



AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

Ecole Doctorale BioSE (Biologie-Santé-Environnement)

THESE

Présentée et soutenue publiquement pour l'obtention du titre

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE HENRI POINCARÉ

Mention : « Sciences de la Vie et de la Santé »

Par Ghassan WATFA

***Altération vasculaire, hypertension et
troubles cognitifs***

Le 14 Novembre 2011

Membres du Jury

Rapporteurs :

Mr. Jean-Marie SEROT, Professeur, Université de Picardie Jules Verne, Amiens

Mr. Jacques BODDAERT, Professeur, Université UPMC Paris 6, Paris

Examineurs :

Mr. Olivier HANON, Professeur, Université Descartes Paris 5, Paris

Mr. Athanase BENETOS, Professeur, Nancy Université, Nancy (Directeur de Thèse)

Mme. Christine PERRET-GUILLAUME, Professeur, Nancy Université, Nancy

Remerciements

Monsieur le Professeur Athanase BENETOS

Cette thèse n'aurait jamais vu le jour sans votre enthousiasme, vos compétences scientifiques, votre disponibilité et vos grandes qualités humaines. La confiance que vous m'avez accordée m'a permis de mener à bien mes travaux de thèse. Je vous exprime ma sincère reconnaissance et mon profond respect.

Monsieur le Professeur Patrick ROSSIGNOL

Pour son encadrement, son appui et pour son amitié. Je le remercie aussi pour sa rigueur scientifique, ses conseils pertinents et ses grandes qualités humaines qui m'ont permis de mener à terme ce travail. Je lui exprime ma profonde reconnaissance et mes sincères remerciements.

Monsieur le Professeur Jean-Marie SEROT et Monsieur le Professeur Jacques BODDAERT

Je vous adresse mes sincères remerciements pour l'honneur que vous me faites en acceptant de juger ce travail en tant que rapporteurs. Je vous prie de croire en ma haute considération.

Monsieur le Professeur Olivier HANON

Je suis honoré que vous ayez accepté de faire partie de ce jury de thèse, veuillez trouver l'expression de mes remerciements.

Madame le professeur Christine PERRET-GUILLAUME

Je te suis profondément reconnaissant pour l'enthousiasme avec lequel tu as accepté de participer à ce jury de thèse.

Monsieur le professeur Faiez ZANNAD

Je vous remercie de m'avoir guidé dans ce travail et fait partager votre passion pour la recherche. Un grand merci pour votre accueil, votre soutien et votre encadrement tout au long de ce travail. C'est un plaisir de travailler au CIC (ou à vos cotés)

Monsieur le docteur Patrick LACOLLEY

Merci de m'avoir accueilli au sein de l'unité de recherche (U 961), de l'intérêt que tu as porté à l'élaboration et à la progression de ce travail.

Un grand merci à Madame le docteur Anna KEARNEY SCHWARTZ, Madame le professeur Christine PERRET-GUILLAUME, Monsieur le professeur Paolo SALVI, Madame le docteur Marie-Christine LAURAIN, Monsieur le professeur Jean-Marc BOIVIN et à Madame Rosine NZIETCHUENG. Pour les différents échanges que nous avons eu et qui ont été fructueux et porteurs.

Merci à toute l'équipe du CIC 9501 pour votre accueil chaleureux, vous avez tous participé à mon enrichissement scientifique et personnel.

Un merci particulier à Renaud, Nadia, Elisabeth, Catherine et Zohra pour votre disponibilité et votre sympathie.

Je remercie également tous les membres du service de gériatrie et de l'équipe INSERM U961

Mes vifs remerciements sont adressés à Evelyne, Anne-Marie, pour leur disponibilité, leur aide et leur sympathie.

Mes remerciements sont également adressés à mes collègues Sanae, Siham, Mehdi pour leur sympathie, leur soutien continu et leur encouragement. Par la même occasion, je souhaite remercier Georges, Nathalie et Elisa pour leur aide et leur amitié.

Résumé

Le rôle de la composante vasculaire est de plus en plus évoqué dans la pathogénie des atteintes mnésiques et des démences (vasculaire ou Alzheimer). Dans ce contexte, nous avons étudié les aspects épidémiologiques, physiopathologiques, génétiques et thérapeutiques de la relation entre les troubles cognitifs et l'hypertension artérielle ou les marqueurs du vieillissement artériel chez des sujets âgés de 60 à 85 ans hypertendus présentant une plainte mnésique subjective (ADELAHYDE) et chez des sujets institutionnalisés âgés de plus de 80 ans suivis sur un an (PARTAGE), ainsi que dans une population âgée de plus de 60 ans, en bon état général, sans démence et ayant bénéficié d'un bilan systématique de santé (Bilan Senior). Nos résultats portant sur ces 3 populations indiquent clairement que chez le sujet âgé, l'évaluation des marqueurs du vieillissement artériel permet de définir les sujets à plus haut risque de déclin cognitif, alors que la valeur prédictive de la pression artérielle (PA) sur le déclin cognitif ne semble pas être significative. Nous avons également montré que chez les personnes âgées hypertendues traitées de l'étude ADELAHYDE, l'utilisation d'antagonistes calciques était associée à de meilleures performances cognitives, indépendamment du niveau de la PA et de l'état vasculaire. Ceci suggère un effet protecteur spécifique de cette classe pharmacologique sur le déclin cognitif. Par ailleurs, nous n'avons pas pu identifier de facteur génétique associé aux fonctions cognitives.

Mots clés : Hypertension, Antagoniste calcique, Rigidité artérielle, Déclin cognitif, Vieillesse, Hypersignaux de la substance blanche.

Abstract

The role of the vascular alterations in the pathogenesis of cognitive impairment and dementia (vascular or Alzheimer) is increasingly recognized. In this context, we studied the epidemiological, physiological, genetic and therapeutic aspects of the relationship between high blood pressure, markers of arterial aging and cognitive impairment in elderly (aged 60-85 years) hypertensive patients with subjective memory complaints (ADELAHYDE study) and in institutionalized elderly subjects (aged ≥ 80 years) during one year follow-up (PARTAGE study), as well as in an elderly population (aged ≥ 60 years) with good general health and without dementia (Senior examination study). Our results on these three populations show that markers of arterial aging identified subjects at higher risk for cognitive decline, while blood pressure alone did not appear to have a significant predictive value. We also showed that in elderly hypertensive patients (ADELAHYDE study), treatment with calcium-channel blockers was associated with better cognitive performance, independently of blood pressure level and macrovascular or microvascular alterations. This suggests a specific neuroprotective effect of channel blockers class in the elderly population. Lastly, we could not identify genetic factors associated with cognitive function.

Keywords: Hypertension, Calcium Channel Blockers, Arterial Stiffness, Cognitive decline, Aging, White matter hyperintensities.

Liste des abréviations

ACP	Analyse en Composantes Principales
ADELAHYDE	Analyse des DEterminants génétiques et environnementaux de la LeucoAraïose dans une population de patients HYpertendus présentant des troubles cognitifs DEbutants
AIx	Index d'augmentation
ALAT	Alanine aminotransférase
ANOVA	ANalysis Of Variance
APOE	Apolipoprotéine E
ARA2	Antagoniste des Récepteurs de l'Angiotensine 2
ASAT	Aspartate aminotransférase
AVC	Accident Vasculaire Cérébral
CHU	Centre Hospitalier Universitaire
CIC	Centre d'Investigation Clinique
CMP	Centre de Médecine Préventive
CV	Cardiovasculaire
DSM	Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders
ECA	Enzyme de Conversion de l'Angiotensine
EFORVIE	centre d'Etudes et de FORMation sur le VIEillissement
EHPAD	Etablissement d'Hébergement pour Personnes Agées Dépendantes
EIM	Epaisseur Intima Média
ESM	Erreur Standard de la Moyenne
EVA	Epidemiology of Vascular Aging
GDS	Geriatric Depression Scale
GRECO	Groupe de Recherche et d'Evaluations Cognitives
GTA	Gros Troncs Artériels
HAAS	Honolulu-Asia Aging Study
HbA1C	Hémoglobine glyquée
HDFP	Hypertension Detection and Follow-Up Program
HTA	HyperTension Artérielle
HYVET-COG	Hypertension in the Very Elderly Trial cognitive function assessment
IRM	Imagerie par Résonance Magnétique
MA	Maladie d'Alzheimer
MCI	Mild Cognitive Impairment
MMSE	Mini Mental State Examination
NSC	Niveau Socio-Culturel
NYHA	New York Heart Association
PA	Pression Artérielle
PAD	Pression Artérielle diastolique
PAM	Pression Artérielle Moyenne
PAQUID	Personnes Agées QUID
PARTAGE	Pression ARTérielle des personnes Agées vivant en EHPAD
PAS	Pression Artérielle Systolique
PP	Pression Pulsée

RL/RI16	Rappel Libre/Rappel indicé à 16 items
SCOPE	Study on Cognition and Prognosis in the Elderly
SYST-EUR	Systolic Hypertension in Elderly in Europe
TDM	Tomodensitométrie
VOP	Vélocité de l'Onde de Pouls

TABLE DES MATIERES

TABLE DES ILLUSTRATION.....	6
I. INTRODUCTION	7
I.1. Introduction générale.....	7
I.2. Facteurs vasculaires et troubles cognitifs.....	7
I.2.1. Hypertension artérielle :	7
I.2.2. Rigidité artérielle :	9
I.2.3. Hypertrophie artérielle :	10
I.2.4. Dysfonction endothéliale :	11
I.2.5. Leucoaraïose (hypersignaux de la substance blanche) :	12
I.2.6. Altérations vasculaires, déterminants génétiques et troubles cognitifs :	14
I.3. Pression artérielle et risque cardiovasculaire (CV) chez la personne après 80 ans.....	15
I.4. Troubles cognitifs du sujet âgé.....	17
I.5. Mini Mental State Examination (MMSE) de Folstein	18
I.5.1. Présentation de l'instrument :	19
I.5.2. Facteurs de variation du MMSE et normes :	19
I.5.3. Limites du MMSE :	20
II. TRAVAUX	22
II.1. OBJECTIFS	22
II.2. Patients et Méthodes	24
II.2.1. Etude ADELAHYDE :	24
II.2.2. Etude PARTAGE :	30
II.2.3. Bilan Senior.....	32
II.3. Les publications	35
II.3.1. Article I. L'utilisation d'antagonistes calciques est associée à des meilleures performances cognitives, chez des sujets âgés hypertendus présentant une plainte mnésique subjective	35

II.3.2. Article II. Étude des polymorphismes des gènes impliqués dans les altérations vasculaires chez des sujets âgés hypertendus présentant une plainte mnésique subjective	48
II.3.3. Article III. Relation entre le déclin cognitif sur un an, et le niveau de la rigidité aortique. Etude longitudinale chez des sujets institutionnalisés de plus de 80 ans.....	59
II.3.4. Article IV. Etude de l'évolution du test Mini-Mental State Examination chez les personnes âgées de 65 ans et plus vivant à domicile et sans démence	67
III. DISCUSSION ET CONCLUSION.....	75
IV. RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	82
V. ANNEXES	89

TABLE DES ILLUSTRATION

Tableaux :

Tableau 1: Normes selon le NSC chez des sujets normaux pour les classes d'âge 50 à 79 ans.	20
Tableau 2 : Corrélation entre tests cognitifs et scores composites issus de l'analyse en composantes principales.....	29
Tableau 3 : Résultats de l'analyse linéaire multiple pour le score de mémoire globale (Grober et Buschke).....	37
Tableau 4 : Analyse ajustée à l'âge, de la relation entre la pression artérielle, la structure et la fonction artérielle avec la sévérité de la leucoaraïose (score Fazekas).	38
Tableau 5 : Classification des niveaux de pression artérielle (mmHg) selon les recommandations ESH 2007.....	69
Tableau 6 : Effet des différentes classes de l'HTA sur le score MMSE lors de la visite initiale.	69
Tableau 7 : Modèle de régression multiple obtenu à partir des données enregistrées lors de la visite initiale du bilan Senior visant à expliquer le changement annuel du MMSE et en introduisant les paramètres de la pression artérielle séquentiellement.	70

Figure :

Figure 1 : Relation entre score mémoire (Grober et Buschke) et le score Fazekas de leucoaraïose chez la population de l'étude ADELAHYDE.	37
---	----

I. INTRODUCTION

I.1. Introduction générale

Le vieillissement de la population conduit à une augmentation importante de la prévalence et de l'incidence des maladies liées au vieillissement. Le vieillissement artériel, ainsi que ses manifestations et complications cardiovasculaires majeures (hypertension systolique, accidents cérébro-vasculaires, insuffisance cardiaque, atteintes vasculaires périphériques, insuffisance rénale), représentent l'une des principales causes de perte d'autonomie, de morbidité et de mortalité chez le sujet âgé.

Ces modifications sont responsables de plusieurs maladies cardiovasculaires dont la prévalence augmente de façon très significative avec l'âge, telles que les accidents vasculaires cérébraux, l'insuffisance cardiaque, la maladie ischémique et les troubles du rythme, mais elles jouent aussi un rôle important dans la genèse et la progression d'autres maladies et syndromes du vieillissement telles que l'ostéoporose, la sarcopénie et les démences. Ces dernières années, des études ont montré l'importance des facteurs de risque cardiovasculaires dans la pathogénie des atteintes mnésiques et des démences (vasculaire ou Alzheimer) tout particulièrement chez les sujets les plus âgés. En effet, les démences vasculaires et la maladie d'Alzheimer (MA) ont été associées avec les maladies cérébrovasculaires, l'hypertension, le diabète, l'hypercholestérolémie et l'athérosclérose ^{1, 2}. Des données épidémiologiques et cliniques ont mis en évidence un lien entre la composante vasculaire et la maladie d'Alzheimer ³. En effet, plus d'un tiers des patients présentant une maladie d'Alzheimer présentent des atteintes cérébrovasculaires, et un tiers environ des patients ayant eu un diagnostic de démence vasculaire ont un diagnostic de maladie d'Alzheimer lors de l'analyse anatomo-pathologique à l'autopsie ⁴.

