *in vivo*. *Science* **239**, 290–292 (1988).
258. Ziegler-Heitbrock, L. *et al.* Nomenclature of monocytes and dendritic cells in blood. *Blood* **116**, e74–e80 (2010).
259. Schauer, D. *et al.* Intermediate Monocytes but Not TIE2-Expressing Monocytes Are a Sensitive Diagnostic Indicator for Colorectal Cancer. *PLoS ONE* **7**, e44450 (2012).
260. Gordon, S. & Taylor, P. R. Monocyte and macrophage heterogeneity. *Nat. Rev. Immunol.* **5**, 953–964 (2005).
261. Naert, G. & Rivest, S. A deficiency in CCR2+ monocytes: the hidden side of Alzheimer's disease. *J. Mol. Cell Biol.* **5**, 284–293 (2013).
262. Fiala, M. *et al.* Ineffective phagocytosis of amyloid-beta by macrophages of Alzheimer's disease patients. *J. Alzheimers Dis. JAD* **7**, 221–232; discussion 255–262 (2005).
263. Michaud, J.-P., Bellavance, M.-A., Préfontaine, P. & Rivest, S. Real-time *in vivo* imaging reveals the ability of monocytes to clear vascular amyloid beta. *Cell Rep.* **5**, 646–653 (2013).
264. Saresella, M. *et al.* A complex proinflammatory role for peripheral monocytes in Alzheimer's disease. *J. Alzheimers Dis. JAD* **38**, 403–413 (2014).
265. Simard, A. R., Soulet, D., Gowing, G., Julien, J.-P. & Rivest, S. Bone marrow-derived microglia play a critical role in restricting senile plaque formation in Alzheimer's disease. *Neuron* **49**, 489–502 (2006).
266. Lund, H., Zhang, X. & Harris, R. Regulation of amyloid beta oligomer phagocytosis by M1 and M2 macrophage polarization. *J. Neuroimmunol.* **275**, 87–88 (2014).
267. Hawkes, C. A. & McLaurin, J. Selective targeting of perivascular macrophages for clearance of beta-amyloid in cerebral amyloid angiopathy. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **106**, 1261–1266 (2009).
268. Barrett, J. P. *et al.* Bone marrow-derived macrophages from A β PP/PS1 mice are sensitized to the effects of inflammatory stimuli. *J. Alzheimers Dis. JAD* **44**, 949–962 (2015).
269. Suo, Z. *et al.* Alzheimer's beta-amyloid peptides induce inflammatory cascade in human vascular cells: the roles of cytokines and CD40. *Brain Res.* **807**, 110–117 (1998).
270. Vukic, V. *et al.* Expression of inflammatory genes induced by beta-amyloid peptides in human brain endothelial cells and in Alzheimer's brain is mediated by the JNK-AP1 signaling pathway. *Neurobiol. Dis.* **34**, 95–106 (2009).
271. Li, M. *et al.* Amyloid beta interaction with receptor for advanced glycation end products up-regulates brain endothelial CCR5 expression and promotes T cells crossing the blood-brain barrier. *J. Immunol. Baltim. Md 1950* **182**, 5778–5788 (2009).
272. Vromman, A. *et al.* β -Amyloid context intensifies vascular smooth muscle cells induced inflammatory response and de-differentiation. *Aging Cell* **12**, 358–369 (2013).
273. Grammas, P. A damaged microcirculation contributes to neuronal cell death in Alzheimer's disease. *Neurobiol. Aging* **21**, 199–205 (2000).
274. Grammas, P., Moore, P. & Weigel, P. H. Microvessels from Alzheimer's disease brains kill neurons *in vitro*. *Am. J. Pathol.* **154**, 337–342 (1999).

275. Davis, J., Wagner, M. R., Zhang, W., Xu, F. & Van Nostrand, W. E. Amyloid beta-protein stimulates the expression of urokinase-type plasminogen activator (uPA) and its receptor (uPAR) in human cerebrovascular smooth muscle cells. *J. Biol. Chem.* **278**, 19054–19061 (2003).
276. Syrovets, T., Lunov, O. & Simmet, T. Plasmin as a proinflammatory cell activator. *J. Leukoc. Biol.* **92**, 509–519 (2012).
277. Michel, J.-B. Anoikis in the cardiovascular system: known and unknown extracellular mediators. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* **23**, 2146–2154 (2003).
278. Togo, T. *et al.* Occurrence of T cells in the brain of Alzheimer's disease and other neurological diseases. *J. Neuroimmunol.* **124**, 83–92 (2002).
279. Nicoll, J. A. R. *et al.* Neuropathology of human Alzheimer disease after immunization with amyloid-beta peptide: a case report. *Nat. Med.* **9**, 448–452 (2003).
280. Tan, J. *et al.* CD45 isoform alteration in CD4+ T cells as a potential diagnostic marker of Alzheimer's disease. *J. Neuroimmunol.* **132**, 164–172 (2002).
281. Ferretti, M. T. *et al.* T-cell brain infiltration and immature antigen-presenting cells in transgenic models of Alzheimer's disease-like cerebral amyloidosis. *Brain. Behav. Immun.* **54**, 211–225 (2016).
282. Rossi, B., Angiari, S., Zenaro, E., Budui, S. L. & Constantin, G. Vascular inflammation in central nervous system diseases: adhesion receptors controlling leukocyte-endothelial interactions. *J. Leukoc. Biol.* **89**, 539–556 (2011).
283. Buckwalter, M. S. *et al.* Increased T cell recruitment to the CNS after amyloid beta 1-42 immunization in Alzheimer's mice overproducing transforming growth factor-beta 1. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* **26**, 11437–11441 (2006).
284. Pierson, E., Simmons, S. B., Castelli, L. & Goverman, J. M. Mechanisms regulating regional localization of inflammation during CNS autoimmunity. *Immunol. Rev.* **248**, 205–215 (2012).
285. McQuillan, K., Lynch, M. A. & Mills, K. H. G. Activation of mixed glia by Abeta-specific Th1 and Th17 cells and its regulation by Th2 cells. *Brain. Behav. Immun.* **24**, 598–607 (2010).
286. Dansokho, C. *et al.* Regulatory T cells delay disease progression in Alzheimer-like pathology. *Brain J. Neurol.* **139**, 1237–1251 (2016).
287. Martorana, A. *et al.* Immunosenescence, inflammation and Alzheimer's disease. *Longev. Heal.* **1**, 8 (2012).
288. Richartz-Salzbunger, E. *et al.* Altered lymphocyte distribution in Alzheimer's disease. *J. Psychiatr. Res.* **41**, 174–178 (2007).
289. Zhang, J. *et al.* Telomere dysfunction of lymphocytes in patients with Alzheimer disease. *Cogn. Behav. Neurol. Off. J. Soc. Behav. Cogn. Neurol.* **16**, 170–176 (2003).
290. Bard, F. *et al.* Peripherally administered antibodies against amyloid beta-peptide enter the central nervous system and reduce pathology in a mouse model of Alzheimer disease. *Nat. Med.* **6**, 916–919 (2000).
291. Town, T. *et al.* Blocking TGF-beta-Smad2/3 innate immune signaling mitigates Alzheimer-like pathology. *Nat. Med.* **14**, 681–687 (2008).
292. Holmes, C. *et al.* Long-term effects of Abeta42 immunisation in Alzheimer's disease: follow-up of a randomised, placebo-controlled phase I trial. *Lancet Lond. Engl.* **372**, 216–223 (2008).
293. Weiner, H. L. & Frenkel, D. Immunology and immunotherapy of Alzheimer's disease. *Nat. Rev. Immunol.* **6**, 404–416 (2006).
294. Boche, D. *et al.* Consequence of Abeta immunization on the vasculature of human Alzheimer's disease brain. *Brain J. Neurol.* **131**, 3299–3310 (2008).
295. Liu, Y.-H. *et al.* Clearance of amyloid-beta in Alzheimer's disease: shifting the action site from center to periphery. *Mol. Neurobiol.* **51**, 1–7 (2015).
296. McGeer, P. L., Schulzer, M. & McGeer, E. G. Arthritis and anti-inflammatory agents as possible protective factors for Alzheimer's disease: a review of 17 epidemiologic studies. *Neurology* **47**, 425–432 (1996).
297. Baigent, C. & Patrono, C. Selective cyclooxygenase 2 inhibitors, aspirin, and cardiovascular disease: A reappraisal. *Arthritis Rheum.* **48**, 12–20 (2003).