I.2. Facteurs vasculaires et troubles cognitifs

I.2.1. Hypertension artérielle :

L'hypertension artérielle (HTA) est un facteur de risque important de survenue de troubles cognitifs chez les personnes âgées. De nombreuses études de cohorte ont en effet montré un lien entre l'hypertension artérielle et le déclin cognitif. Ainsi, au sein de la cohorte de Framingham, une pression artérielle élevée vingt ans auparavant était inversement corrélée

aux performances cognitives chez des sujets hypertendus non traités ⁵. Depuis cette observation initiale, la plupart des études épidémiologiques ont retrouvé cette relation entre HTA et déclin cognitif. Ainsi l'étude HAAS (Honolulu-Asia Aging Study) qui a suivi 3735 sujets sur plus de 30 ans a montré que le risque de déclin cognitif à 78 ans augmentait avec le niveau de la pression artérielle (PA) systolique évaluée 25 ans auparavant ⁶. Le suivi longitudinal de patients hypertendus a montré que l'HTA était associée à un plus grand nombre de démences constatées 10 à 15 ans plus tard ⁷. Même sur une période de suivi plus courte de 4 ans, l'étude EVA (Epidemiology of Vascular Aging) retrouve un risque de déclin cognitif plus élevé chez les patients avec HTA chronique sans traitement (Odd Ratio=6) par rapport à un groupe normotendu ⁸.

Par ailleurs, dans une étude transversale chez des patients âgés de 70 à 89 ans, on observe également que le groupe d'hypertendus est significativement plus lent dans les tests d'évaluation cognitive ⁹. Néanmoins, en population générale âgée, une étude longitudinale utilisant les sujets issus des études EPESE (Epidemiologic Study of the Elderly) et HDFP (Hypertension Detection and Follow-Up Program) n'a pas mis en évidence d'association linéaire entre PA et déclin cognitif malgré un suivi sur 9 ans ¹⁰.

Des essais thérapeutiques, tels que SYST-EUR (Systolic Hypertension in Elderly in Europe) ¹¹ avec un inhibiteur calcique (Nitrendipine) et l'étude PROGRESS ¹² avec un inhibiteur de l'enzyme de conversion (Périndopril), ont montré l'effet bénéfique de l'utilisation d'un traitement anti-hypertenseur sur l'incidence des démences. En étude transversale, on retrouve également une meilleure fonction cognitive chez les patients traités par antihypertenseurs que chez les patients non traités ¹³. Cependant, l'efficacité préventive d'un traitement antihypertenseur dans le développement d'un trouble cognitif demeure controversée puisque non retrouvée par une méta-analyse ¹⁴. L'hypothèse d'une participation vasculaire, indépendante du niveau tensionnel, a été évoquée. L'étude SCOPE (Study on Cognition and Prognosis in the Elderly) ne trouve pas d'effet significatif du candesartan, antagoniste des récepteurs de l'angiotensine 2 (ARA2), sur l'apparition du déclin cognitif ¹⁵. Dans l'étude HYVET-COG (Hypertension in the Very Elderly Trial cognitive function assessment) de l'hypertension chez les personnes très âgées, le traitement antihypertenseur n'a pas réduit significativement l'incidence de la démence. Néanmoins, une méta-analyse (intégrant les résultats de l'étude HYVET) a appuyé la conclusion que le traitement antihypertenseur peut potentiellement réduire l'incidence de la démence ¹⁶.

La relation entre l'hypertension artérielle et les fonctions cognitives est de fait probablement plus complexe qu'une simple relation linéaire ¹⁷.

I.2.2. Rigidité artérielle :

En effet, le vieillissement s'accompagne de modifications structurales importantes traduisant un remodelage progressif des artères ¹⁸. Ce remodelage est caractérisé par l'augmentation du calibre des gros troncs artériels (GTA), une hypertrophie pariétale, la fragmentation et la désorganisation des fibres élastiques des artères, une augmentation du contenu en collagène et la glycation non-enzymatique du collagène. Les altérations structurales conduisent à un accroissement de la rigidité des parois artérielles, responsable d'une réduction de la distensibilité et d'une amplification des ondes de pression réfléchies de la périphérie vers l'aorte, ces deux phénomènes étant responsables de l'augmentation de PA systolique et de la pression pulsée ^{19, 20}. Ainsi, une des conséquences de la rigidité des GTA est la dysrégulation du débit tissulaire local, par exemple au niveau cérébral.

Les deux marqueurs les plus utilisés pour apprécier la rigidité artérielle sont la pression pulsée (PP) et la vitesse de l'onde de pouls (VOP) mesurée par tonométrie. Par ailleurs, l'index d'augmentation (AIx), paramètre mesuré lors de l'analyse de la courbe de vitesse de l'onde de pouls, permet de quantifier le pourcentage de réflexion de l'onde pulsatile, servant comme index de rigidité artérielle.

L'implication de la rigidité artérielle a été évoquée dans les démences d'origine vasculaire et dans la maladie d'Alzheimer.

Scuteri et coll. ont montré lors d'une étude pilote transversale une association entre rigidité artérielle et diminution des performances cognitives, indépendamment des facteurs de risque cardiovasculaires, et des dommages microvasculaires et/ou neurodégénératifs identifiés par imagerie cérébrale chez des patients âgés n'ayant jamais présenté auparavant d'accident vasculaire cérébral ²¹.

Hanon et al ont réalisé une étude transversale concernant 308 patients consécutifs (moyenne d'âge 78 ans, 64% de femmes, 76 % de patients hypertendus) se présentant avec diverses formes de troubles cognitifs (Mild Cognitive Impairment (MCI) 27%, maladie d'Alzheimer 41%, démence vasculaire 6%) et ont objectivé une association significative entre valeurs élevées de VOP et altération des fonctions cognitives ²².

Plus récemment, Scuteri et al ont montré que la rigidité artérielle est un prédicteur indépendant des changements longitudinaux de fonction cognitive chez le sujet âgé ²³. Dans une cohorte plus large (582 patients, Baltimore Longitudinal Study), avec un suivi de 11 ans

de sujets d'âge moyen 54,3 ans (20-96), les marqueurs de rigidité artérielle (VOP et PP) ont été associés au déclin cognitif avant le stade de démence ²⁴.

Cependant, cette association n'a pas été retrouvée sur une autre cohorte avec un suivi de 5 ans chez 2767 sujets d'âge moyen $70,7 \pm 6$ ans ²⁵.

Les résultats de l'étude transversale « ADELAHYDE I » réalisée chez des hypertendus âgés avec plaintes mnésiques sans démence montrent une association entre les indices de la rigidité artérielle et la fonction cognitive d'une part, et l'intensité des anomalies de la substance blanche en IRM d'autre part. ²⁶.

I.2.3. Hypertrophie artérielle :

L'épaisseur intima média (EIM) de la paroi profonde de l'artère carotide primitive représente la distance entre les deux interfaces échogènes brillantes et parallèles qui séparent d'une part la lumière vasculaire de l'intima, et d'autre part la media de l'adventice. L'âge est le facteur prédicteur indépendant le plus important, et constamment retrouvé, d'épaisseur intima média.

Les modifications de la paroi vasculaire, en particulier l'EIM de la paroi de la carotide, sont considérées comme un stade précoce du développement et un marqueur phénotypique de l'athérosclérose. L'épaississement de la paroi carotidienne précéderait de plusieurs années l'apparition de plaques athéromateuses sténosantes au niveau des circulations non seulement cérébrale, mais aussi coronaire et périphérique. Il a même été possible de calculer que pour chaque épaississement de 0,1 mm, le risque de survenue d'un accident coronaire augmentait de 10% ²⁷.

Le Centre d'Investigation Clinique de Nancy a étudié chez 76 familles supposées saines de la Cohorte Stanislas, la ressemblance familiale de l'EIM des carotides droite et gauche ²⁸. Environ 30% de la variance interindividuelle était due à des facteurs génétiques, alors que le polymorphisme de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ECA) n'était pas significativement corrélé à cette variabilité. Le polymorphisme de l'apoE expliquerait environ 1,5 % de la variabilité de l'EIM de la carotide droite chez les pères. Les facteurs de risque classiques d'athérosclérose étaient fortement corrélés à l'EIM.

Talelli et al ²⁹ a observé que l'EIM mesurée chez 171 sujets pendant une hospitalisation pour accident vasculaire cérébral (AVC) prédit le déclin cognitif, défini par un score MMSE < 24, à 1 an après l'AVC (OR 1.94; 95% CI 1.19–3.18). Cette association reste significative même après l'ajustement aux données démographiques, aux facteurs de risque cardiovasculaires et à la dépression.

Chez des sujets présentant un déclin cognitif, Gaetano G.³⁰ a montré en 2009 que le score MMSE était associé à la concentration plasmatique d'homocystéine ($\beta=-0.3$, $p=0.01$), à l'EIM ($\beta=-0.3$, $p=0.01$) et au polymorphisme du gène de la méthylène tétrahydrofolate réductase (MTHFR), un des gènes du métabolisme de l'homocystéine.

L'hypertrophie artérielle évaluée par l'EIM pourrait être un marqueur prédictif d'accidents cardio et cérébro-vasculaires ainsi que du déclin cognitif et de démence. Dans l'étude transversale « ADELAHYDE I », l'EIM était indépendamment associée à l'intensité des anomalies de la substance blanche en IRM²⁶.

I.2.4. Dysfonction endothéliale :

Une dysfonction endothéliale est observée chez les patients présentant des facteurs de risque cardiovasculaires^{31, 32}. Le témoin de la dysfonction endothéliale le plus fréquemment mis en évidence est la diminution de la vasodilatation endothélium-dépendante au niveau des gros vaisseaux et de la microcirculation. Plusieurs biomarqueurs peuvent également témoigner de la dysfonction endothéliale.

Des études ont récemment montré qu'il pouvait y avoir une relation entre dysfonction endothéliale, MCI et maladie d'Alzheimer.

En 2008, G.Zuliani et ses coll.³³ ont observé une dysfonction endothéliale, évaluée par les concentrations plasmatiques des molécules d'adhésion cellulaire vasculaire (VCAMs, sE-selectin), chez les patients déments de type Alzheimer à début tardif ou de type vasculaire. Ceci corroborait les résultats d'une étude portant sur de petits effectifs (25 patients), et utilisant une mesure de la fonction endothéliale flux dépendante³⁴.

Des perturbations endothéliales et des microruptures de la barrière hémato-encéphalique pourraient constituer des facteurs de survenue plus précoce et d'aggravation du déclin cognitif et de la maladie d'Alzheimer en s'ajoutant à la voie amyloïdogénique. Ces perturbations s'appuieraient sur des activations anormales des plaquettes et leucocytes, des interactions et des agrégations sur l'endothélium et l'augmentation de dépôts amyloïde sur les parois vasculaires. La glycoprotéine VI ou CD36 qui appartient à la classe des récepteurs scavenger du groupe B est exprimé sur les membranes des leucocytes, des plaquettes et de cellules gliales³⁵. Sa liaison au peptide Ab entraîne une activation cellulaire, source d'une réponse immune³⁵. Ce dernier est sécrété dans le plasma après activation plaquettaire et sa concentration plasmatique et son expression leucocytaire diminuent chez les patients atteints par la maladie d'Alzheimer³⁵.

Dans « ADELAHYDE I », la concentration plasmatique de Facteur Von Willebrand, marqueur de la fonction endothéliale, était indépendamment associée à l'intensité des anomalies de la substance blanche en IRM ²⁶.

I.2.5. Leucoaraïose (hypersignaux de la substance blanche) :

La leucoaraïose, indice de lésions microvasculaires cérébrales, correspond à la présence d'hypersignaux de la substance blanche à l'IRM en T2. Le terme « leucoaraïose » est strictement descriptif, signifiant raréfaction de la substance blanche (du grec *leukos* : blanche et *araiosis* : raréfaction) correspondant à une augmentation de la transparence de la substance blanche en tomodensitométrie (TDM) ³⁶.

Anomalies de la substance blanche, HTA et facteurs vasculaires

La présence d'hypersignaux de la substance blanche augmente avec l'âge et l'HTA. Certains auteurs affirment que la plupart des sujets hypertendus présentent des hypodensités de la substance blanche détectables en TDM ³⁷.

Une étude longitudinale a montré que l'hypertension chez les sujets âgés est associée à une augmentation de la progression à la fois de l'atrophie cérébrale et des hypersignaux de la substance blanche, évaluée par l'IRM ³⁸. De plus, cette étude a montré que le traitement efficace de l'HTA est associé à une réduction du risque de progression des hypersignaux de la substance blanche et, dans un moindre degré, de l'atrophie cérébrale ³⁸.

Cependant, une proportion non négligeable de patients normotendus asymptomatiques (27 à 38 % des sujets de plus de 65 ans à l'examen IRM) présente des hypersignaux de la substance blanche à partir d'un certain âge ³⁹.

D'autres études ont montré l'existence d'une relation entre l'existence d'atteintes de la substance blanche et l'atteinte de la fonction endothéliale ⁴⁰, avec également des modifications de l'épaisseur intima média (EIM) ⁴¹.

Une étude récente a montré que la rigidité artérielle évaluée par la VOP était associée à la sévérité des hypersignaux de la substance blanche chez des sujets âgés ⁴².

Dans l'étude transversale « ADELAHYDE I », l'âge, l'AIx, l'EIM et la concentration plasmatique de Facteur von Willebrand étaient indépendamment associés à la gravité de leucoaraïose évaluée en IRM ²⁶.

Anomalies de la substance blanche et fonction cognitive

Il a été montré que les hypersignaux de la substance blanche sont associés aux troubles cognitifs.

En 1997, Pantoni et Garcia ⁴³ indiquent que les hypodensités de la substance blanche visibles au scanner sont associées à une perturbation des processus cognitifs. Il s'agit essentiellement de plaintes mnésiques subjectives, conséquence d'une diminution de la vitesse de traitement de l'information, et de troubles de l'attention. L'atteinte des fonctions de traitement de l'information complexe et de l'attention serait proportionnelle à la sévérité de l'atteinte cérébrale. Il a été montré que la sévérité des hypersignaux de la substance blanche était associée au déclin cognitif ⁴⁴.

Sierra et ses coll. ⁴⁵ ont observé que la présence des hypersignaux asymptomatiques de la substance blanche chez les sujets d'une cinquantaine d'années hypertendus était associée au déclin modéré de l'attention.

La présence d'hypersignaux de la substance blanche serait plus fréquente chez les patients atteints de la maladie d'Alzheimer que dans une population témoin, faisant évoquer la participation de lésions vasculaires chez ces patients ^{43,46}. Il a été suggéré que l'athérosclérose peut provoquer une hypoperfusion cérébrale localisée ou généralisée qui peut conduire à des lésions dégénératives de maladie d'Alzheimer, ainsi qu'à des hypersignaux de la substance blanche ou les deux ⁴.

Enzinger et son équipe ⁴⁷ ont montré, sur une étude longitudinale, que la sévérité des hypersignaux de la substance blanche évaluée par l'IRM, (mais aussi la concentration en HbA1c, l'index de corpulence et la consommation d'alcool) à l'inclusion prédit la progression de l'atrophie cérébrale à 6 ans. Ceci souligne la possible influence des hypersignaux de la substance blanche dans la pathogénie des troubles cognitifs via son rôle dans l'atrophie cérébrale.

Progression des hypersignaux de la substance blanche

Une étude longitudinale sur plus de 13 ans d'une cohorte des sujets âgés de plus de 65 ans avec trois IRM au moins par patient a montré que la progression du volume des hypersignaux de la substance blanche sous-corticale était associée à un déclin mnésique ⁴⁸.

Une autre étude portant sur une cohorte de sujets nés en 1914 a montré que la progression du volume des hypersignaux de la substance blanche était associée au déclin des fonctions cognitives ⁴⁹.

On a vu précédemment que l'hypertension prédit la progression du volume des hypersignaux de la substance blanche. Dans ce contexte portant sur les facteurs prédictifs de l'évolution de ces lésions, une étude longitudinale s'est intéressée à cette évolution chez des sujets parkinsoniens et déments de type Alzheimer ou corps de Levy. Cette étude menée à 4 ans révèle que le degré d'hypersignaux de la substance blanche lors de l'inclusion influence sa progression, chez ces malades atteints de pathologies dégénératives plus que le type ou la sévérité de démence ⁵⁰.

I.2.6. Altérations vasculaires, déterminants génétiques et troubles cognitifs :

Comme dans le cas de toutes les pathologies multifactorielles, la majorité des troubles cognitifs ou des démences sont déclenchés par une combinaison de facteurs environnementaux et génétiques. L'influence des facteurs génétiques sur le déclin cognitif, excepté pour l'apolipoprotéine E (APOE) ^{51, 52}, n'a pas été rapportée chez les patients présentant des troubles cognitifs débutant avant la démence.

Comme déjà démontré précédemment, les altérations vasculaires sont associées au déclin cognitif et aux hypersignaux de la substance blanche. Ces derniers sont aussi associés à l'altération des fonctions cognitives. L'hypertension représente l'un des principaux facteurs de risque des maladies cérébro-vasculaires. De nombreuses études ont montré que des niveaux élevés de pression artérielle sont fortement associés au risque du déclin cognitif et de la démence à long terme.

Les résultats de l'étude transversale « ADELAHYDE I » ont montré que les anomalies vasculaires telles que la rigidité artérielle, au-delà des valeurs normales de la PA, sont associées aux troubles cognitifs, ainsi qu'aux hypersignaux de la substance blanche chez des personnes âgées, hypertendues et présentant un trouble cognitif subjectif. Dans ce contexte, l'étude des gènes candidats des facteurs de risque cérébrovasculaire nous aidera à identifier les mécanismes physiopathologiques associés au développement précoce des troubles cognitifs et de la démence.

Des études antérieures ont montré que les gènes d'APOC3, de lipoprotéine lipase, d'E-sélectine et de glycoprotéine IIIa sont corrélés au niveau de la PA ^{53, 54}. Il a aussi été suggéré

que les polymorphismes des gènes de la rénine angiotensine sont associés aux leucoaraïoses⁵⁵.

L'allèle $\epsilon 4$ du gène APOE, une apolipoprotéine clé du métabolisme du cholestérol et de l'athérosclérose, un facteur génétique impliqué dans la prédisposition à la maladie d'Alzheimer (familiale et sporadique)⁵⁶, semble être impliqué dans le déclin cognitif survenu dans les conditions normales chez les personnes âgées⁵⁷.

1.3. Pression artérielle et risque cardiovasculaire (CV) chez la personne après 80 ans

Si la relation entre le niveau tensionnel et les complications cardiaques, vasculaires, cérébrales ne fait plus aucun doute pour les personnes du troisième âge, les données concernant les sujets après 80 ans sont beaucoup moins claires. Dans une étude de cohorte hollandaise⁵⁸ de sujets ambulatoires de plus de 85 ans, la survie était plus faible chez les sujets normotendus (PAS<140 mmHg) que chez les sujets présentant une PAS élevée. Cette relation paradoxale disparaît après ajustement avec les facteurs de co-morbidité. Toutefois, même après ces ajustements, la relation attendue entre la PAS et la mortalité n'est pas retrouvée⁵⁸. D'autres études suggèrent qu'une baisse de la PA au cours des années est un phénomène fréquent et qu'elle prédit une mortalité augmentée au cours des années ultérieures⁵⁹. Il n'en demeure pas moins que ces résultats compliquent la stratification du risque en fonction de la PAS et donc, la sélection des sujets à traiter. Une étude américaine⁶⁰ réalisée en institution a montré l'absence de toute relation entre le niveau tensionnel et le risque CV. Ainsi, il paraît clair que le niveau de la PA peut être profondément influencé par des co-morbidités fréquentes chez la personne âgée, notamment par des troubles nutritionnels, des pathologies cardiaques et celles du système nerveux central. Ces co-morbidités ont en général tendance à modifier le profil tensionnel et peuvent ainsi fausser la relation entre l'état tensionnel et les complications cardiovasculaires et cérébrovasculaires.

De ce fait, l'évaluation du risque vasculaire chez des personnes âgées polypathologiques âgées par la mesure standard de la PA ne semble pas être la meilleure approche. Aussi, il est important de prendre en compte ces considérations et utiliser des méthodes autres que la mesure casuelle pourrait éventuellement mieux évaluer le risque CV.

Mesure non-invasive de la pression centrale et de la rigidité artérielle chez la personne de plus de 80 ans vivant en EHPAD

Le développement des nouvelles techniques non-invasives basées sur la tonométrie permet l'étude de la pression artérielle centrale aortique à partir d'enregistrements réalisés au niveau des artères périphériques⁶¹⁻⁶³. L'enregistrement de l'onde de pouls au niveau des artères périphériques permet également l'analyse des ondes de réflexion et la mesure de la vitesse de propagation de l'onde de pouls (VOP) qui est actuellement la méthode de référence pour l'évaluation de la rigidité artérielle^{64, 65}.

Ces méthodes largement utilisées à l'heure actuelle dans des études cliniques et épidémiologiques chez des personnes d'âge moyen ont démontré leur intérêt dans l'évaluation du risque CV. Les paramètres artériels tels que les ondes de réflexion et la VOP sont peu influencés par le débit cardiaque, la présence d'une médiacalcosse et l'état général du patient et peuvent ainsi mieux refléter l'état artériel des patients âgés.

Jusqu'à présent, peu d'études ont validé l'intérêt clinique et pronostique des techniques récentes de mesure de la pression artérielle et de la rigidité artérielle chez les sujets âgés de plus de 80 ans vivant en EHPAD. La confirmation de l'intérêt de ces méthodes pourrait ainsi avoir des conséquences pratiques sur l'évaluation du risque de morbidité, de déclin cognitif et de mortalité, et sur la prise en charge de ces sujets souvent polypathologiques, polymédicalisés et fragiles.

Les principaux résultats publiés des données de base (visite initiale) issues de notre projet PARTAGE (Pression ARTérielle des personnes AGEes vivant en EHPAD), qui examine le rôle de la rigidité artérielle sur la morbi-mortalité mais aussi le déclin cognitif de sujets de plus 80 ans résidant dans des Etablissements d'Hébergement pour Personnes Agées Dépendantes (EHPAD)^{64, 65}, sont :

- La PA mesurée de façon standard est très corrélée à celle mesurée par auto-mesure, ce qui différencie cette population institutionnalisée très âgée des populations ambulatoires, où les études ont constaté de grandes différences entre ces deux mesures.
- La rigidité aortique continue à augmenter, même après l'âge de 90 ans, alors que la rigidité mesurée au niveau des artères des membres supérieurs n'est pas modifiée avec l'âge.
- La PA centrale, mesurée à l'aide d'un tonomètre, est fortement corrélée à la présence d'antécédents de maladies cardiaques, alors que la rigidité artérielle aortique, mesurée par la VOP, est essentiellement corrélée avec les facteurs de risque cardiovasculaire.

1.4. Troubles cognitifs du sujet âgé

Se plaindre d'une diminution des capacités mnésiques dans la vie quotidienne est banal à tout âge. Cette plainte prend une importance particulière chez le sujet âgé du fait de sa fréquence et surtout de la crainte qu'elle ne révèle une maladie d'Alzheimer (MA) débutante.

La plainte mnésique est fréquente à tout âge comme le montrent les études épidémiologiques effectuées dans la population générale. Ainsi, selon Cutler et Grams (1989), 59% des plus de 59 ans se plaindraient de leur mémoire ⁶⁶. Une plainte mnésique a été recueillie chez 22 % des 810 sujets âgés de 18 à 85 ans étudiés par Bassett et Folstein (1993) aux Etats-Unis ⁶⁷. Dans une étude portant sur 260 sujets cognitivement intacts qui s'étaient présentés à une consultation de mémoire « ouverte » sur une période d'un an, 30 % avaient moins de 50 ans ⁶⁸. L'interprétation de la fréquence et de la signification de la plainte mnésique est rendue difficile par le fait que ce terme recouvre des réalités très différentes selon que la plainte est présentée spontanément par le sujet (plainte exprimée), par son entourage, ou qu'elle résulte d'une recherche systématique à l'aide de quelques questions ou de questionnaires élaborés à cet effet (plainte ressentie).

A savoir que le vieillissement cérébral normal s'accompagne de modifications fonctionnelles mnésiques : « les oublis ». Dans le cadre du vieillissement cérébral normal, les oublis disparaissent spontanément, des informations non accessibles à un moment donné reviennent en mémoire quelques instants plus tard, spontanément ou après une procédure de recherche. Le retentissement de ces « oublis » sur l'activité objective dans la vie quotidienne est faible ou nul, bien qu'ils soient parfois très gênants subjectivement, alors que la plainte mnésique « suspecte » est caractérisée par la persistance d'oublis qui ont un fort retentissement sur l'activité objective du sujet. Ces troubles alertent assez vite l'entourage ; le sujet, même s'il est souvent conscient de présenter des difficultés mnésiques, en minimise la sévérité et le retentissement sur la vie quotidienne.

Cependant, l'âge, en soi, peut difficilement être considéré comme une variable explicative. Il s'agit, en réalité, d'une dimension sur laquelle se greffe un certain nombre de facteurs organiques (vieillissement du cerveau, pathologies cérébrales associées dégénératives, vasculaires, traumatiques mais aussi vieillissement des autres organes, déficits endocriniens...), psychologiques (modifications de l'image corporelle, de la sexualité...) et sociaux (modifications de rôle, de statut...) aboutissant à des modifications d'identité et d'estime de soi. Certains sujets s'adaptent à ces changements et trouvent des stratégies de compensation, d'autres non.

Nous avons vu l'importance des corrélats psychoaffectifs dans les études cliniques et épidémiologiques. Antikainen *et al.* ont montré, dans une étude, que l'amélioration de l'humeur dépressive est corrélée avec la réduction de l'intensité de la plainte mnésique ⁶⁹. Les travaux de Desrouesné *et al.* ⁶⁸ relient la plainte à la sévérité de la symptomatologie anxieuse et non à celle d'une éventuelle atteinte mnésique objectivée par les tests.

Dépistage des déficits cognitifs débutants

L'existence d'altérations cognitives prédictives de démence est bien établie. Il a été possible d'identifier un groupe de sujets à très haut risque de démence (plus de 85% à 4 ans) ⁷⁰. Dans l'étude PAQUID (Personnes Agées QUID), les mêmes constatations ont été faites à l'aide d'autres tests en montrant que des performances anormalement faibles peuvent être mises en évidence 9 ans avant le diagnostic de la maladie d'Alzheimer ⁷¹. D'après l'étude de Framingham, il semble même que l'altération des performances cognitives précède le stade clinique de cette pathologie de 13 ans au moins, voire de plusieurs dizaines d'années ⁷².

Qu'il s'agisse de déceler des troubles mnésiques derrière une plainte, très fréquente après 60 ans, ou de la surveillance de l'état cognitif de la personne âgée en consultation de routine, le médecin doit pouvoir disposer de moyens de dépistage suffisamment fiables, faciles d'utilisation, mais aussi rapides. Il s'agit des « **examens standardisés** » qui peuvent être employés à grande échelle dans le dépistage des troubles cognitifs à condition de bien connaître les tests et leurs consignes de passation. Le plus anciennement utilisé est le *Mini Mental State Examination* (MMSE) de Folstein ⁷³. L'avantage des examens standardisés comme MMSE est certain : ils assurent une bonne reproductibilité d'un examen à l'autre, relativement bonne d'un observateur à l'autre, et, permettent une quantification utile pour suivre la progression des troubles.