298. Jiang, C., Ting, A. T. & Seed, B. PPAR-gamma agonists inhibit production of monocyte inflammatory cytokines. *Nature* **391**, 82–86 (1998).
299. Choi, S.-H. & Bosetti, F. Cyclooxygenase-1 null mice show reduced neuroinflammation in response to beta-amyloid. *Aging* **1**, 234–244 (2009).
300. Sastre, M. *et al.* Nonsteroidal anti-inflammatory drugs repress beta-secretase gene promoter activity by the activation of PPARgamma. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **103**, 443–448 (2006).
301. Pulcinelli, F. M. *et al.* Inhibition of platelet aggregation by aspirin progressively decreases in long-term treated patients. *J. Am. Coll. Cardiol.* **43**, 979–984 (2004).
302. Goldstein, J. & Cryer, B. Gastrointestinal injury associated with NSAID use: a case study and review of risk factors and preventative strategies. *Drug Healthc. Patient Saf.* **31** (2015). doi:10.2147/DHPS.S71976
303. Breitner, J. C. S. *et al.* Risk of dementia and AD with prior exposure to NSAIDs in an elderly community-based cohort. *Neurology* **72**, 1899–1905 (2009).
304. Arvanitakis, Z. *et al.* Relation of NSAIDs to incident AD, change in cognitive function, and AD pathology. *Neurology* **70**, 2219–2225 (2008).
305. Dearthoff, W. J. & Grossberg, G. T. Targeting neuroinflammation in Alzheimer’s disease: evidence for NSAIDs and novel therapeutics. *Expert Rev. Neurother.* **17**, 17–32 (2017).
306. Morris, M. C. *et al.* Consumption of fish and n-3 fatty acids and risk of incident Alzheimer disease. *Arch. Neurol.* **60**, 940–946 (2003).
307. Gregg, E. W., Engelgau, M. M. & Narayan, V. Complications of diabetes in elderly people. *BMJ* **325**, 916–917 (2002).
308. Kalmijn, S. *et al.* Dietary fat intake and the risk of incident dementia in the Rotterdam Study. *Ann. Neurol.* **42**, 776–782 (1997).
309. Valentine, R. C. & Valentine, D. L. Omega-3 fatty acids in cellular membranes: a unified concept. *Prog. Lipid Res.* **43**, 383–402 (2004).
310. Vogel, J. H. K. *et al.* Integrating complementary medicine into cardiovascular medicine. A report of the American College of Cardiology Foundation Task Force on Clinical Expert Consensus Documents (Writing Committee to Develop an Expert Consensus Document on Complementary and Integrative Medicine). *J. Am. Coll. Cardiol.* **46**, 184–221 (2005).
311. Breslow, J. L. n-3 fatty acids and cardiovascular disease. *Am. J. Clin. Nutr.* **83**, 1477S–1482S (2006).
312. Mozaffarian, D. & Wu, J. H. Y. Omega-3 fatty acids and cardiovascular disease: effects on risk factors, molecular pathways, and clinical events. *J. Am. Coll. Cardiol.* **58**, 2047–2067 (2011).
313. Moreno, J. H. & Diamond, J. M. Cation permeation mechanisms and cation selectivity in ‘tight junctions’ of gallbladder epithelium. *Membranes* **3**, 383–497 (1975).
314. Fahy, E., Cotter, D., Sud, M. & Subramaniam, S. Lipid classification, structures and tools. *Biochim. Biophys. Acta BBA - Mol. Cell Biol. Lipids* **1811**, 637–647 (2011).
315. The Nomenclature of Lipids. Recommendations, 1976. *Eur. J. Biochem.* **79**, 11–21 (1977).
316. Liebisch, G. *et al.* Shorthand notation for lipid structures derived from mass spectrometry. *J. Lipid Res.* **54**, 1523–1530 (2013).
317. Lichtenstein, A. H. Fats and Oils. in *Encyclopedia of Human Nutrition* 201–208 (Elsevier, 2013). doi:10.1016/B978-0-12-375083-9.00097-0
318. Kabagambe, E. K., Baylin, A., Siles, X. & Campos, H. Individual saturated fatty acids and nonfatal acute myocardial infarction in Costa Rica. *Eur. J. Clin. Nutr.* **57**, 1447–1457 (2003).
319. Latreille, J. *et al.* Dietary Monounsaturated Fatty Acids Intake and Risk of Skin Photoaging. *PLoS ONE* **7**, e44490 (2012).
320. Lobo, V., Patil, A., Phatak, A. & Chandra, N. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacogn. Rev.* **4**, 118 (2010).
321. Lee, J., Lee, H., Kang, S. & Park, W. Fatty Acid Desaturases, Polyunsaturated Fatty Acid Regulation, and Biotechnological Advances. *Nutrients* **8**, 23 (2016).
322. Abedi, E. & Sahari, M. A. Long-chain polyunsaturated fatty acid sources and evaluation of their nutritional and functional properties. *Food Sci. Nutr.* **2**, 443–463 (2014).

323. Muskiet, F. A. J. *et al.* Long-chain polyunsaturated fatty acids in maternal and infant nutrition. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids* **75**, 135–144 (2006).
324. McNamara, R. K. & Carlson, S. E. Role of omega-3 fatty acids in brain development and function: potential implications for the pathogenesis and prevention of psychopathology. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids* **75**, 329–349 (2006).
325. Owen, M. R., Corstorphine, C. C. & Zammit, V. A. Overt and latent activities of diacylglycerol acyltransferase in rat liver microsomes: possible roles in very-low-density lipoprotein triacylglycerol secretion. *Biochem. J.* **323 (Pt 1)**, 17–21 (1997).
326. Aslam, M., Torrence, G. P. & Zey, E. G. Esterification. in *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology* (ed. John Wiley & Sons, Inc.) (John Wiley & Sons, Inc., 2000). doi:10.1002/0471238961.0519200501191201.a01
327. Wakil, S. J. Fatty acid synthase, a proficient multifunctional enzyme. *Biochemistry (Mosc.)* **28**, 4523–4530 (1989).
328. Kalish, B. T., Fallon, E. M. & Puder, M. A Tutorial on Fatty Acid Biology. *J. Parenter. Enter. Nutr.* **36**, 380–388 (2012).
329. Innis, S. M. Essential fatty acid requirements in human nutrition. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* **71**, 699–706 (1993).
330. Le, H. D. *et al.* Docosahexaenoic acid and arachidonic acid prevent essential fatty acid deficiency and hepatic steatosis. *JPEN J. Parenter. Enteral Nutr.* **36**, 431–441 (2012).
331. Pawlosky, R. J., Hibbeln, J. R., Novotny, J. A. & Salem, N. Physiological compartmental analysis of alpha-linolenic acid metabolism in adult humans. *J. Lipid Res.* **42**, 1257–1265 (2001).
332. Aizawa, Y. Chronic hepatitis C virus infection and lipoprotein metabolism. *World J. Gastroenterol.* **21**, 10299 (2015).
333. Gui, Y. *et al.* 17- β -estradiol up-regulates apolipoprotein genes expression during osteoblast differentiation in vitro. *Biosci. Trends* **10**, 140–151 (2016).
334. Bassendine, M. F. *et al.* HCV and the hepatic lipid pathway as a potential treatment target. *J. Hepatol.* **55**, 1428–1440 (2011).
335. Fernandez, M. L. & West, K. L. Mechanisms by which dietary fatty acids modulate plasma lipids. *J. Nutr.* **135**, 2075–2078 (2005).
336. Olesen, O. F. & Dagø, L. High density lipoprotein inhibits assembly of amyloid beta-peptides into fibrils. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **270**, 62–66 (2000).
337. Kontush, A. & Chapman, M. J. HDL: close to our memories? *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* **28**, 1418–1420 (2008).
338. Hamilton, J. A., Johnson, R. A., Corkey, B. & Kamp, F. Fatty Acid Transport: The Diffusion Mechanism in Model and Biological Membranes. *J. Mol. Neurosci.* **16**, 99–108 (2001).
339. Hamilton, J. A., Guo, W. & Kamp, F. Mechanism of cellular uptake of long-chain fatty acids: Do we need cellular proteins? *Mol. Cell. Biochem.* **239**, 17–23 (2002).
340. Hamilton, J. A. Transport of fatty acids across membranes by the diffusion mechanism. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids* **60**, 291–297 (1999).
341. Hamilton, J. A. Fatty acid transport: difficult or easy? *J. Lipid Res.* **39**, 467–481 (1998).
342. Bazinet, R. P. & Layé, S. Polyunsaturated fatty acids and their metabolites in brain function and disease. *Nat. Rev. Neurosci.* **15**, 771–785 (2014).
343. Sastry, P. S. Lipids of nervous tissue: composition and metabolism. *Prog. Lipid Res.* **24**, 69–176 (1985).
344. Yamamoto, N., Saitoh, M., Moriuchi, A., Nomura, M. & Okuyama, H. Effect of dietary alpha-linolenate/linoleate balance on brain lipid compositions and learning ability of rats. *J. Lipid Res.* **28**, 144–151 (1987).
345. Bereziat, G. [Turnover of fatty acids in cell membranes]. *Ann. Nutr. Aliment.* **34**, 241–254 (1980).
346. Hishikawa, D. *et al.* Discovery of a lysophospholipid acyltransferase family essential for membrane asymmetry and diversity. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **105**, 2830–2835 (2008).

347. Pérez-Chacón, G., Astudillo, A. M., Balmora, D., Balboa, M. A. & Balsinde, J. Control of free arachidonic acid levels by phospholipases A2 and lysophospholipid acyltransferases. *Biochim. Biophys. Acta* **1791**, 1103–1113 (2009).
348. Rouzer, C. A. & Marnett, L. J. Endocannabinoid oxygenation by cyclooxygenases, lipoxygenases, and cytochromes P450: cross-talk between the eicosanoid and endocannabinoid signaling pathways. *Chem. Rev.* **111**, 5899–5921 (2011).
349. Farooqui, A. A., Yang, H. C., Rosenberger, T. A. & Horrocks, L. A. Phospholipase A2 and its role in brain tissue. *J. Neurochem.* **69**, 889–901 (1997).
350. Hendriks, H. R., Korn, C., Duijvestijn, A. M. & Kraal, G. Changes in lymphocyte binding and expression of His 22 of high endothelial venules in rat lymph nodes after occlusion of afferent lymph flow. *Adv. Exp. Med. Biol.* **237**, 485–490 (1988).
351. Fülöp, T. *et al.* Blood laboratory parameters of carefully selected healthy elderly people. *Arch. Gerontol. Geriatr.* **8**, 151–163 (1989).
352. Farooqui, A. A., Horrocks, L. A. & Farooqui, T. Glycerophospholipids in brain: their metabolism, incorporation into membranes, functions, and involvement in neurological disorders. *Chem. Phys. Lipids* **106**, 1–29 (2000).
353. Rapoport, S. I. In vivo fatty acid incorporation into brain phospholipids in relation to signal transduction and membrane remodeling. *Neurochem. Res.* **24**, 1403–1415 (1999).
354. Serhan, C. N., Chiang, N. & Van Dyke, T. E. Resolving inflammation: dual anti-inflammatory and pro-resolution lipid mediators. *Nat. Rev. Immunol.* **8**, 349–361 (2008).
355. Stables, M. J. & Gilroy, D. W. Old and new generation lipid mediators in acute inflammation and resolution. *Prog. Lipid Res.* **50**, 35–51 (2011).
356. Smith, R. N., Braue, A., Varigos, G. A. & Mann, N. J. The effect of a low glycemic load diet on acne vulgaris and the fatty acid composition of skin surface triglycerides. *J. Dermatol. Sci.* **50**, 41–52 (2008).
357. O'Neill, G. P. & Ford-Hutchinson, A. W. Expression of mRNA for cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2 in human tissues. *FEBS Lett.* **330**, 156–160 (1993).
358. Smith, W. L., DeWitt, D. L. & Garavito, R. M. Cyclooxygenases: structural, cellular, and molecular biology. *Annu. Rev. Biochem.* **69**, 145–182 (2000).
359. Morita, I. *et al.* Different intracellular locations for prostaglandin endoperoxide H synthase-1 and -2. *J. Biol. Chem.* **270**, 10902–10908 (1995).
360. Dennis, E. A. & Norris, P. C. Eicosanoid storm in infection and inflammation. *Nat. Rev. Immunol.* **15**, 511–523 (2015).
361. Harizi, H., Corcuff, J.-B. & Gualde, N. Arachidonic-acid-derived eicosanoids: roles in biology and immunopathology. *Trends Mol. Med.* **14**, 461–469 (2008).
362. Funk, C. D. Prostaglandins and leukotrienes: advances in eicosanoid biology. *Science* **294**, 1871–1875 (2001).
363. Iversen, L. & Kragballe, K. Arachidonic acid metabolism in skin health and disease. *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* **63**, 25–42 (2000).
364. Yamamoto, S., Suzuki, H., Nakamura, M. & Ishimura, K. Arachidonate 12-lipoxygenase isozymes. *Adv. Exp. Med. Biol.* **447**, 37–44 (1999).
365. Brash, A. R., Jisaka, M., Boeglin, W. E. & Chang, M. S. Molecular cloning of a second human 15S-lipoxygenase and its murine homologue, an 8S-lipoxygenase. Their relationship to other mammalian lipoxygenases. *Adv. Exp. Med. Biol.* **447**, 29–36 (1999).
366. Kühn, H. & Bornergräber, S. Mammalian 15-lipoxygenases. Enzymatic properties and biological implications. *Adv. Exp. Med. Biol.* **447**, 5–28 (1999).
367. Dahlén, S. E. *et al.* Leukotrienes promote plasma leakage and leukocyte adhesion in postcapillary venules: in vivo effects with relevance to the acute inflammatory response. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **78**, 3887–3891 (1981).
368. Rådmark, O., Werz, O., Steinhilber, D. & Samuelsson, B. 5-Lipoxygenase, a key enzyme for leukotriene biosynthesis in health and disease. *Biochim. Biophys. Acta* **1851**, 331–339 (2015).