1.5. Mini Mental State Examination (MMSE) de Folstein

Le Mini Mental State a vu le jour en 1975 suite à la publication d'un article de Marshal F. Folstein, Susan E. Folstein et Paul R Mac Hugh ⁷³ intitulé « Mini Mental State A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician ». Les tests de référence utilisés avant le MMSE étaient jugés trop longs par les spécialistes, par exemple le WAIS nécessitait plus de 30 minutes alors que la capacité de concentration d'une personne âgée qui plus est démente est bien inférieure à la demi-heure.

Ce test a été validé par ses auteurs anglo-saxons et européens. Il est universellement utilisé. Une version française consensuelle a été réalisée par le GRECO (Groupe de Recherche et d'Evaluations Cognitives) ⁷⁴.

I.5.1. Présentation de l'instrument :

C'est un test composite de 30 questions regroupées en 7 catégories. Le score maximum est de 30 points. Les questions portent sur l'orientation dans le temps (5 points), l'orientation dans l'espace (5 points), le rappel immédiat de trois mots (3 points), l'attention et le calcul mental (5 points), le rappel différé des 3 mots (3 points), le langage (8 points), et les praxies visuo-constructives (1 point). Il est important, pour standardiser de la passation et de la cotation, de suivre les consignes à la lettre.

I.5.2. Facteurs de variation du MMSE et normes :

La notion de score seuil d'un test implique la connaissance du niveau habituel de performance des sujets dits « normaux ». Dans cette population dite « normale », c'est-à-dire indemne de pathologies, des études montrent qu'il existe des facteurs qui modifient la sensibilité et la spécificité du MMSE. Les facteurs les plus étudiés sont l'âge et le niveau éducationnel des sujets testés.

Dans une population de 18056 sujets, Crum et al. ⁷⁵ ont évalué l'influence de l'âge et le niveau culturel dans un échantillon de l'enquête de l'Epidemiologic Catching Area (programme de l'Institut National Américain de la Santé Mentale conduit entre 1980 et 1984): Ils rapportent que la médiane du score décroît régulièrement avec l'âge des patients testés : de 29 à 18-24 ans, elle passe à 25 pour la tranche d'âge de plus de 80 ans. Cette étude montre que le score moyen est de 19 chez les sujets ayant complété moins de 4 ans de scolarisation, de 24 pour une scolarisation de 5 à 8 ans, de 27 pour une scolarisation de 9 à 12 ans et de 28 pour ceux qui ont complété un niveau universitaire.

Les normes doivent en France être corrigées selon les résultats de l'étalonnage réalisé chez 2000 sujets normaux par âge, sexe et niveau socio-culturel (NSC). Cet étalonnage a été réalisé par Kalafat et al. ⁷⁶ (Tableau 1), en coopération avec les centres de santé CPAM et AGGIRC-ARRCO.

Tableau 1: Normes selon le NSC chez des sujets normaux pour les classes d'âge 50 à 79 ans.

NSC	pas de CE	CE	Brevet	Bac et +
Médiane (C50)	28	28	28	29
Centile 10	24	25	26	27
Centile 5 Seuil pathologique	22	23	25	26

Après 80 ans de façon grossière : il faut enlever un point à chaque groupe.

I.5.3. Limites du MMSE :

Deux éléments sont nécessaires à souligner selon le GRECO ⁷⁷ :

- Le MMSE n'est pas un test psychométrique: c'est un examen clinique standardisé qui n'a pas les qualités métrologiques des tests psychométriques. Il ne peut être considéré comme un test d'intelligence puisque tout sujet normal et beaucoup de sujets présentant un déficit cognitif ont un score entre 24 et 30. Le MMSE n'est pas, non plus, un instrument permettant d'établir un profil neuropsychologique des patients : les renseignements qu'il fournit sont quantitatifs, assez grossiers et les items de langage ont une sensibilité faible. Il ne permet nullement de dépister les patients ayant des lésions neurologiques focales, en particulier parce qu'il explore très peu les fonctions de l'hémisphère droit. Comme il n'explore pas les fonctions exécutives, il ne détecte pas précocement les patients ayant des lésions frontales.
- Le MMSE explore une performance cognitive au moment de la passation du test et non la compétence du sujet. Un score bas n'est spécifique d'aucune pathologie : il peut être dû à une affection psychiatrique, en particulier à une dépression, tout autant qu'à une affection organique cérébrale, mais également aux conditions de passation du test (anxiété) ou au niveau culturel du sujet (le score n'a aucune signification chez les sujets ne sachant ni lire ni écrire, ou s'il est employé chez des sujets de langue et de culture différentes). La performance peut être également diminuée en raison d'une surdité, d'une cécité, d'une paralysie ou d'un trouble du langage. Dans ce cas, certains auteurs présentent un score partiel tenant compte de ces difficultés (par exemple 23 / 28 en cas de cécité).

Malgré toutes ces remarques, le MMSE est un instrument particulièrement utile dans le dépistage et le suivi des troubles cognitifs et des démences. À ce titre, il mérite de faire partie de l'examen systématique des sujets âgés, non seulement en neurologie, mais également en gériatrie, en psychiatrie et en médecine interne. La Haute Autorité de santé (HAS) recommande d'utiliser le MMSE ⁷⁸.

II. TRAVAUX

II.1. OBJECTIFS

L'objectif général de ce travail de thèse est d'étudier l'effet de la composante vasculaire sur les troubles cognitifs chez le sujet âgé.

Dans ce contexte, nous avons étudié les aspects épidémiologiques, physiopathologiques, génétiques et thérapeutiques de la relation entre les troubles cognitifs et l'hypertension artérielle ou les marqueurs du vieillissement artériel chez les sujets âgés de 60 à 85 ans hypertendus présentant une plainte mnésique subjective (ADELAHYDE) et chez des sujets institutionnalisés âgés de plus de 80 ans suivis sur une période d'un an (PARTAGE), ainsi que chez une population âgée de plus de 60 ans, en bon état général, sans démence et ayant bénéficié d'un bilan systématique de santé (Bilan Senior).

De façon plus précise, il s'agit d' :

- Etudier la relation entre la pression artérielle et les fonctions cognitives dans les 3 études ADELAHYDE, PARTAGE et Bilan Senior.
- Evaluer l'influence de la rigidité artérielle sur le déclin cognitif chez les sujets ayant participé à l'étude PARTAGE et suivis sur une période d'un an.
- Etudier la relation entre les différents traitements antihypertenseurs et le déclin cognitif dans la population de l'étude ADELAHYDE.
- Identifier des variantes génétiques associées à la sévérité des troubles cognitifs et au degré de la leucoaraïose dans la population de l'étude ADELAHYDE, en ciblant les gènes impliqués dans les altérations vasculaires.

L'objectif secondaire est :

- Evaluer l'influence de l'état psychologique et émotionnel sur le score MMSE et de son évolution sur 4 ans dans la population du Bilan Senior.

Nous présentons dans ce chapitre les quatre articles qui font l'objet de ma thèse et sont issus des programmes cités ci-dessous :

- deux programmes de recherche clinique que nous menons ces dernières années au CHU de Nancy : PARTAGE et ADELAHYDE. Ces programmes ont pour objectif

d'étudier le rôle du vieillissement artériel dans le développement et/ou dans l'évolution des troubles démentiels chez des sujets âgés à haut risque de troubles cognitifs.

- Bilan Senior : dans le cadre de notre collaboration avec le Centre de Médecine Préventive (CMP) de Vandoeuvre-les-Nancy. Le Bilan Senior, créé au CMP en avril 2003, grâce à la collaboration du CHU de Nancy, du Pr. Athanase Bénétos en particulier, et à l'appui de la Direction du CMP. Ce travail de collaboration a pour objectif de dépister les signes de fragilité physique, mentale et psychique de consultants âgés de 60 ans et plus.

Ma thèse fait suite à un Master 2 de Recherche en Biologie du Vieillissement en 2008 (université Paris 7) au centre de Gériatrie du CHU de Nancy sous la direction du Pr. A. Benetos. Au cours de ce M2R, j'ai étudié la relation entre la longueur des télomères et différents marqueurs de stress oxydant chez des patients atteints de la maladie de Parkinson. Ces travaux ont fait l'objet d'une publication ⁷⁹ (Annexe I).

Les articles originaux des travaux de la thèse :

1- Deux articles issus de l'étude ADELAHYDE :

- a. **Article I: L'utilisation d'antagonistes calciques est associée à de meilleures performances cognitives, chez des sujets âgés hypertendus présentant une plainte mnésique subjective** ⁸⁰. Watfa G, Rossignol P, Kearney-Schwartz A, Fay R, Bracard S, Felblinger J, Boivin JM, Lacolley P, Zannad F, Benetos A. Use of calcium channel blockers is associated with better cognitive performance in older hypertensive patients with subjective memory complaints. *J Hypertens*. 2010;28(12):2485-2493.
- b. **Article II : Étude des polymorphismes des gènes impliqués dans les altérations vasculaires chez des sujets âgés hypertendus présentant une plainte mnésique subjective** ⁸¹. Watfa G, Marteau JB, Rossignol P, Kearney-Schwartz A, Fay R, Bracard S, Felblinger J, Boivin JM, Lacolley P, Visvikis-Siest S, Benetos A, Zannad F. Association study of gene polymorphisms involved in vascular alterations in elderly hypertensives with subjective memory complaints. *Dement Geriatr Cogn Disord*. 2010;30(5):440-448.

2- Un article issu de l'étude PARTAGE :

- A. **Article III: Relation entre le déclin cognitif sur un an, et le niveau de la rigidité aortique. Etude longitudinale chez des sujets institutionnalisés de plus de 80 ans** ⁸². Benetos A, Watfa G, Hanon O, Salvi P, Fantin F, Toulza O, Manckoundia P, Agnoletti D, Labat C, Gautier S. Pulse Wave Velocity is

Associated With 1-Year Cognitive Decline in the Elderly Older than 80 Years: the PARTAGE Study. J Am Med Dir Assoc. 2011.

3- Un article issu du bilan Senior :

A. **Article IV : Etude de l'évolution du test Mini-Mental State Examination chez les personnes âgées de 65 ans et plus vivant à domicile et sans démence.** G. Watfa, N. Husson, S. Buatois, M. C. Laurain and P. Miget, Benetos A. Study of mini-mental state exam evolution in community-dwelling subjects aged over 60 years without dementia. J Nutr Health Aging. In press.

II.2. Patients et Méthodes

II.2.1. Etude ADELAHYDE :

Patients :

Le Centre d'Investigations Cliniques et le Service de Gériatrie du CHU de Nancy ont réalisé une étude transversale ADELAHYDE (Analyse des DEterminants génétiques et environnementaux de la LeucoAraïose dans une population de patients HYpertendus présentant des troubles cognitifs DEbutants)²⁶ portant sur la contribution relative des altérations artérielles (macrovasculaires : étude de la structure et la fonction artérielle, microvasculaires : fonction endothéliale, hypersignaux de la substance blanche) sur le déclin cognitif chez une population à haut risque de remodelage cardiovasculaire et/ou de démence. Il s'agissait de 378 patients âgés hypertendus traités présentant des plaintes mnésiques subjectives mais sans démence.

Les critères d'inclusion étaient :

- hommes et femmes âgés de 60 à 85 ans
- antécédents d'hypertension, découverte depuis plus d'un an et traitée depuis au moins un mois
- patients présentant une plainte mnésique subjective définie par un score de Mac Nair supérieur ou égal à 15 (version révisée française à 26 items)⁸³. Ce score a été mesuré chez des patients exprimant une plainte mnésique ou une plainte exprimée par l'entourage.

Les critères d'exclusion étaient :

- HTA secondaire connue
- HTA sévère (PAS>200 mmHg, ou PAD>120 mmHg) ou HTA maligne
- Créatinine plasmatique > 25mg/l
- ASAT et ALAT au dessus de deux fois la valeur normale du laboratoire
- Index de corpulence > 40 kg/m²
- antécédent d'accident vasculaire cérébral
- insuffisance cardiaque de stade NYHA (New York Heart Association) ≥ III
- cancer ou maladie de système
- antécédents de pathologie psychiatrique ou neurologique évolutive
- démence connue (définie selon les critères du DSM IV)
- suspicion de pathologie démentielle (MMSE ≤ 24, si niveau d'éducation bas ou 26 si haut niveau d'éducation)
- suspicion de dépression (Geriatric Depression Scale (GDS) >10)
- consommation d'alcool ou de drogue
- traitement pouvant influencer les fonctions cognitives (antiépileptiques, antipsychotiques...)

Les patients ont tous signé un consentement éclairé et l'étude a été approuvée par le comité d'éthique et de recherche local.

Méthodes :

- Les antécédents médicaux, les traitements chroniques, les données socio-démographiques ainsi que les conditions et le mode de vie ont été recueillis avec l'aide de questionnaires spécifiques.
- La pression artérielle a été mesurée après 10 minutes de repos, avec un appareillage validé (DINAMAP 400 pro®) ; la mesure de la pression artérielle ambulatoire sur 24 heures (SpaceLabs®) a également été réalisée.
- Le bilan biologique standard a été complété par les dosages d'HbA1C, du fibrinogène et de la microalbuminurie, ainsi que par la mesure de l'activité du facteur Von Willebrand.