369. Sahu, S. & Lynn, W. S. Lipid chemotaxins isolated from culture filtrates of *Escherichia coli* and from oxidized lipids. *Inflammation* **2**, 47–54 (1977).
370. Goetzl, E. J., Hill, H. R. & Gorman, R. R. Unique aspects of the modulation of human neutrophil function by 12-L-hydroperoxy-5,8,10,14-eicosatetraenoic acid. *Prostaglandins* **19**, 71–85 (1980).
371. Palmer, R. M., Stepney, R. J., Higgs, G. A. & Eakins, K. E. Chemokinetic activity of arachidonic and lipoxygenase products on leucocytes of different species. *Prostaglandins* **20**, 411–418 (1980).
372. Huber, J. *et al.* Specific monocyte adhesion to endothelial cells induced by oxidized phospholipids involves activation of cPLA2 and lipoxygenase. *J. Lipid Res.* **47**, 1054–1062 (2006).
373. Honda, H. M. *et al.* Induction of monocyte binding to endothelial cells by MM-LDL: role of lipoxygenase metabolites. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* **19**, 680–686 (1999).
374. Dowd, P. M., Kobza Black, A., Woollard, P. M., Camp, R. D. & Greaves, M. W. Cutaneous responses to 12-hydroxy-5,8,10,14-eicosatetraenoic acid (12-HETE). *J. Invest. Dermatol.* **84**, 537–541 (1985).
375. Woollard, P. M. *et al.* A comparison of the proinflammatory effects of 12(R)- and 12(S)-hydroxy-5,8,10,14-eicosatetraenoic acid in human skin. *Prostaglandins* **38**, 465–471 (1989).
376. Shureiqi, I. & Lippman, S. M. Lipoxygenase modulation to reverse carcinogenesis. *Cancer Res.* **61**, 6307–6312 (2001).
377. Zhu, D. & Ran, Y. Role of 15-lipoxygenase/15-hydroxyeicosatetraenoic acid in hypoxia-induced pulmonary hypertension. *J. Physiol. Sci. JPS* **62**, 163–172 (2012).
378. Schneider, C. & Pozzi, A. Cyclooxygenases and lipoxygenases in cancer. *Cancer Metastasis Rev.* **30**, 277–294 (2011).
379. Tóth, L., Muszbek, L. & Komáromi, I. Mechanism of the irreversible inhibition of human cyclooxygenase-1 by aspirin as predicted by QM/MM calculations. *J. Mol. Graph. Model.* **40**, 99–109 (2013).
380. Poorani, R., Bhatt, A. N., Dwarakanath, B. S. & Das, U. N. COX-2, aspirin and metabolism of arachidonic, eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids and their physiological and clinical significance. *Eur. J. Pharmacol.* **785**, 116–132 (2016).
381. Maddox, J. F. *et al.* Lipoxin B4 regulates human monocyte/neutrophil adherence and motility: design of stable lipoxin B4 analogs with increased biologic activity. *FASEB J. Off. Publ. Fed. Am. Soc. Exp. Biol.* **12**, 487–494 (1998).
382. Romano, M., Cianci, E., Simiele, F. & Recchiuti, A. Lipoxins and aspirin-triggered lipoxins in resolution of inflammation. *Eur. J. Pharmacol.* **760**, 49–63 (2015).
383. Souza, M. C. *et al.* Lipoxin A4 attenuates endothelial dysfunction during experimental cerebral malaria. *Int. Immunopharmacol.* **24**, 400–407 (2015).
384. Baker, N., O'Meara, S. J., Scannell, M., Maderna, P. & Godson, C. Lipoxin A4: anti-inflammatory and anti-angiogenic impact on endothelial cells. *J. Immunol. Baltim. Md 1950* **182**, 3819–3826 (2009).
385. Sodin-Semrl, S. *et al.* Opposing regulation of interleukin-8 and NF-kappaB responses by lipoxin A4 and serum amyloid A via the common lipoxin A receptor. *Int. J. Immunopathol. Pharmacol.* **17**, 145–156 (2004).
386. Walker, J. *et al.* Lipoxin a4 increases survival by decreasing systemic inflammation and bacterial load in sepsis. *Shock Augusta Ga* **36**, 410–416 (2011).
387. Sugimoto, M. A., Sousa, L. P., Pinho, V., Perretti, M. & Teixeira, M. M. Resolution of Inflammation: What Controls Its Onset? *Front. Immunol.* **7**, (2016).
388. Buckley, C. D., Gilroy, D. W., Serhan, C. N., Stockinger, B. & Tak, P. P. The resolution of inflammation. *Nat. Rev. Immunol.* **13**, 59–66 (2012).
389. Ariel, A. *et al.* Apoptotic neutrophils and T cells sequester chemokines during immune response resolution through modulation of CCR5 expression. *Nat. Immunol.* **7**, 1209–1216 (2006).

390. Serhan, C. N. & Savill, J. Resolution of inflammation: the beginning programs the end. *Nat. Immunol.* **6**, 1191–1197 (2005).
391. Zárate, R., el Jaber-Vazdekis, N., Tejera, N., Pérez, J. A. & Rodríguez, C. Significance of long chain polyunsaturated fatty acids in human health. *Clin. Transl. Med.* **6**, (2017).
392. Chen, X.-Q., Wu, S.-H., Zhou, Y. & Tang, Y.-R. Lipoxin A4-Induced Heme Oxygenase-1 Protects Cardiomyocytes against Hypoxia/Reoxygenation Injury via p38 MAPK Activation and Nrf2/ARE Complex. *PLOS ONE* **8**, e67120 (2013).
393. Miyahara, T. *et al.* D-series resolvins attenuates vascular smooth muscle cell activation and neointimal hyperplasia following vascular injury. *FASEB J. Off. Publ. Fed. Am. Soc. Exp. Biol.* **27**, 2220–2232 (2013).
394. Zhang, T. *et al.* Resolvin D1 protects against hepatic ischemia/reperfusion injury in rats. *Int. Immunopharmacol.* **28**, 322–327 (2015).
395. Zhu, M. *et al.* Pro-Resolving Lipid Mediators Improve Neuronal Survival and Increase A β 42 Phagocytosis. *Mol. Neurobiol.* **53**, 2733–2749 (2016).
396. Fierro, I. M. & Serhan, C. N. Mechanisms in anti-inflammation and resolution: the role of lipoxins and aspirin-triggered lipoxins. *Braz. J. Med. Biol. Res. Rev. Bras. Pesqui. Medicas E Biol.* **34**, 555–566 (2001).
397. Serhan, C. N. Novel chemical mediators in the resolution of inflammation: resolvins and protectins. *Anesthesiol. Clin.* **24**, 341–364 (2006).
398. Serhan, C. N. *et al.* Maresins: novel macrophage mediators with potent antiinflammatory and proresolving actions. *J. Exp. Med.* **206**, 15–23 (2009).
399. Serhan, C. N. Mediator lipidomics. *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* **77**, 4–14 (2005).
400. Basil, M. C. & Levy, B. D. Specialized pro-resolving mediators: endogenous regulators of infection and inflammation. *Nat. Rev. Immunol.* **16**, 51–67 (2015).
401. Hong, S., Gronert, K., Devchand, P. R., Moussignac, R.-L. & Serhan, C. N. Novel docosatrienes and 17S-resolvins generated from docosaheptaenoic acid in murine brain, human blood, and glial cells. Autacoids in anti-inflammation. *J. Biol. Chem.* **278**, 14677–14687 (2003).
402. Tian, H., Lu, Y., Sherwood, A. M., Hongqian, D. & Hong, S. Resolvins E1 and D1 in choroid-retinal endothelial cells and leukocytes: biosynthesis and mechanisms of anti-inflammatory actions. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* **50**, 3613–3620 (2009).
403. Sansbury, B. E. & Spite, M. Resolution of Acute Inflammation and the Role of Resolvins in Immunity, Thrombosis, and Vascular Biology. *Circ. Res.* **119**, 113–130 (2016).
404. Takano, T., Clish, C. B., Gronert, K., Petasis, N. & Serhan, C. N. Neutrophil-mediated changes in vascular permeability are inhibited by topical application of aspirin-triggered 15-epi-lipoxin A4 and novel lipoxin B4 stable analogues. *J. Clin. Invest.* **101**, 819–826 (1998).
405. Chatterjee, A. *et al.* The pro-resolving lipid mediator maresin 1 (MaR1) attenuates inflammatory signaling pathways in vascular smooth muscle and endothelial cells. *PloS One* **9**, e113480 (2014).
406. Fredman, G. & Serhan, C. N. Specialized proresolving mediator targets for RvE1 and RvD1 in peripheral blood and mechanisms of resolution. *Biochem. J.* **437**, 185–197 (2011).
407. Chiang, N., Arita, M. & Serhan, C. N. Anti-inflammatory circuitry: lipoxin, aspirin-triggered lipoxins and their receptor ALX. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids* **73**, 163–177 (2005).
408. Arita, M. *et al.* Resolvin E1 Selectively Interacts with Leukotriene B4 Receptor BLT1 and ChemR23 to Regulate Inflammation. *J. Immunol.* **178**, 3912–3917 (2007).
409. Shindou, H. & Shimizu, T. Acyl-CoA:lysophospholipid acyltransferases. *J. Biol. Chem.* **284**, 1–5 (2009).
410. Sassa, T. & Kihara, A. Metabolism of Very Long-Chain Fatty Acids: Genes and Pathophysiology. *Biomol. Ther.* **22**, 83–92 (2014).
411. Chalbot, S. *et al.* Cerebrospinal fluid secretory Ca²⁺-dependent phospholipase A2 activity is increased in Alzheimer disease. *Clin. Chem.* **55**, 2171–2179 (2009).

412. Stephenson, D. T., Lemere, C. A., Selkoe, D. J. & Clemens, J. A. Cytosolic phospholipase A2 (cPLA2) immunoreactivity is elevated in Alzheimer's disease brain. *Neurobiol. Dis.* **3**, 51–63 (1996).
413. Smesny, S., Stein, S., Willhardt, I., Lasch, J. & Sauer, H. Decreased phospholipase A2 activity in cerebrospinal fluid of patients with dementia. *J. Neural Transm. Vienna Austria 1996* **115**, 1173–1179 (2008).
414. Ross, B. M., Moszczynska, A., Erlich, J. & Kish, S. J. Phospholipid-metabolizing enzymes in Alzheimer's disease: increased lysophospholipid acyltransferase activity and decreased phospholipase A2 activity. *J. Neurochem.* **70**, 786–793 (1998).
415. Sanchez-Mejia, R. O. & Mucke, L. Phospholipase A2 and arachidonic acid in Alzheimer's disease. *Biochim. Biophys. Acta* **1801**, 784–790 (2010).
416. Wood, J. A. *et al.* Cytokine indices in Alzheimer's temporal cortex: no changes in mature IL-1 beta or IL-1RA but increases in the associated acute phase proteins IL-6, alpha 2-macroglobulin and C-reactive protein. *Brain Res.* **629**, 245–252 (1993).
417. Niemoller, T. D. & Bazan, N. G. Docosahexaenoic acid neurolipidomics. *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* **91**, 85–89 (2010).
418. Prasad, M. R., Lovell, M. A., Yatin, M., Dhillon, H. & Markesbery, W. R. Regional membrane phospholipid alterations in Alzheimer's disease. *Neurochem. Res.* **23**, 81–88 (1998).
419. Söderberg, M., Edlund, C., Alafuzoff, I., Kristensson, K. & Dallner, G. Lipid composition in different regions of the brain in Alzheimer's disease/senile dementia of Alzheimer's type. *J. Neurochem.* **59**, 1646–1653 (1992).
420. Guan, Z. Z., Söderberg, M., Sindelar, P. & Edlund, C. Content and fatty acid composition of cardiolipin in the brain of patients with Alzheimer's disease. *Neurochem. Int.* **25**, 295–300 (1994).
421. Green, K. *et al.* Dietary docosahexaenoic acid and docosapentaenoic acid ameliorate amyloid-beta and tau pathology via a mechanism involving presenilin 1 levels. *J. Neurosci.* **27**, 4385–95 (2007).
422. Han, X., Holtzman, D. M. & McKeel, D. W. Plasmalogen deficiency in early Alzheimer's disease subjects and in animal models: molecular characterization using electrospray ionization mass spectrometry. *J. Neurochem.* **77**, 1168–1180 (2001).
423. Cole, G. M. & Frautschy, S. A. DHA may prevent age-related dementia. *J. Nutr.* **140**, 869–874 (2010).
424. Astarita, G. & Piomelli, D. Towards a whole-body systems [multi-organ] lipidomics in Alzheimer's disease. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fat. Acids PLEFA* **85**, 197–203 (2011).
425. Martín, V. *et al.* Lipid alterations in lipid rafts from Alzheimer's disease human brain cortex. *J. Alzheimers Dis. JAD* **19**, 489–502 (2010).
426. Yassine, H. N. *et al.* The effect of APOE genotype on the delivery of DHA to cerebrospinal fluid in Alzheimer's disease. *Alzheimers Res. Ther.* **8**, (2016).
427. Jungschaffer, O. H. Spectacles for microsurgery. *Am. J. Ophthalmol.* **78**, 336–337 (1974).
428. Sanchez-Mejia, R. O. *et al.* Phospholipase A2 reduction ameliorates cognitive deficits in a mouse model of Alzheimer's disease. *Nat. Neurosci.* **11**, 1311–1318 (2008).
429. Esposito, G. *et al.* Imaging neuroinflammation in Alzheimer's disease with radiolabeled arachidonic acid and PET. *J. Nucl. Med. Off. Publ. Soc. Nucl. Med.* **49**, 1414–1421 (2008).
430. Pasinetti, G. M. & Aisen, P. S. Cyclooxygenase-2 expression is increased in frontal cortex of Alzheimer's disease brain. *Neuroscience* **87**, 319–324 (1998).
431. McNaull, B. B. A., Todd, S., McGuinness, B. & Passmore, A. P. Inflammation and anti-inflammatory strategies for Alzheimer's disease--a mini-review. *Gerontology* **56**, 3–14 (2010).
432. Lukiw, W. J., Pappolla, M., Pelaez, R. P. & Bazan, N. G. Alzheimer's disease--a dysfunction in cholesterol and lipid metabolism. *Cell. Mol. Neurobiol.* **25**, 475–483 (2005).
433. Wang, X. *et al.* Resolution of inflammation is altered in Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement. J. Alzheimers Assoc.* **11**, 40-50.e1–2 (2015).

434. Ikonomic, M. D., Abrahamson, E. E., Uz, T., Manev, H. & DeKosky, S. T. Increased 5-Lipoxygenase Immunoreactivity in the Hippocampus of Patients With Alzheimer's Disease. *J. Histochem. Cytochem.* **56**, 1065–1073 (2008).
435. Praticò, D. *et al.* 12/15-lipoxygenase is increased in Alzheimer's disease: possible involvement in brain oxidative stress. *Am. J. Pathol.* **164**, 1655–1662 (2004).
436. Bourre, J. M., Piciotti, M. & Dumont, O. Delta 6 desaturase in brain and liver during development and aging. *Lipids* **25**, 354–356 (1990).
437. Cook, H. W. Brain metabolism of alpha-linolenic acid during development. *Nutr. Burbank Los Angel. Cty. Calif* **7**, 440–442 (1991).
438. Nakamura, M. T. & Nara, T. Y. Structure, function, and dietary regulation of delta6, delta5, and delta9 desaturases. *Annu. Rev. Nutr.* **24**, 345–376 (2004).
439. Das, U. N. A defect in the activity of Delta6 and Delta5 desaturases may be a factor predisposing to the development of insulin resistance syndrome. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids* **72**, 343–350 (2005).
440. Devlin, A. M. *et al.* Hypermethylation of Fads2 and altered hepatic fatty acid and phospholipid metabolism in mice with hyperhomocysteinemia. *J. Biol. Chem.* **282**, 37082–37090 (2007).
441. Farooqui, A. A., Horrocks, L. A. & Farooqui, T. Modulation of inflammation in brain: a matter of fat: Neuroinflammation and fatty acids. *J. Neurochem.* **101**, 577–599 (2006).
442. Rapoport, S. I. Arachidonic Acid and the Brain. *The Journal of Nutrition* (2008).
443. Adibhatla, R. M., Hatcher, J. F. & Dempsey, R. J. Phospholipase A2, hydroxyl radicals, and lipid peroxidation in transient cerebral ischemia. *Antioxid. Redox Signal.* **5**, 647–654 (2003).
444. Lauritzen, I., Heurteaux, C. & Lazdunski, M. Expression of group II phospholipase A2 in rat brain after severe forebrain ischemia and in endotoxic shock. *Brain Res.* **651**, 353–356 (1994).
445. Rink, C. & Khanna, S. Significance of Brain Tissue Oxygenation and the Arachidonic Acid Cascade in Stroke. *Antioxid. Redox Signal.* **14**, 1889–1903 (2011).
446. Adibhatla, R. M. *et al.* CDP-choline significantly restores phosphatidylcholine levels by differentially affecting phospholipase A2 and CTP: phosphocholine cytidyltransferase after stroke. *J. Biol. Chem.* **281**, 6718–6725 (2006).
447. Anthonsen, M. W., Solhaug, A. & Johansen, B. Functional coupling between secretory and cytosolic phospholipase A2 modulates tumor necrosis factor-alpha- and interleukin-1beta-induced NF-kappa B activation. *J. Biol. Chem.* **276**, 30527–30536 (2001).
448. Owada, Y., Tominaga, T., Yoshimoto, T. & Kondo, H. Molecular cloning of rat cDNA for cytosolic phospholipase A2 and the increased gene expression in the dentate gyrus following transient forebrain ischemia. *Brain Res. Mol. Brain Res.* **25**, 364–368 (1994).
449. Stephenson, D. *et al.* Cytosolic phospholipase A2 is induced in reactive glia following different forms of neurodegeneration. *Glia* **27**, 110–128 (1999).
450. Phillis, J. W., Horrocks, L. A. & Farooqui, A. A. Cyclooxygenases, lipoxygenases, and epoxygenases in CNS: their role and involvement in neurological disorders. *Brain Res. Rev.* **52**, 201–243 (2006).
451. Dyerberg, J., Bang, H. O. & Hjerne, N. Fatty acid composition of the plasma lipids in Greenland Eskimos. *Am. J. Clin. Nutr.* **28**, 958–966 (1975).
452. Huang, T. L. Omega-3 fatty acids, cognitive decline, and Alzheimer's disease: a critical review and evaluation of the literature. *J. Alzheimers Dis. JAD* **21**, 673–690 (2010).
453. Fotuhi, M., Mohassel, P. & Yaffe, K. Fish consumption, long-chain omega-3 fatty acids and risk of cognitive decline or Alzheimer disease: a complex association. *Nat. Clin. Pract. Neurol.* **5**, 140–152 (2009).
454. Kuratko, C., Barrett, E., Nelson, E. & Salem, N. The Relationship of Docosahexaenoic Acid (DHA) with Learning and Behavior in Healthy Children: A Review. *Nutrients* **5**, 2777–2810 (2013).
455. McCann, J. C. & Ames, B. N. Is docosahexaenoic acid, an n-3 long-chain polyunsaturated fatty acid, required for development of normal brain function? An overview of evidence from cognitive and behavioral tests in humans and animals. *Am. J. Clin. Nutr.* **82**, 281–295 (2005).