- La mesure de la VOP a été faite en utilisant l'appareil Complior® (Colson, Paris, France), et celle de l'index d'augmentation (AIx) avec un appareil Sphygmocor® (Medical PTY Ltd., Ermington, Australie).
- L'imagerie cérébrale par IRM a étudié les hypersignaux de la substance blanche (HSB), qui ont été classés selon l'Echelle de Fazekas en 6 grades ⁸⁴.
- De plus, les paramètres artériels suivants ont été étudiés à l'aide d'un échographe en mode B à haute résolution (ATL Apogee 800) :
 - a. la mesure de l'épaisseur intima-média (EIM) et le nombre de plaques d'athérome au niveau carotidien,
 - b. l'estimation de la fonction endothéliale flux dépendante au niveau de l'avant-bras.
- L'état cognitif a été évalué par :
 - a. des tests vérifiant les critères d'inclusion : échelle de Mac Nair (questionnaire de plainte mnésique : échelle de Mac Nair et Khan ⁸³), échelle de dépression de GDS ⁸⁵ et MMSE ⁷³.
 - b. des tests d'évaluation des fonctions cognitives réalisés par une psychologue entraînée : test Grober et Buschke ⁸⁶ (mémoire immédiate et différée), tests visuo-spatiaux et de perception de Benton ⁸⁷, échelle des praxies ⁸⁸ et test de fluence verbale ⁸⁹ (fonctions exécutives et mémoire verbale à long terme).

Echelle de Mac Nair (Annexe II) : Il s'agit d'un autoquestionnaire de plainte mnésique. Cette échelle est le reflet du « ressenti » par le patient de ses propres troubles de la mémoire. Dans notre étude, elle permet de s'assurer de la présence d'un trouble cognitif débutant qui est considéré comme présent si le score est supérieur à 15.

Echelle de dépression GDS (Annexe III) : C'est un questionnaire qui se rapporte à la symptomatologie dépressive chez les personnes âgées. Il permet de vérifier que le patient ne présente pas de symptômes de dépression qui pourrait influencer l'état cognitif. Si le score est supérieur à 10, on suspecte une dépression et le patient n'est pas inclus.

MMSE de Folstein (Annexe IV) : Une version française consensuelle a été réalisée par le GRECO (Groupe de Recherche et d'Evaluations Cognitives) ⁷⁴. Il s'agit d'un test général d'évaluation des fonctions cognitives. Dans cette étude il nous permet de détecter les démences, stade plus avancé de réduction des capacités cognitives. Les sujets ayant un score

inférieur à 26 ne sont pas inclus (ou $< 24/30$ pour ceux qui n'ont pas fait d'études supérieures).

Ces deux derniers tests sont réalisés dans tous les cas par une psychologue qualifiée et le cas échéant par le médecin traitant ayant sélectionné le patient.

Test de rétention visuelle de Benton (Annexe V) : Il explore plus spécifiquement la mémoire visuelle à court terme. Le test est composé de dix planches avec trois formes parallèles chacune, dites formes "avec dessin". On demande au sujet, après lui avoir présenté chaque planche pendant 10 secondes, puis l'avoir retirée de sa vue, de dessiner de mémoire la figure géométrique représentée sur la planche. On reporte le score brut et le nombre d'erreurs.

Test de fluence verbale (Annexe VI) : On demande au patient de dire tous les mots communs débutants par une lettre donnée. Le nombre de mots trouvés en une minute est comptabilisé. Une fluence verbale inférieure à 10 est suspecte. Une diminution de la fluence verbale témoigne d'un manque de mots, correspondant à des troubles pouvant s'intégrer dans le cadre d'une démence type Alzheimer. Ce test permet de décrire la fluidité lexicale du langage.

Test de Grober et Buschke ou Rappel Libre/Rappel indicé à 16 items (RL/RI16) (Annexe VII) : c'est une épreuve mnésique permettant d'évaluer la mémoire épisodique antérograde. Elle consiste en l'apprentissage d'une liste de 16 mots, dont l'encodage est contrôlé et favorisé par un indiciage sémantique. Ainsi, au début du test, la psychologue demande au sujet de mémoriser 16 items (hareng, gilet, ...) appartenant à 16 catégories différentes (poisson, vêtement, ...). Puis, à intervalles fixés, le sujet doit citer les items dont il se souvient (rappel libre). La psychologue aide alors le sujet à retrouver les items omis en lui précisant la catégorie : par exemple, si le mot "hareng" est oublié, elle lui demande quel était l'item associé à la catégorie "poisson" (rappel indicé). A chaque rappel (4 au total), le pourcentage de mots cités en rappel libre est donc calculé sur 16 items, et celui du rappel indicé sur le nombre de mots non cités spontanément. Chez le sujet "normal", les scores de rappel libre et indicé s'améliorent au fil des rappels par renforcement de l'apprentissage. Pour chaque type de rappel, les 4 scores sont ensuite combinés pour produire un score final.

Echelle d'évaluation des praxies (Annexe VIII) : On demande au patient d'effectuer différents gestes afin d'évaluer les praxies mélokinétique, réflexive, idéatoire, idéomotrice et

bucco-faciale. Ceci permet de dépister des troubles légers de la coordination et de l'adaptation des mouvements à une fonction. Les troubles praxiques se retrouvent par exemple dans la maladie d'Alzheimer.

Ces quatre tests sont tous réalisés par la même psychologue lors de la consultation d'inclusion dans l'étude.

Le recours à ce nombre d'épreuves est justifié par leur complémentarité dans l'exploration des troubles cognitifs. Par exemple, la mémoire épisodique serait plus touchée dans la maladie d'Alzheimer que dans la démence vasculaire, alors qu'à l'inverse la démence vasculaire affecte plus la mémoire sémantique, l'exécution et les perceptions visuelles⁹⁰. Ces tests ont été largement utilisés dans d'autres études longitudinales portant sur une thématique proche de la nôtre^{23, 25, 91, 92}.

- Analyse statistique : les variables continues ont été comparées en utilisant le test de Mann et Whitney et les variables catégorielles à l'aide du test du Chi deux ou du test de Fisher. Toutes les analyses ont été réalisées à l'aide du logiciel SAS R8.2 (SAS Institute, Cary, NC, USA). Le seuil de signification bilatéral a été fixé à $p < 0,05$.

Les variables ont été décrites comme suit :

- Variables continues : moyenne, déviation standard (DS).
- Moyennes ajustées (ANalysis Of VAriance(ANOVA)) : moyenne, erreur standard à la moyenne (ESM).
- Variables discrètes : effectif et pourcentage. Les pourcentages ont été calculés sur le nombre de patients concernés par l'item.
- Variables génétiques : 50 polymorphismes génotypés :
 - test de Hardy-Weinberg
 - effectif par allèle
 - effectif par génotype

Pour réduire le nombre de paramètres du bilan cognitif à étudier, une analyse en composantes principales (ACP) a été effectuée sur les huit sous-scores des tests de fluence verbale, de rétention visuelle et de Grober et Buschke. L'ACP permet d'estimer des résumés linéaires (ou scores composites) des caractéristiques analysées. Ces scores sont standardisés (moyenne =0)

et exprimés en déviation standard (écart type =1). L'ACP regroupe ainsi les caractéristiques psychométriques en trois dimensions principales qui expliquent 83% de la variance totale :

- Score composite 1 : score de fluence verbale essentiellement déterminé par les quatre sous-scores du test de fluence verbale, qui mesure la fluidité lexicale de langage.
- Score composite 2 : score de mémoire visuelle défini principalement par les deux sous-scores du test de rétention visuelle de Benton, qui évalue la mémoire visuelle à court terme.
- Score composite 3 : score de mémoire globale déterminé essentiellement par les deux composantes du test de Grober et Buschke, qui décrit les aptitudes mnésiques par ces deux indices : rappel immédiat ou libre qui estime la mémoire épisodique et rappel indicé qui apprécie la mémoire sémantique.

Tableau 2 : Corrélations entre tests cognitifs et scores composites issus de l'analyse en composantes principales.

Tests cognitifs	Scores composites		
	Fluence verbale	Mémoire visuelle	Mémoire globale
Test de fluence verbale			
Epreuve 1, lettre P	0,92	0,12	0,14
Epreuve 1, score en 1 mn	0,90	0,12	0,07
Epreuve 2, lettre R	0,88	0,07	0,17
Epreuve 2, score 1 mn	0,91	0,13	0,07
Test de rétention visuelle de Benton			
Score brut	0,12	0,96	0,07
Nombre d'erreurs	-0,16	-0,95	-0,06
Test de Grober et Buschke			
Rappel libre (%)	0,17	0,09	0,80
Rappel indicé (%)	0,07	0,02	0,85

Les analyses statistiques ont consisté en :

- une analyse descriptive de l'échantillon avec les caractéristiques cliniques, artérielles et les principaux traitements,

- une étude de l'association entre scores composites cognitifs et traitements anti-hypertenseurs par ANOVA, ajustée à l'âge, au sexe et à la PA.
- Une analyse des facteurs associés au score de mémoire globale (*RL/RII6*) a été réalisée par régression logistique multiple avec une procédure interactive de sélection des variables pas à pas descendante, alors que les analyses des facteurs associés aux phénotypes vasculaires ont été réalisées par régression linéaire multiple.
- Recherche des variables génétiques associées aux 3 scores composites et au score Fazekas :
 - Comparaison des 3 types de génotypes. Dans le cas où les homozygotes mutés étaient < 10%, comparaison homozygotes pour l'allèle sauvage versus au moins un allèle muté.
 - Tests alléliques univariés
 - Régressions multiples en incluant tous les polymorphismes
 - Régressions multiples en incluant tous les polymorphismes et en forçant sur les variables phénotypiques associés aux scores.

II.2.2. Etude PARTAGE :

Patients :

PARTAGE (Pression ARTérielle des personnes AGEes vivant en EHPAD) est une étude longitudinale multicentrique qui examine le rôle de la rigidité artérielle sur la morbi-mortalité mais aussi le déclin cognitif de sujets de plus 80 ans résidant dans des Etablissements d'Hébergement pour Personnes Agées Dépendantes (EHPAD)^{93, 94}.

Cette étude concerne 1130 personnes de plus 80 ans ayant été recrutées dans 73 EHPAD différents ; quatre centres hospitalo-universitaires français (Nancy, Dijon, Paris, Toulouse) et deux centres italiens (Cesena, Vérone).

Critères de non-inclusion :

- espérance de vie très réduite (estimée à <3 mois)

- importante perte d'autonomie évaluée par l'échelle des Activities of Daily Living⁹⁵ (ADL) ≤ 2
- démence sévère évaluée par le Mini-Mental-Status-Examination (MMSE⁷³) $< 12/30$
- patient chez qui la pression n'est jamais prise pour des raisons diverses
- personne faisant l'objet d'une mesure de protection légale.

La population étudiée dans le cadre de ce protocole est représentative de personnes très âgées, fragiles, polymédicalisées mais préservant une partie de leur autonomie, c'est-à-dire la majorité des personnes vivant dans des établissements d'hébergement non hospitaliers.

Les patients ont tous signé un consentement éclairé et l'étude a été approuvée par le comité d'éthique et de recherche local.

Méthodes :

Toutes les mesures artérielles, les tests cognitifs et l'ensemble des examens réalisés dans le cadre de cette étude ont été réalisés dans les EHPAD par les équipes de recherche participant à ce projet.

- Mesure de la pression artérielle :
 - a. Mesure « standard » à l'aide d'un sphygmomanomètre en respectant les recommandations de la Haute Autorité de Santé (HAS)⁹⁶.
 - b. Automesure de la PA. Selon les dernières recommandations de la HAS la « règle de trois » a été utilisée : trois mesures matin et soir pendant trois jours consécutifs en utilisant un appareil homologué.
- Mesure de la rigidité des gros troncs artériels :

Vélocité de l'onde du pouls (VOP) carotido-fémorale. Ce paramètre est inversement proportionnel à la racine carrée de la distensibilité artérielle entre l'artère carotide primitive et l'artère fémorale commune, ce qui correspond essentiellement à la distensibilité aortique⁶¹. La VOP est mesurée à l'aide de deux capteurs mécaniques placés aux deux extrémités des territoires à étudier. Les deux ondes de pression sont ainsi enregistrées simultanément

par voie transcutanée et analysées par un logiciel informatique (système Pulsepen®) ⁶². La fiabilité, la rapidité (moins de 15 minutes), la relative facilité et le faible coût de cette méthode en font un examen particulièrement adapté aux études épidémiologiques de la rigidité artérielle, notamment chez le sujet âgé.

- L'état cognitif a été évalué par le MMSE à l'état de base, puis à 12 mois de suivi.
- L'autonomie des patients a été estimée à l'aide de l'échelle d'ADL (Annexe IX).

L'analyse statistique a été effectuée à l'aide du logiciel NCSS 2000 (Kaysville, Utah, USA). L'influence de la PA et de la VOP initiales sur les changements du score de MMSE a été évaluée en divisant la population en tertiles de PA ou de VOP. Les comparaisons entre les tertiles ont été réalisées en utilisant une analyse des variances ANOVA. Le seuil de signification bilatéral a été fixé à $p < 0,05$.

II.2.3. Bilan Senior

Patients :

Dans le cadre de notre collaboration avec le Centre de Médecine Préventive (CMP) de Vandoeuvre-lès-Nancy, le Centre d'Etudes et de Formation sur le Vieillissement (EFORVIE) coordonne une étude dans une cohorte de 2800 personnes âgées de plus de 60 ans ayant bénéficié du bilan senior au CMP. Le Bilan Senior, créé au CMP en avril 2003 grâce à la collaboration du CHU, en particulier celle du Pr. Athanase Bénétos, et à l'appui de la Direction du CMP, a pour objectif de dépister les signes de fragilité physique, mentale et psychique des consultants à partir de 60 ans.

Nous avons proposé au CMP de réaliser une étude dont l'objectif général est de déterminer la valeur prédictive d'un certain nombre de tests et d'exams cliniques réalisés lors du 1er bilan sur l'évolution de l'état de santé et la survenue et/ou l'aggravation de troubles liés au vieillissement. De façon plus spécifique, cette étude évalue l'état de santé au niveau de quatre fonctions ayant un intérêt majeur dans cette tranche d'âge : les fonctions cognitives, l'équilibre et les capacités musculaires, le risque cardio-vasculaire et le risque d'ostéoporose. Cette étude a déjà abouti à des publications scientifiques internationales ^{97, 98}.

Ce travail de thèse porte sur un échantillon de 687 personnes âgées de plus de 60 ans ayant réalisé deux Bilan Senior espacés de 1 à 4 ans et ayant bénéficié de la mesure du MMSE au cours de ces deux examens de santé.