456. Rees, D. *et al.* Dose-related effects of eicosapentaenoic acid on innate immune function in healthy humans: a comparison of young and older men. *Am. J. Clin. Nutr.* **83**, 331–342 (2006).
457. Simopoulos, A. P. The importance of the omega-6/omega-3 fatty acid ratio in cardiovascular disease and other chronic diseases. *Exp. Biol. Med. Maywood NJ* **233**, 674–688 (2008).
458. Tsokos, G. C. Defective regulation of Epstein-Barr virus infection in patients with AIDS or AIDS-related disorders. *N. Engl. J. Med.* **315**, 761–762 (1986).
459. Rao, J. S. *et al.* Dietary n-3 PUFA deprivation alters expression of enzymes of the arachidonic and docosahexaenoic acid cascades in rat frontal cortex. *Mol. Psychiatry* **12**, 151–157 (2007).
460. Sanders, T. A. Polyunsaturated fatty acids in the food chain in Europe. *Am. J. Clin. Nutr.* **71**, 176S–8S (2000).
461. Borges, M. C., Santos, F. de M. M., Telles, R. W., Correia, M. I. T. D. & Lanna, C. C. D. [Polyunsaturated omega-3 fatty acids and systemic lupus erythematosus: what do we know?]. *Rev. Bras. Reumatol.* **54**, 459–466 (2014).
462. Simopoulos, A. P. Omega-3 fatty acids in inflammation and autoimmune diseases. *J. Am. Coll. Nutr.* **21**, 495–505 (2002).
463. Barberger-Gateau, P. *et al.* Dietary patterns and risk of dementia: the Three-City cohort study. *Neurology* **69**, 1921–1930 (2007).
464. Jensen, M. M., Skarsfeldt, T. & Høy, C. E. Correlation between level of (n - 3) polyunsaturated fatty acids in brain phospholipids and learning ability in rats. A multiple generation study. *Biochim. Biophys. Acta* **1300**, 203–209 (1996).
465. van de Rest, O. *et al.* Effect of fish oil on cognitive performance in older subjects: a randomized, controlled trial. *Neurology* **71**, 430–438 (2008).
466. Beydoun, M. A., Kaufman, J. S., Sloane, P. D., Heiss, G. & Ibrahim, J. n-3 Fatty acids, hypertension and risk of cognitive decline among older adults in the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *Public Health Nutr.* **11**, 17–29 (2008).
467. Winkler, D. T. *et al.* Spontaneous hemorrhagic stroke in a mouse model of cerebral amyloid angiopathy. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* **21**, 1619–1627 (2001).
468. Davis, J. *et al.* Deficient cerebral clearance of vasculotropic mutant Dutch/Iowa Double A β in human A β PP transgenic mice. *Neurobiol. Aging* **27**, 946–954 (2006).
469. Sahu, S. & Lynn, W. S. Lipid chemotaxins isolated from culture filtrates of *Escherichia coli* and from oxidized lipids. *Inflammation* **2**, 47–54 (1977).
470. Huber, J. *et al.* Specific monocyte adhesion to endothelial cells induced by oxidized phospholipids involves activation of cPLA2 and lipoxygenase. *J. Lipid Res.* **47**, 1054–1062 (2006).
471. Dowd, P. M., Kobza Black, A., Woollard, P. M., Camp, R. D. & Greaves, M. W. Cutaneous responses to 12-hydroxy-5,8,10,14-eicosatetraenoic acid (12-HETE). *J. Invest. Dermatol.* **84**, 537–541 (1985).
472. Jaeger, L. B. *et al.* Lipopolysaccharide alters the blood-brain barrier transport of amyloid beta protein: a mechanism for inflammation in the progression of Alzheimer's disease. *Brain. Behav. Immun.* **23**, 507–517 (2009).
473. Erickson, M. A. *et al.* Lipopolysaccharide impairs amyloid β efflux from brain: altered vascular sequestration, cerebrospinal fluid reabsorption, peripheral clearance and transporter function at the blood-brain barrier. *J. Neuroinflammation* **9**, 150 (2012).
474. Marottoli, F. M. *et al.* Peripheral Inflammation, Apolipoprotein E4, and Amyloid- β Interact to Induce Cognitive and Cerebrovascular Dysfunction. *ASN Neuro* **9**, 1759091417719201 (2017).
475. Wojtas, A. M. *et al.* Loss of clusterin shifts amyloid deposition to the cerebrovasculature via disruption of perivascular drainage pathways. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 201701137 (2017). doi:10.1073/pnas.1701137114
476. Wada, M. *et al.* Enzymes and Receptors of Prostaglandin Pathways with Arachidonic Acid-derived Versus Eicosapentaenoic Acid-derived Substrates and Products. *J. Biol. Chem.* **282**, 22254–22266 (2007).
477. Norris, P. C. & Dennis, E. A. Omega-3 fatty acids cause dramatic changes in TLR4 and purinergic eicosanoid signaling. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **109**, 8517–8522 (2012).

478. Gupta, S. *et al.* Computational Modeling of Competitive Metabolism between ω 3- and ω 6-Polyunsaturated Fatty Acids in Inflammatory Macrophages. *J. Phys. Chem. B* **120**, 8346–8353 (2016).
479. Wang, X. *et al.* Effects of n-3 FA supplementation on the release of proresolving lipid mediators by blood mononuclear cells: the OmegAD study. *J. Lipid Res.* **56**, 674–681 (2015).
480. Serini, S. *et al.* EPA and DHA differentially affect in vitro inflammatory cytokine release by peripheral blood mononuclear cells from Alzheimer's patients. *Curr. Alzheimer Res.* **9**, 913–923 (2012).
481. Medeiros, R. *et al.* Aspirin-Triggered Lipoxin A4 Stimulates Alternative Activation of Microglia and Reduces Alzheimer Disease–Like Pathology in Mice. *Am. J. Pathol.* **182**, 1780–1789 (2013).
482. C, D. H. *et al.* Restoration of Lipoxin A. *J. Alzheimeraposs Dis.* 893–903 (2015). doi:10.3233/JAD-141335
483. Luo, M. *et al.* Protein Kinase A Inhibits Leukotriene Synthesis by Phosphorylation of 5-Lipoxygenase on Serine 523. *J. Biol. Chem.* **279**, 41512–41520 (2004).
484. Ye, Y. *et al.* Phosphorylation of 5-lipoxygenase at ser523 by protein kinase A determines whether pioglitazone and atorvastatin induce proinflammatory leukotriene B4 or anti-inflammatory 15-epi-lipoxin a4 production. *J. Immunol. Baltim. Md 1950* **181**, 3515–3523 (2008).
485. Tai, C. C. *et al.* Docosahexaenoic Acid Enhances Hepatic Serum Amyloid A Expression via Protein Kinase A-dependent Mechanism. *J. Biol. Chem.* **284**, 32239–32247 (2009).
486. Seung Kim, H. F., Weeber, E. J., Sweatt, J. D., Stoll, A. L. & Marangell, L. B. Inhibitory effects of omega-3 fatty acids on protein kinase C activity in vitro. *Mol. Psychiatry* **6**, 246–248 (2001).
487. Romano, M., Recchia, I. & Recchiuti, A. Lipoxin receptors. *ScientificWorldJournal* **7**, 1393–1412 (2007).
488. Wang, X. *et al.* Resolution of inflammation is altered in Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement.* **11**, 40–50.e2 (2015).
489. Le, Y. *et al.* Amyloid (beta)42 activates a G-protein-coupled chemoattractant receptor, FPR-like-1. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* **21**, RC123 (2001).
490. Heurtaux, T. *et al.* Microglial activation depends on beta-amyloid conformation: role of the formylpeptide receptor 2. *J. Neurochem.* **114**, 576–586 (2010).
491. Wu, J. *et al.* Lipoxin A4 inhibits the production of proinflammatory cytokines induced by β -amyloid in vitro and in vivo. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **408**, 382–387 (2011).
492. Dozsa, A. *et al.* PPAR γ -Mediated and Arachidonic Acid–Dependent Signaling Is Involved in Differentiation and Lipid Production of Human Sebocytes. *J. Invest. Dermatol.* **134**, 910–920 (2014).
493. Kamata, R. *et al.* EPA Prevents the Development of Abdominal Aortic Aneurysms through Gpr-120/Ffar-4. *PloS One* **11**, e0165132 (2016).
494. Goodman, M. & Su, K. C. Conformational aspects of polypeptide structure XL. The synthesis of poly((S)-thiazolidine-4-carboxylic acid). *Biopolymers* **11**, 1773–1778 (1972).
495. Raza Shaikh, S. & Brown, D. A. Models of plasma membrane organization can be applied to mitochondrial membranes to target human health and disease with polyunsaturated fatty acids. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids* **88**, 21–25 (2013).
496. Cole, G. M., Ma, Q.-L. & Frautschy, S. A. Omega-3 fatty acids and dementia. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids* **81**, 213–221 (2014).
497. Cunnane, S. C. *et al.* Fish, docosahexaenoic acid and Alzheimer's disease. *Prog. Lipid Res.* **48**, 239–256 (2009).
498. Hooijmans, C. R. & Kiliaan, A. J. Fatty acids, lipid metabolism and Alzheimer pathology. *Eur. J. Pharmacol.* **585**, 176–196 (2008).
499. Hashimoto, M. *et al.* Docosahexaenoic acid disrupts in vitro amyloid beta(1-40) fibrillation and concomitantly inhibits amyloid levels in cerebral cortex of Alzheimer's disease model rats. *J. Neurochem.* **107**, 1634–1646 (2008).

500. Hossain, S. *et al.* Mechanism of docosahexaenoic acid-induced inhibition of in vitro Abeta1-42 fibrillation and Abeta1-42-induced toxicity in SH-SY5Y cells. *J. Neurochem.* **111**, 568–79 (2009).
501. Fabelo, N. *et al.* Altered lipid composition in cortical lipid rafts occurs at early stages of sporadic Alzheimer's disease and facilitates APP/BACE1 interactions. *Neurobiol. Aging* **35**, 1801–1812 (2014).
502. Praticò, D. *et al.* 12/15-lipoxygenase is increased in Alzheimer's disease: possible involvement in brain oxidative stress. *Am. J. Pathol.* **164**, 1655–1662 (2004).
503. Yang, H., Zhuo, J.-M., Chu, J., Chinnici, C. & Praticò, D. Amelioration of the Alzheimer's disease phenotype by absence of 12/15-lipoxygenase. *Biol. Psychiatry* **68**, 922–929 (2010).
504. Poloyac, S. M., Reynolds, R. B., Yonas, H. & Kerr, M. E. Identification and quantification of the hydroxyeicosatetraenoic acids, 20-HETE and 12-HETE, in the cerebrospinal fluid after subarachnoid hemorrhage. *J. Neurosci. Methods* **144**, 257–263 (2005).
505. Farias, S. E., Heidenreich, K. A., Wohlauser, M. V., Murphy, R. C. & Moore, E. E. Lipid mediators in cerebral spinal fluid of traumatic brain injured patients. *J. Trauma* **71**, 1211–1218 (2011).
506. Lebeau, A., Terro, F., Rostene, W. & Pelaprat, D. Blockade of 12-lipoxygenase expression protects cortical neurons from apoptosis induced by β -amyloid peptide. *Cell Death Differ.* **11**, 875–884 (2004).
507. Pallast, S. *et al.* Increased nuclear apoptosis-inducing factor after transient focal ischemia: a 12/15-lipoxygenase-dependent organelle damage pathway. *J. Cereb. Blood Flow Metab. Off. J. Int. Soc. Cereb. Blood Flow Metab.* **30**, 1157–1167 (2010).
508. van Leyen, K. *et al.* Baicalein and 12/15-lipoxygenase in the ischemic brain. *Stroke* **37**, 3014–3018 (2006).
509. Chatterjee, A. *et al.* The Pro-Resolving Lipid Mediator Maresin 1 (MaR1) Attenuates Inflammatory Signaling Pathways in Vascular Smooth Muscle and Endothelial Cells. *PLoS ONE* **9**, e113480 (2014).
510. Lee, H.-N. & Surh, Y.-J. Resolvin D1-mediated NOX2 inactivation rescues macrophages undertaking efferocytosis from oxidative stress-induced apoptosis. *Biochem. Pharmacol.* **86**, 759–769 (2013).
511. Kronke, G. *et al.* 12/15-Lipoxygenase Counteracts Inflammation and Tissue Damage in Arthritis. *J. Immunol.* **183**, 3383–3389 (2009).
512. Serhan, C. N. *et al.* Maresins: novel macrophage mediators with potent antiinflammatory and proresolving actions. *J. Exp. Med.* **206**, 15–23 (2009).
513. Lim, G. P. A Diet Enriched with the Omega-3 Fatty Acid Docosahexaenoic Acid Reduces Amyloid Burden in an Aged Alzheimer Mouse Model. *J. Neurosci.* **25**, 3032–3040 (2005).
514. Arendash, G. W. *et al.* A diet high in omega-3 fatty acids does not improve or protect cognitive performance in Alzheimer's transgenic mice. *Neuroscience* **149**, 286–302 (2007).
515. Vandal, M. *et al.* Reduction in DHA transport to the brain of mice expressing human APOE4 compared to APOE2. *J. Neurochem.* **129**, 516–526 (2014).
516. Lawson, L. D. & Hughes, B. G. Human absorption of fish oil fatty acids as triacylglycerols, free acids, or ethyl esters. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **152**, 328–335 (1988).
517. Yoshida, H. *et al.* Lymphatic absorption of seal and fish oils and their effect on lipid metabolism and eicosanoid production in rats. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **60**, 1293–1298 (1996).
518. Tanaka, Y., Ohkubo, T., Fukuda, N. & Hibino, H. Effect of Molecular Forms on Distribution of Docosahexaenoic Acid into Organs in Mice. *J. Oleo Sci.* **52**, 89–97 (2003).
519. Tajima, Y. *et al.* Lipidomic analysis of brain tissues and plasma in a mouse model expressing mutated human amyloid precursor protein/tau for Alzheimer's disease. *Lipids Health Dis.* **12**, 68 (2013).

Annexes

Annexe 1

Tableau des 10 signes et symptômes de la maladie d'Alzheimer.

Publiée sur le site français de l'Alzheimer's Association (<http://www.alz.org/fr/>)

	Signes et symptômes de la maladie d'Alzheimer	Signe normal de vieillissement
1	Perte de mémoire, d'informations récemment apprises (dates ou événements importants).	Oublier parfois des noms ou des rendez-vous, mais s'en souvenir plus tard.
2	Changements de la capacité à élaborer et à suivre un plan ou à utiliser les nombres	Faire des erreurs occasionnelles dans la tenue de ses comptes.
3	Difficultés à exécuter les tâches quotidiennes, à gérer un budget ou à se souvenir des règles d'un jeu connu	Avoir de temps en temps besoin d'aide pour utiliser un appareil du quotidien (micro-onde, magnétoscope)
4	Perdre la notion des dates, des saisons et du temps qui passe	Être un peu confus sur la date du jour, mais s'en souvenir plus tard.
5	Difficultés à lire, à évaluer les distances et à déterminer les couleurs ou les contrastes, ne pas se reconnaître dans un miroir	Avoir des troubles de la vision liés à la cataracte.
6	Difficultés à suivre ou se joindre à une conversation, difficultés avec le vocabulaire, appeler les choses par le mauvais nom	Avoir parfois du mal à trouver le mot juste.
7	Perte des choses et être incapables de revenir sur leurs pas pour les retrouver. Accuser les autres de les avoir volées.	Égarer des objets de temps en temps et retracer son parcours pour les retrouver.
8	Altération du jugement ou de la prise de décision. Perte d'attention à la toilette.	Prendre une mauvaise décision de temps en temps.
9	Diminution et perte d'intérêt pour des activités de loisirs, sociales, sportives ou de certains projets de travail	Se sentir parfois las de remplir ses engagements professionnels, familiaux et sociaux
10	Changements d'humeur et de la personnalité. Comportements confus, soupçonneux, déprimé, craintif ou anxieux.	Acquérir une sorte de routine pour faire les choses et devenir irritable si cette routine est interrompue.