Méthodes :

- Données sociodémographiques et de santé : Elles ont été recueillies par interrogatoire direct des patients durant la consultation de l'étude. Ainsi, ont été notamment recueillies les données suivantes : l'âge, le sexe, le niveau d'études, l'exercice d'une activité physique régulière, le poids, la taille et la consommation du tabac et de l'alcool.
- Mesures de pression artérielle : La pression artérielle est enregistrée au brassard à l'aide d'un appareil automatique. Pour chaque patient, trois mesures consécutives sont effectuées après 10 minutes de repos en décubitus dorsal. La moyenne des trois permet d'obtenir les valeurs de PAD, PAS et PAM.
- Analyses biologiques « standard » : Comprenant les mesures suivantes : glycémie, cholestérol total, triglycérides, LDL cholestérol et HDL cholestérol.
- Le MMSE
- Evaluations psychologiques et émotionnelles : Les évaluations ont été effectuées grâce aux informations recueillies dans un auto-questionnaire traitant des problèmes liés aux plus de 60 ans : cette évaluation permet de dépister des troubles psychologiques : stress, anxiété, directement ou indirectement liés au vieillissement et à sa perception par l'individu.

Analyses statistiques

La partie statistique de cette étude a été réalisée avec le logiciel NCSS (version 2000). Les variables ont été décrites comme suit :

- Variables continues : moyenne, déviation standard (DS).
- Moyennes ajustées (ANalysis Of VAriance(ANOVA)) : moyenne, erreur standard à la moyenne (ESM).
- Variables discrètes : effectif et pourcentage. Les pourcentages ont été calculés sur le nombre de patients concernés par l'item.

Le seuil de signification bilatéral a été fixé à $p < 0,05$.

- **1^{er} Bilan Senior** : Nous avons étudié le score du MMSE obtenu par les 687 personnes lors du 1^{er} Bilan Senior et avons comparé les données suivant que leur score était supérieur ou non à 25, un seuil arbitraire comme pathologique ^{99, 100}. Nous avons effectué en premier lieu une description sur l'ensemble des variables considérées avec la réalisation de tests adéquats (analyse de la variance, Chi-2, Student) afin de dépister les variables permettant de mieux comprendre les caractéristiques générales, biologiques et psychologiques agissant sur le MMSE. A l'issue de ces premiers tests, nous avons procédé à une analyse multidimensionnelle avec la réalisation de régressions linéaires multiples dans le but d'établir un modèle pertinent permettant d'expliquer le score du MMSE.

- **Bilan du suivi** : Devant l'hétérogénéité de la période entre les deux bilans (moyenne : 4,1 ans ; 1 - 6,2 ans), nous avons utilisé le changement annuel du MMSE comme caractère principal du jugement pour l'étude du suivi. Nous avons défini le changement annuel du MMSE comme suit : $(\text{score MMSE 2} - \text{score MMSE 1}) \times 12 / \text{délai entre les deux bilans (mois)}$.

II.3. Les publications

II.3.1. Article I. L'utilisation d'antagonistes calciques est associée à des meilleures performances cognitives, chez des sujets âgés hypertendus présentant une plainte mnésique subjective

Watfa G, Rossignol P, Kearney-Schwartz A, Fay R, Bracard S, Felblinger J, Boivin JM, Lacolley P, Zannad F, Benetos A. **Use of calcium channel blockers is associated with better cognitive performance in older hypertensive patients with subjective memory complaints.** *J Hypertens.* 2010;28(12):2485-2493.

RESUME

Introduction : Le rôle de l'hypertension artérielle (HTA) dans le développement du déclin cognitif est une question majeure. Cependant, les essais cliniques ayant étudié la relation entre les différents traitements antihypertenseurs et la prévention du déclin cognitif ont donné des résultats controversés.

Objectif : Etudier la relation entre les différents traitements antihypertenseurs et le déclin cognitif dans une population de sujets âgés hypertendus présentant une plainte mnésique subjective.

Patients et Méthodes : 378 sujets hypertendus âgés de (60 – 85) ans traités et présentant une plainte mnésique subjective ont subi une série d'examens : échographie carotidienne, vasodilatation dépendante du flux sanguin, IRM cérébrale avec semi-quantification des hypersignaux de la substance blanche (leucoaraïose), mesure des différents marqueurs de la fonction endothéliale et Mesure Ambulatoire de la Pression Artérielle (MAPA). La fonction cognitive a été évaluée par des tests neuropsychologiques validés (test de fluence verbale, test de rétention visuelle de Benton et test de Grober et Buschke) à partir desquels trois scores composites ont été établis : fluence verbale, rétention visuelle et mémoire globale.

Résultats : Aucun des trois scores composites n'est corrélé de façon significative à la PA. Après ajustement à l'âge et au sexe, un meilleur score de mémoire (Grober et Buschke) est observé chez les patients sous antagonistes calciques par rapport à ceux non traités par cette classe pharmacologique (score de mémoire : $+0,139 \pm 0,09$ versus $-0,117 \pm 0,06$, $p = 0,016$). Des analyses multivariées ont également confirmé cette association entre antagonistes calciques et score mémoire, indépendamment de l'âge, du sexe masculin et de leucoaraïoses qui sont associés au mauvais score de mémoire.

Conclusion : Chez les personnes âgées hypertendues traitées présentant une plainte mnésique subjective sans démence, l'utilisation d'antagonistes calciques est associée à de meilleures performances cognitives, indépendamment du niveau de la PA et de l'état vasculaire. Ceci suggère un effet protecteur spécifique de cette classe pharmacologique sur le déclin cognitif. D'autres investigations devraient être menées pour confirmer la supériorité d'action de cette classe pharmacologique sur la prévention du déclin cognitif.

Les résultats présentés ci-dessous ne sont pas intégralement publiés dans l'article mais font partie de l'objectif de la présente thèse :

Il s'agit d'étudier la relation entre la leucoaraïose évaluée par le score fazekas chez l'ensemble de la population de l'étude ADELAHYDE avec les troubles mnésiques d'une part et les facteurs vasculaires d'autre part.

Leucoaraïose et altérations de mémoire : L'analyse univariée retrouve une relation négative entre le score mémoire global obtenu par le score Grober et Buschke et le score Fazekas de leucoaraïose (Figure 1). En revanche, le score Fazekas n'est pas corrélé de façon significative au score de la fluence verbale ou de la rétention visuelle de Benton.

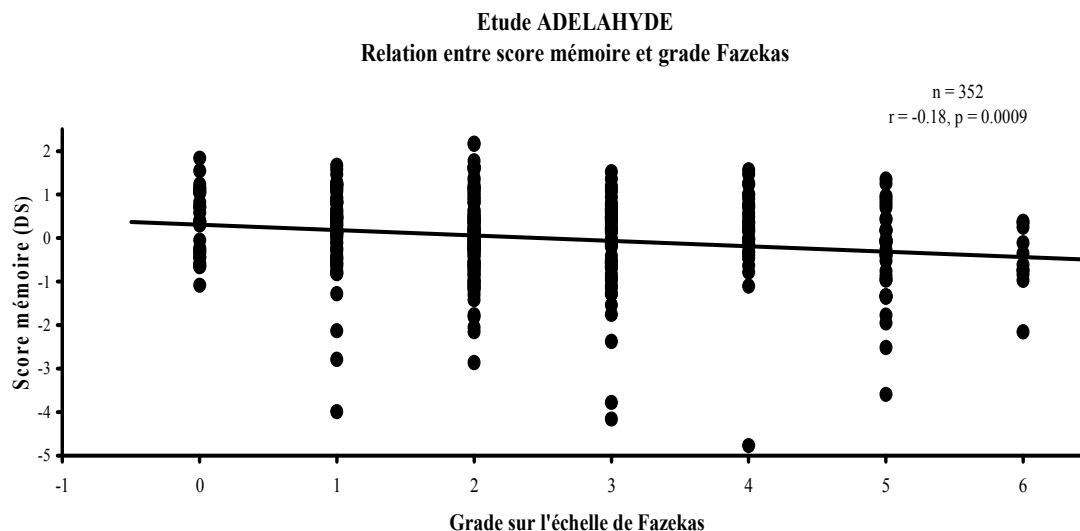


Figure 1 : Relation entre score mémoire (Grober et Buschke) et le score Fazekas de leucoaraïose chez la population de l'étude ADELAHYDE.

Des analyses multivariées (Tableau 3) ont également confirmé cette association entre le score Fazekas de leucoaraïose et le score de mémoire de Grober et Buschke, indépendamment de l'utilisation des antagonistes calciques, du sexe masculin et de l'aire sectionnelle carotidienne qui sont associés au score de mémoire.

Tableau 3 : Résultats de l'analyse linéaire multiple pour le score de mémoire globale (Grober et Buschke).

Source	r	p-value
Sexe (H)	-0,48 ±0,09	<0,0001
Score de Fazekas	-0,11 ±0,03	0,0002
Aire sectionnelle carotidienne (mm ²)	-0,07 ±0,02	0,0005
Antagonistes calciques	0,21 ± 0,09	0,027

Variables artérielles associées au score Fazekas : Les analyses de la relation entre la pression artérielle, la structure et la fonction artérielle avec la sévérité de la leucoaraïose (score Fazekas) sont présentées dans le tableau 4. Les patients présentant une leucoaraïose plus sévère ont également les valeurs les plus élevées de pression artérielle (PAS, PAD et PAM) et les diamètres les plus larges de l'artère brachiale. Ces analyses sont ajustées à l'âge. L'analyse multivariée a mis en évidence une relation significative entre la présence de la leucoaraïose (définie par un score Fazekas > 1), l'âge (par 5 ans : 1,78 [1,36 - 2,32], $p < 0,0001$), les paramètres vasculaires tels que la PAD des 24H MAPA (mmHg) (par 10 mmHg: 2,01 [1,40 - 2,90], $p 0,0002$) et le facteur de Von Willebrand indice de la fonction endothéliale (pour 10% : 1,07 [1,01 - 1,13], $p 0,02$).

Tableau 4 : Analyse ajustée à l'âge, de la relation entre la pression artérielle, la structure et la fonction artérielle avec la sévérité de la leucoaraïose (score Fazekas).

	Fazekas 0-1	Fazekas 2-3	Fazekas 4-5-6	p
Nombre de patients	105	167	81	
Durée de l'hypertension (années)	10,1±0,8	12,0±0,6	11,4±0,9	0,18
PAS des 24H MAPA (mmHg)	125±1	129±1	134±1	0,0001
PAD des 24H MAPA (mmHg)	64±8	68±10	69±10	0,0001
PAM des 24H MAPA (mmHg)	91±1	94±1	98±1	0,0001
FC des 24H MAPA (battement/min)	67±1	70±1	71±1	0,026
Epaisseur intima-média (µm)	664,5±9,0	685,5±6,9	681,0±10,4	0,35
Aire sectionnelle carotidienne (mm²)	8,44±0,24	8,45±0,18	8,64±0,27	0,84
Diamètre de l'artère brachiale (mm)	3,95±0,07	4,04±0,05	4,24±0,09	0,032
Fonction endothéliale flux dépendante (%)	8,5±0,7	8,8±0,5	6,8±0,8	0,091

Données exprimées en : moyenne ± l'écart-type de la moyenne (SEM).

Use of calcium channel blockers is associated with better cognitive performance in older hypertensive patients with subjective memory complaints

Ghassan Watfa^{a,b,c,d}, Patrick Rossignol^{a,b,c}, Anna Kearney-Schwartz^{a,b,d}, Renaud Fay^a, Serge Bracard^{c,e,f}, Jacques Felblinger^{c,f}, Jean M. Boivin^{a,c}, Patrick Lacolley^{b,c}, Faïez Zannad^{a,b,c} and Athanase Benetos^{a,b,c,d}

Background Hypertension is strongly associated with cognitive decline and a promising target for dementia prevention. Our aim was to investigate the association between different antihypertensive treatments and cognitive performance in elderly hypertensive patients presenting with subjective memory complaints.

Patients and methods Three hundred and seventy-eight elderly hypertensive patients more than 60 years (mean age 70.4 ± 6.3 years) treated with at least one antihypertensive agent and presenting with subjective memory complaints but without dementia were prospectively recruited and underwent a combination of neuropsychological tests, brain magnetic resonance imaging with semiquantification of white matter hyperintensities, carotid echotracking, brachial endothelial function, and ambulatory blood pressure assessments.

Results None of the three composite scores (memory score, verbal fluency, and visual memory capacity) was found associated with blood pressure levels. On the other hand, age-adjusted and sex-adjusted analyses showed a significant and positive association between memory score and use of calcium channel blockers (CCBs) (users: $+0.14 \pm 0.09$ versus nonusers: -0.12 ± 0.06 ; $P = 0.016$). Multivariate analyses also revealed that CCB use was significantly associated with a better memory score, independently of age, male sex, white matter hyperintensities, and carotid wall cross-sectional area, all of which were associated with worse memory scores.

Conclusion In elderly hypertensive treated patients with subjective memory complaints, CCB use was associated

with better memory performance independently of blood pressure level and macrovascular and microvascular alterations, suggesting a specific neuroprotective effect of this pharmacological class. Interventional controlled trials are required to confirm the specific protective effect of CCBs on cognitive decline. *J Hypertens* 28:2485–2493 © 2010 Wolters Kluwer Health | Lippincott Williams & Wilkins.

Journal of Hypertension 2010, 28:2485–2493

Keywords: calcium channel blockers, cognitive impairment, elderly, hypertension, white matter hyperintensities

Abbreviations: ABPM, Ambulatory Blood Pressure Measurement; ACEIs, Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitors; ARBs, Angiotensin Receptor Blockers; CCBs, Calcium Channel Blockers; CIC, Clinical Investigation Center; DWMCs, Deep White Matter Corps; eGFR, Estimated Glomerular Renal Filtration Rate; FMD, Flow-Mediated Dilatation; GDS, Geriatric Depression Scale; HDL, High-Density Lipoprotein; HTN, Hypertension; IMT, Intima-Media Thickness; LDL, High-density lipoprotein; MMSE, Mini-Mental State Examination; PVCs, Periventricular Corps; SMC, Subjective Memory Complaints; vWF, von Willebrand Factor; WCSA, Wall Cross-Sectional Area; WMHs, White Matter Hyperintensities; WMLs, White Matter Lesions

^aNancy University Hospital & Inserm Clinical Investigation Centre, ^bInserm U961, Faculty of Medicine, ^cNancy University, ^dDepartment of Geriatrics and the Memory Clinic (CMRR), University Hospital of Nancy, ^eNeuroradiology Service, Central Hospital and ^fInserm U947, Adaptive, Diagnostic and Interventional Imagery, and CIC-Innovative Technologies, Hospital Brabois, Nancy, France

Correspondence to Athanase Benetos, Head of Department of Geriatrics, University Hospital of Nancy, 54500 Vandœuvre Lès Nancy, France
Tel: +33 383 15 33 22; fax: +33 383 15 76 68;
e-mail: a.benetos@chu-nancy.fr

Received 2 February 2010 Revised 13 July 2010
Accepted 14 July 2010

Introduction

Prevention of cognitive decline is a major public health challenge in view of increased longevity of the population. Alzheimer's disease is responsible for 50–60% of dementia cases, whereas 30% of patients have vascular dementia (VaD), and 10–20% present a mixed form of dementia [1]. It has indeed been postulated that cerebrovascular disease is a very common associated feature in patients with dementias, including Alzheimer's disease and VaD [1,2]. Hypertension is one of the main risk factors for cerebrovascular diseases. Many studies have shown that elevated blood pressure (BP) levels are

strongly associated with the long-term risks of cognitive decline and dementia [3–5]. Hypertension is also consistently identified as a risk factor for white matter lesions (WMLs) [6], which were found to be associated with impaired cognitive function such as decline in basic attention in middle-aged hypertensive patients [7] and diminished cognitive function in middle-aged and young-elderly individuals [8].

However, clinical trials addressing the issue of the relationship between hypertension treatment and cognitive decline prevention have yielded controversial

results. Some studies have shown that active antihypertensive treatment in elderly people was associated with a lower incidence of dementia [9–11]. In contrast, the preventive effectiveness of antihypertensive therapy in the development of cognitive impairment was not found in several studies such as the Systolic Hypertension in the Elderly Program (SHEP) study [12] and the Study on Cognition and Prognosis in the Elderly (SCOPE) [13]. In the recently published Hypertension in the Very Elderly Trial (HYVET), antihypertensive treatment in elderly patients did not significantly reduce the incidence of dementia. Nevertheless, a meta-analysis (including the HYVET findings) supported the conclusion that antihypertensive treatment may potentially reduce the incidence of dementia [14]. Some clinical trials have suggested possible class differences among antihypertensive drugs in terms of dementia prevention, such as calcium channel blockers (CCBs) in the Systolic Hypertension in Europe (Syst-Eur) study [9,11] and angiotensin-converting enzyme inhibitors (ACEIs) in the Perindopril Protection Against Recurrent Stroke Study (PROGRESS) [10].

The aim of the present study was to assess the association between antihypertensive treatments and cognitive performance using an integrative approach with comprehensive and concomitant assessments of arterial structure and function in elderly hypertensive patients presenting with subjective memory complaints (SMCs) without dementia, that is, in a selected population at high risk of vascular remodeling and/or dementia.

Materials and methods

Participants

This monocentric, cross-sectional study included prospectively 378 treated hypertensive men and women 60–85 years of age and presenting SMC. SMC was defined as a McNair scale score greater than 15 (revised validated French version of 26 items) [15]. The protocol, described elsewhere [16], was approved by the local research ethics committee and all patients signed an informed consent form.

Patients with suspicion of dementia [Mini-Mental State Examination (MMSE) [17] score of 24 or less for lower education level and 26 or less for high education level], or suspicion of depression [Geriatric Depression Scale (GDS) scale >10] [18], history of alcohol or drug abuse, and treatments influencing cognitive efficiency evaluation (narcoleptics, antiepileptic, or psychotic drugs) were not included in this study (see details [16]).

Procedures

Clinical evaluation included history recording as well as a general and a neurological examination. Education level was classified into three categories: low (i.e., elementary school education), medium (i.e., lower-level general education, intermediate-level general education), and high

(i.e., higher-level general education and University). Supine systolic BP (SBP) and diastolic BP (DBP) were measured after at least 10 min of rest, on the left arm, using a validated electronic device (DINAMAP400Pro). BP was measured three times and the average of these three measurements was used (see exclusion criteria). Ambulatory blood pressure measurements (ABPMs)/24 h (SpaceLabs Inc., Richmond, Washington, USA) were also recorded [1].

Information on the nature of any current drugs was provided by patients and/or their general practitioner. Antihypertensive treatments were identified by their pharmacological class [ACEIs, angiotensin receptor blockers (ARBs), β -blockers, CCBs, diuretics, and so on] and their date of initiation was recorded.

Cognitive status was established by a set of psychometric tests. First, the Cognitive Difficulties Scale of McNair [15] was performed by self-evaluation (inclusion criteria), after which the GDS, a self-report scale, was completed [18]. Global cognitive assessment was based on the MMSE [17]. A validated and comprehensive battery of neuropsychological tests were also performed by trained psychologists, including immediate and delayed memory and language (free and cued recall) assessed by the Grober–Buschke test, also called Free and Cued Selective Reminding [19], which is a memory test that assesses attention and cognitive processing to maximize learning; visuo-perceptual and visuo-spatial capacities by the Benton Visual Retention test [20], which assesses the perception of spatial relations and memory for newly learned material; Praxies by the Praxies Scale [21], which allows detection of mild disturbances of coordination and adaptation of movements to a function; and executive function and long-term verbal memory by the Verbal Fluency test [22], which evaluates semantic memory, influenced by language and memory function.

In order to reduce the number of parameters of cognitive assessment, composite scores were calculated for memory function (memory score), including two components from the Grober–Buschke test: consistency of free recall and total recall (percentage of number of words recalled consistently from the first to the third trial on free recall and on free or cued recall, respectively); verbal fluency (which describes language lexical fluidity and includes four tests); and visual memory capacity (visual memory score, defining raw visual memory and errors with two tests).

Methods

MRI

Brain MRI at 1.5 T (Signal General Electric, GEMS) was performed in the axial and sagittal planes with a slice thickness of 5 mm [23]. White matter hyperintensity (WMH) grading was performed using T2-weighted axial images. Each MRI was screened initially by a neuro-radiologist to rule out stroke or the presence of three or

more lacunar infarcts (exclusion criteria [24]) and other possible causes of gait imbalance. The grading was performed by a single experienced neuroradiologist, blinded to the patients' clinical data, using the Fazekas and Schmidt Scale. This score represents the sum of deep white matter corps (DWMCs) and periventricular corps (PVCs), divided into three groups of increasing severity (i.e., 0–1; 2–3; and 4–6) [25].

Blood and urine sampling

Total serum cholesterol, high-density lipoprotein (HDL), low-density lipoprotein (LDL), triglycerides, fasting blood glucose, fibrinogen, homocysteine, folates, von Willebrand factor (vWF), and serum creatinine [with a glomerular filtration rate estimation (eGFR) with the Modification of Diet in Renal Disease (MDRD) formula [26]] were measured, after an overnight fast, using a standardized venous blood sampling technique. A 24-h urine collection was performed to measure microalbuminuria.

Subclinical cardiovascular disease

Carotid intima-media thickness (IMT) and measurements of flow-mediated dilatation (FMD) and endothelium-independent vasodilatation (nitroglycerin-mediated dilatation, NMD) were assessed as we previously described [16]. Plasma (citrate) vWF antigen concentrations were measured by immunoturbidimetry (STA-Liatest-vwF 00518; STAGO, Asnières, France).

Left ventricular hypertrophy (LVH) was defined by the presence of Sokolow-Lyon (> 38 mm) and/or Cornell product (> 2.440 mm $\times$ ms) indices on the electrocardiogram, as described [16].

Statistical analysis

We calculated that a sample size of 400 patients was required to investigate the primary objective of this study, which was based on a hypothesis of genetic associations with mild cognitive impairment (MCI). The results of the genetic study will be reported elsewhere.

Three hundred and seventy-eight participants enrolled in the study allowed us to detect with 80% power and 5% error rate a difference between CCB groups of at least 0.3 SD and a squared multiple correlation of at least 0.03 ($r \geq 0.18$).

All analyses were carried out using SAS 9.1.3 software (SAS Institute, Cary, North Carolina, USA). The two-tailed significance level was set to a P value equal to 0.05. Continuous variables were compared using the Mann-Whitney test and categorical variables using the χ^2 test. Standardized composite scores (overall mean = 0 and SD = 1) were computed using the scoring coefficients derived from a principal components analysis on the eight subtests of the three memory tests. Three factors accounted for 83% of the total variance, being very highly correlated with verbal fluency ($r > 0.90$,

$P < 0.0001$), visual retention ($r > 0.95$, $P < 0.0001$), and memory score ($r > 0.80$, $P < 0.0001$), respectively. Owing to their construction, these scores are expressed in SD.

Analysis of factors associated with memory score as a continuous covariable was performed using multiple regression analysis with an interactive backward selection method. Validity of the model assumptions was verified using analysis of the model residuals and testing for heteroscedasticity. Collinearity issues were ruled out by examining the correlation matrix of estimators. The highest correlation was 0.23, which was considered to be negligible. All pairwise interactions were tested in final models and none was found significant.

The distribution of ages was left-truncated owing to the inclusion criterion: more than 65 years. Age was, thus, dichotomized as at least 70 versus less than 70 years ($\sim$ median value).

Candidate factors for multivariate regression analyses of memory score as the dependent variable were first selected on a pathophysiological basis using a limited number of pathophysiological hypotheses; the models tested the influence of age, sex, diabetes, past or current smoking, BMI, total cholesterol, LDL cholesterol, triglycerides, fasting glucose, Fazekas grade, and 18 parameters pertaining to six vascular phenotypes: 24-h SBP, DBP and mean BP (MBP) or optimum BP control (i.e., 24-h SBP < 130 and DBP < 80 mmHg), hypertension duration (BP), brachial artery diameter, carotid artery external and internal diameters, carotid artery wall cross-sectional area (WCSA), IMT and blood folate levels (arterial structure), plaque presence (atherosclerosis), FMD and vWF (endothelial function), eGFR (MDRD formula) [26], microalbuminuria (< 30 versus ≥ 30 mg/day), LVH, Sokolow-Lyon voltage and product (other target organ damage).

Further selection was performed on a statistical basis, the less significant factors being eliminated interactively and progressively until a final model could be reached. This procedure allowed us to lose the minimum number of observations due to missing data.

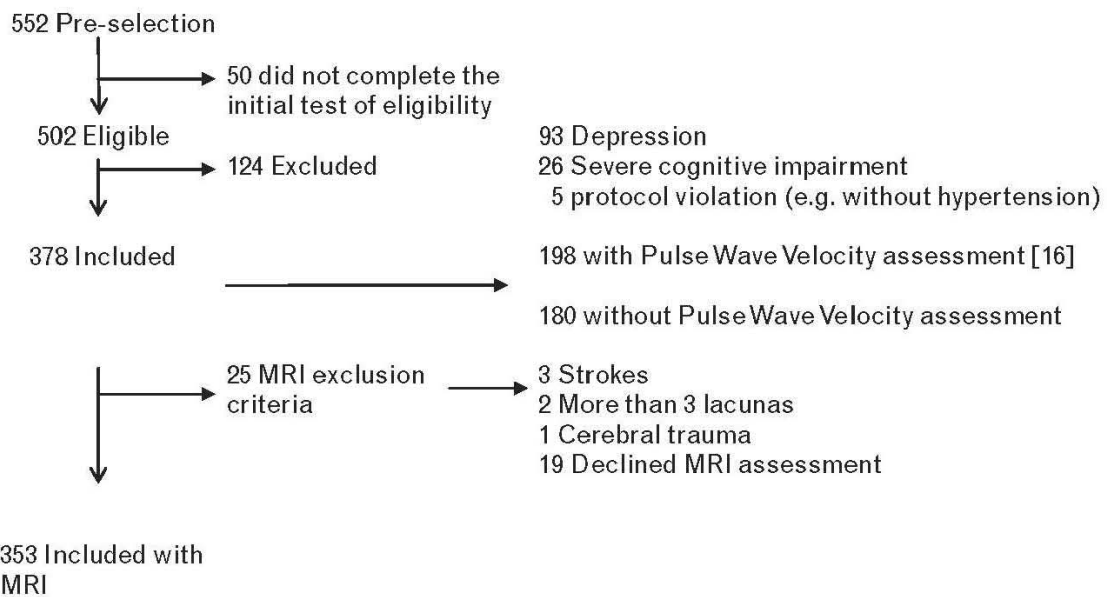
In order to rule out a potential recruitment bias, an additional sensitivity analysis was conducted on a subsample of propensity score-matched patients [27] taking or not taking CCBs. The covariates used for matching were sex, diabetes, past or current smoking, BMI, total cholesterol, blood glucose, optimal 24-h BP ($< 130/80$ mmHg), external and internal carotid diameters, ARB, diuretics, other antihypertensive agents, anticoagulant intake, and WMH.

Results

Study population characteristics

Among 552 preselected patients, 378 were finally included in the study (a detailed flowchart of the selection procedure is shown in Fig. 1). The clinical and

Fig. 1



Selection procedure of included patients.

biological characteristics of the included patients are reported in Table 1, as well as their structural and functional arterial properties. As predefined, all of our patients received at least one antihypertensive drug: diuretics (48%), CCBs (34%), β -blockers (33%), ACEI (27%) or ARB (39%), or other agents (10%). The median duration of antihypertensive therapy was 10 (5–17) years. Antihypertensive treatment included a single drug in 39%, two drugs in 38%, and more than two in 23% of patients. Results of the subtests used in the construction of the cognitive scores are shown in Table 2. The average results for the group with respect to the other cognitive tests were MMSE, 28.1 ± 1.8 and depression scale, 6.2 ± 3.1 .