Annexe 2.

Tableau des stades d'évolutions de la maladie d'Alzheimer.

Stades	Maladie d'Alzheimer	Déficits cognitifs	Description
1	aucun	Aucun	<ul style="list-style-type: none"> Fonctions normales
2	Premiers signes ou déficits liés à l'âge	Très légers	<ul style="list-style-type: none"> Sensation de trous de mémoires, d'oublier des mots courants, d'endroit où se trouvent certains objets de la vie quotidienne.
3	Précoce (ou non diagnostic)	Légers	<ul style="list-style-type: none"> Difficultés manifestes à trouver le bon mot ou nom ; à se souvenir du nom de personnes rencontrées récemment ; Avoir manifestement plus de difficulté à effectuer des tâches dans un contexte social ou professionnel ; Oublier quelque chose juste après l'avoir lu ; perdre ou ranger au mauvais endroit un objet de valeur ; difficultés accrues à planifier ou organiser.
4	Précoce	Modérés	<ul style="list-style-type: none"> Oubli d'événements récents ; altération de la capacité à résoudre des calculs mentaux, notamment le décompte de 7 en 7 à partir de 1 Difficultés accrues à exécuter des tâches complexes, telles que la préparation d'un diner pour des invités, le règlement des factures ou des comptes ; Oubli de son propre passé ; Sauts d'humeur ou un effacement, notamment dans des situations socialement ou mentalement éprouvantes.
5	Modérée à intermédiaire	Modérément sévères	<ul style="list-style-type: none"> Etre incapables de se souvenir de leur propre adresse ou numéro de téléphone ou encore du lycée ou du collège qu'elles ont fréquenté Etre désorientées sur le plan temporo-spatial ; Avoir des difficultés à résoudre des problèmes mathématiques simples, comme effectuer un décompte de 4 en 4 à partir de 40 et de 2 partir de 20 ; Avoir besoin d'aide pour choisir des vêtements adaptés à la saison ou à une occasion particulière ; Se souvenir encore d'événements importants de leur vie ou de celle de leur famille ; Etre encore autonome pour manger ou aller aux toilettes.
6	Intermédiaire à modérément sévère	Sévères	<ul style="list-style-type: none"> Ne plus se souvenir d'événements récents de leur vie ou de celle de leur entourage ; Se souvenir de leur propre nom, mais avoir du mal à se souvenir de leur passé ; Faire la différence entre des visages familiers et inconnus, mais avoir du mal à se souvenir du nom de leur conjoint ou du personnel soignant ; Avoir besoin d'aide pour s'habiller convenablement, pour certains gestes liés à la toilette Avoir des troubles majeurs au niveau du rythme de sommeil (dormir le jour et être actif la nuit) ; Souffrir de plus en plus souvent d'incontinences urinaires ou fécales ; Subir des modifications majeures de la personnalité ou du comportement, notamment ressentir de la défiance, avoir des hallucinations présenter des troubles obsessionnels compulsifs Avoir tendance à errer ou à se perdre.
7	Avancée	Très sévères	<ul style="list-style-type: none"> Au cours de la phase terminale de la maladie, la personne n'est plus capable d'interagir avec son entourage, d'avoir une conversation, contrôler ses gestes. Elle peut encore prononcer des mots ou des phrases. À ce stade, la personne requiert une aide importante pour les activités quotidiennes. Elle peut ne plus être capable de sourire, de se tenir debout et de lever la tête. Ses réflexes deviennent anormaux. Ses muscles se raidissent. Elle commence à avoir des troubles de la déglutition.

Tableau Annexe 2 : Stades d'évolution de la maladie d'Alzheimer

Annexe 3.



HAUTE AUTORITÉ DE SANTÉ

Mini-Mental State Examination dans sa version consensuelle établie par le groupe de recherche et d'évaluation des outils cognitifs (GRECO)

Orientation

Je vais vous poser quelques questions pour apprécier comment fonctionne votre mémoire. Les unes sont très simples, les autres un peu moins. Vous devez répondre du mieux que vous pouvez.

1. En quelle année sommes-nous ?
2. En quelle saison ?
3. En quel mois ?
4. Quel jour du mois ?
5. Quel jour de la semaine ?

Je vais vous poser maintenant quelques questions sur l'endroit où nous nous trouvons :

6. Quel est le nom de l'hôpital où nous sommes ?
(si l'examen est réalisé en cabinet, demander le nom du cabinet médical ou de la rue où il se trouve)
7. Dans quelle ville se trouve-t-il ?
8. Quel est le nom du département dans lequel est située cette ville ?
9. Dans quelle région est situé ce département ?
10. À quel étage sommes-nous ici ?

Apprentissage

Je vais vous dire 3 mots. Je voudrais que vous me les répétiez et que vous essayiez de les retenir car je vous les redemanderai tout à l'heure.

11. Cigare
12. Fleur
13. Porte

Répétez les 3 mots.

Attention et calcul

Voulez-vous compter à partir de 100 en retirant 7 à chaque fois ?

14. 93
15. 86
16. 79
17. 72
18. 65

Pour tous les sujets, même ceux qui ont obtenu le maximum de points, demander : voulez-vous épeler le mot MONDE à l'envers : EDNOM. Le score correspond au nombre de lettres dans la bonne position. (Ce chiffre ne doit pas figurer dans le score global.)

Rappel

Pouvez-vous me dire quels étaient les 3 mots que je vous ai demandé de répéter et de retenir tout à l'heure ?

19. Cigare
20. Fleur

21. Porte

Langage

22. Montrer un crayon. *Quel est le nom de cet objet ?*

23. Montrer votre montre. *Quel est le nom de cet objet ?*

24. *Écoutez bien et répétez après moi : "Pas de mais, de si, ni de et"*

25. Poser une feuille de papier sur le bureau, la montrer au sujet en lui disant : *Écoutez bien et faites ce que je vais vous dire :*

Prenez cette feuille de papier avec la main droite

26. Pliez-la en deux

27. Et jetez-la par terre

28. Tendre au sujet une feuille de papier sur laquelle est écrit en gros caractères :
"Fermez les yeux" et dire au sujet : *Faites ce qui est écrit*

29. Tendre au sujet une feuille de papier et un stylo, en disant :
Voulez-vous m'écrire une phrase, ce que vous voulez, mais une phrase entière.
Cette phrase doit être écrite spontanément. Elle doit contenir un sujet, un verbe, et avoir un sens.

Praxies constructives

30. Tendre au sujet une feuille de papier et lui demander :
"Voulez-vous recopier ce dessin ?"

Compter 1 point pour chaque bonne réponse.

SCORE GLOBAL/30 (les seuils pathologiques dépendent du niveau socioculturel).

Derouesné C, Poitreneau J, Hugonot L, Kalafat M, Dubois B, Laurent B. Au nom du groupe de recherche sur l'évaluation cognitive (GRECO). Le Mental-State Examination (MMSE): un outil pratique pour l'évaluation de l'état cognitif des patients par le clinicien. Version française consensuelle. Presse Méd. 1999;28:1141-8.

Kalafat M, Hugonot-Diener L, Poitreneau J. Standardisation et étalonnage français du « Mini Mental State » (MMS) version GRECO. Rev Neuropsychol 2003 ;13(2) :209-36.

Annexe 4.

Pages suivantes :

Publication n°2, “Protocol for Isolating the Mouse Circle of Willis.” Hur J, Blaise R, Limon I. JoVE (Journal of Visualized Experiments) ; 2016.