Cognitive performance, blood pressure, and antihypertensive therapy

After adjustment for age and sex, a significant (positive) association (Fig. 2) was observed between memory score and CCB intake (users: $+0.139 \pm 0.09$ versus nonusers: -0.117 ± 0.06 , $P=0.016$). In contrast, no association was found between CCB intake and visual capacity or verbal fluency scores, or between any other antihypertensive class and any of the three composite scores. Moreover, composite cognitive scores were neither found associated with the duration of antihypertensive treatment nor the number of antihypertensive drugs. Age-adjusted and sex-adjusted analyses did not show any association between the three psychometric composite scores and BP.

Association between calcium channel blockers and cognitive performance

The clinical and biological characteristics of the study population according to CCB intake are summarized in Table 1. The two subgroups did not differ significantly in terms of age or MRI WMH and/or Fazekas score severity, whereas patients treated with CCBs were more frequently men, smokers and displayed higher SBP, a poorer BP control rate, higher hypertension duration, and higher BMI, but lower LDL cholesterol. These patients were also less frequently treated with diuretics or ARBs and more frequently treated with anticoagulants. In terms of vascular phenotype, they had higher carotid artery external and internal diameters.

In order to further investigate our primary finding that memory score was better in patients on CCBs, additional multiple regression analyses were performed, adjusting for several other potential confounders beyond age and sex. As the Fazekas score caused age-significance to disappear when entered as a covariable, two models were tested (Table 3): the first with and the second without the Fazekas score (included as a continuous variable). The relationship between CCB intake and memory score remained significant in both models, without ($P=0.043$) and with WMH ($P=0.027$). The first and second models accounted, respectively, for 13.3 and 16.5% of the total variance in memory function. In contrast, CCBs were not found associated with either

Table 1 Clinical and biological characteristics of the population

Parameter	All participants	CCB users		<i>P</i> *
		No (<i>n</i> = 251)	Yes (<i>n</i> = 127)	
Age (years)	70.4 ± 6.3	70.4 ± 6.4	70.4 ± 6.2	0.89
Male sex	46%	40%	57%	0.001
Diabetes	12%	10%	17%	0.065
Past or present smoker	39%	34%	47%	0.014
BMI (kg/m ²)	28.0 ± 4.3	27.7 ± 4.3	28.6 ± 4.4	0.043
Total cholesterol (g/l)	2.18 ± 0.34	2.22 ± 0.34	2.09 ± 0.34	0.0007
LDL cholesterol (g/l)	1.30 ± 0.32	1.34 ± 0.31	1.24 ± 0.32	0.008
Triglycerides (g/l)	1.23 ± 0.64	1.24 ± 0.65	1.21 ± 0.63	0.75
Fasting glucose (g/l)	1.03 ± 0.26	1.01 ± 0.26	1.05 ± 0.27	0.051
24-h SBP, mmHg	128.8 ± 12.3	128.0 ± 12.0	130.3 ± 12.8	0.045
24-h DBP, mmHg	74.4 ± 8.2	74.0 ± 8.1	75.1 ± 8.4	0.35
24-h MBP, mmHg	94.1 ± 8.9	93.6 ± 8.9	95.0 ± 9.0	0.10
Optimum BP control, that is, 24-h SBP <130 and DBP <80 mmHg, (%)	52%	56%	44%	0.024
Hypertension duration (years)	11 (5–18)	10 (5–15)	16 (10–21)	<0.0001
Brachial artery diameter	0.41 ± 0.07	0.40 ± 0.07	0.41 ± 0.07	0.24
Carotid artery external diameter (mm)	8.22 ± 0.90	8.12 ± 0.91	8.42 ± 0.84	0.003
Carotid artery internal diameter (mm)	6.78 ± 0.84	6.68 ± 0.84	7.00 ± 0.81	0.0002
Carotid artery cross-sectional area (mm ²)	16.03 ± 3.24	15.87 ± 3.41	16.34 ± 2.86	0.17
Intima-media thickness (μm)	679.5 ± 89.6	681.9 ± 94.4	674.6 ± 79.2	0.63
Folates (nmol/l)	14.5 ± 7.7	14.3 ± 7.7	14.9 ± 7.8	0.38
Presence of carotid plaque(s)	23%	21%	28%	0.12
Flow-mediated dilatation (%)	8.5 ± 6.5	8.7 ± 6.5	7.9 ± 6.3	0.14
von Willebrand factor (%)	152.9 ± 56.5	153.5 ± 59.5	151.6 ± 50.3	0.92
eGFR (MDRD formula, ml/min/1.73 m ²)	63.5 ± 12.3	63.6 ± 12.6	63.1 ± 11.7	0.90
Microalbuminuria (> 300 mg/24 h)	11%	9%	15%	0.10
Left ventricular hypertrophy	18%	17%	19%	0.62
Cornell index (mm)	19.2 ± 6.8	19.2 ± 6.3	19.3 ± 7.6	0.97
Cornell product (mm s)	1.87 ± 0.88	1.84 ± 0.77	1.92 ± 1.07	0.94
Sokolow-Lyon index (mm)	18.9 ± 6.2	18.5 ± 5.9	19.7 ± 6.7	0.20
Number of antihypertensive drugs	1.9 ± 0.9	1.7 ± 0.8	2.3 ± 1.0	<0.0001
Medications				
ACEI	27%	28%	25%	0.52
ARB	39%	44%	28%	0.004
Diuretics	48%	52%	40%	0.027
CCBs	34%	0%	100%	–
β-Blockers	33%	33%	32%	0.94
Other antihypertensive drugs	10%	12%	6%	0.084
Anticoagulants	28%	25%	35%	0.029
Lipid-lowering medications	48%	45%	52%	0.23
Fazekas score	2.4 ± 1.5	2.3 ± 1.5	2.6 ± 1.6	0.16
WMH (Fazekas score >1)	70%	67%	77%	0.073

Data are expressed as mean ± SD and number (*n*)/Percentage (%). ACEIs, angiotensin-converting enzyme inhibitors; ARB, angiotensin II receptor blockers; CCBs, calcium channel blockers; eGFR, estimated glomerular renal filtration rate; WMHs, white matter hyperintensities. *Probability of the Mann-Whitney (continuous variables) or χ^2 tests (categorical variables).

Fazekas score (continuous), carotid WCSA or vWF (data not shown).

Among the 127 participants on CCBs, 93 were on dihydropyridines, 33 on diltiazem or verapamil, and one on

both. No difference was found between these two therapeutic subclasses of CCBs with regard to memory score.

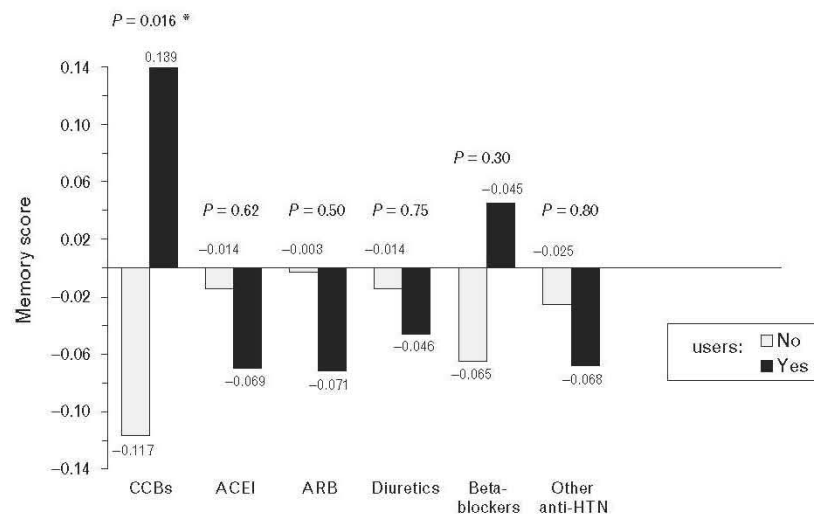
Finally, taking into account the significant differences listed in Table 1 between CCB users and nonusers,

Table 2 Results of subtests used in the construction of the memory composite scores

Composite score and neuropsychological tests	CCB users		<i>P</i>
	No (<i>n</i> = 251)	Yes (<i>n</i> = 127)	
Memory score (Grober-Buschke test)	−0.17 ± 0.06	+0.14 ± 0.08	0.02
Consistency of free recall (%)	33.5 ± 1.14	35.9 ± 1.59	0.22
Consistency of total recall (%)	87.1 ± 0.82	90.7 ± 1.14	0.01
Verbal fluency score	+0.03 ± 0.06	−0.01 ± 0.09	0.74
1st trial, 1 min score ^a	16.3 ± 0.42	15.8 ± 0.58	0.53
1st trial, 2 min score ^a	18.7 ± 0.41	18.7 ± 0.57	0.98
2nd trial, 1 min score ^a	10.0 ± 0.25	10.0 ± 0.38	0.90
2nd trial, 2 min score ^a	11.8 ± 0.25	11.8 ± 0.35	0.10
Benton visual score	+0.03 ± 0.06	−0.01 ± 0.08	0.57
Raw score	5.42 ± 0.11	5.33 ± 0.16	0.64
Error number	6.87 ± 0.20	6.85 ± 0.27	0.95

Data are expressed as age-adjusted and sex-adjusted means ± SEM. ^aNumber of words beginning with 'P' (1st trial) or 'R' (2nd trial) named in 1 and 2 min.

Fig. 2



Memory score according to antihypertensive class. Age-adjusted and sex-adjusted means of memory score, according to the antihypertensive drug. ACEIs, angiotensin-converting enzyme inhibitors; anti-HTN, antihypertensive drug; ARBs, angiotensin II receptor blockers; CCBs, calcium channel blockers.

sensitivity analyses were conducted on a subsample of propensity score-matched participants. After cohort matching, 174 patients were subdivided into CCBs and CCBs-free groups (Fig. 3), after which regression analyses used above for the entire study population were repeated. In either model (with or without WMH), the association of CCBs with memory score remained very close to significance in the first ($P=0.054$) as well as in the second model ($P=0.067$), taking into account the drastic reduction in sample size (by 1/3 for the CCBs subgroup and by 1/2 for the entire sample) and the resulting loss of power.

Discussion

The present study results show that the use of CCBs was associated with a better memory score in elderly hyper-

tensive treated patients presenting with SMCs. This association was confirmed in multivariate analyses and shown to be independent of BP levels (which strikingly were higher in CCB users), from other vascular risk factors (with indeed a higher risk profile in CCB users), as well as other potential vascular determinants of cognitive decline, such as WMH and arterial thickness, suggesting a direct neuroprotective effect of CCBs.

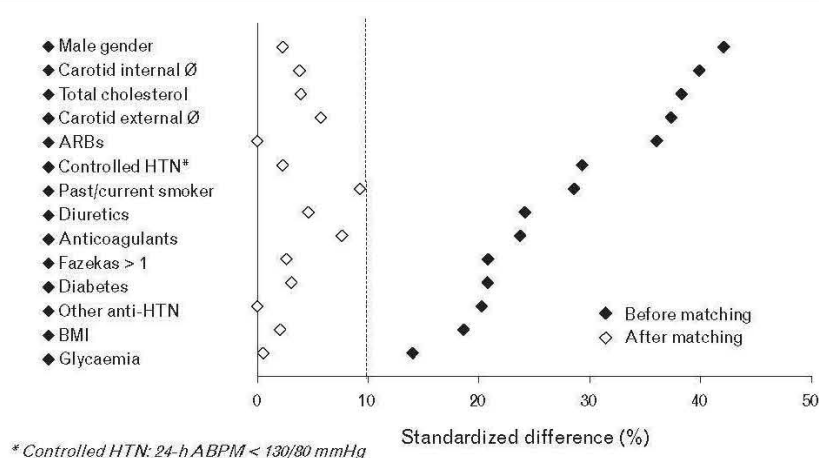
Only memory score, but not visual retention or verbal fluency score, was found to be associated with the use of CCBs. Memory score includes two components from the Grober-Buschke test: consistency of free recall and total recall. CCB use was associated with better consistency on total recall. These results are clinically relevant, as observations by Masur *et al.* [28] revealed that the means of consistency of total recall from the Grober-Buschke test was among the most valuable component in distinguishing mild dementia from normal aging.

These data corroborate and extend results obtained in different populations [9,29]. Indeed, this study included elderly hypertensive treated patients with SMC, a population at high risk for developing dementia, which to the best of our knowledge has never been specifically assessed with regard to antihypertensive drug influence on cognitive status. Moreover, in comparison to previous studies, our study also included an extensive vascular assessment (arterial thickness, endothelial function, and WMH measurements). In a study of 1241 older (mean age 78 years) hypertensive patients presenting with memory complaints (23% with normal cognitive function, 28%

Table 3 Analysis of factors associated with memory score using multiple regression models

Source	Regression coefficient	P
(a) Model without white matter hyperintensities		
Intercept	0.88 ± 0.17	<0.0001
Male sex	-0.46 ± 0.09	<0.0001
Carotid wall cross-sectional area (mm ²)	-0.07 ± 0.02	0.0007
Age ≥ 70 years	-0.18 ± 0.09	0.038
Calcium channel blocker	0.18 ± 0.09	0.043
(b) Model with white matter hyperintensities (continuous Fazekas score)		
Intercept	1.07 ± 0.18	<0.0001
Male sex	-0.48 ± 0.09	<0.0001
Fazekas score (continuous)	-0.11 ± 0.03	0.0002
Carotid wall cross-sectional area (mm ²)	-0.07 ± 0.02	0.0005
Calcium channel blocker	0.21 ± 0.09	0.027

Fig. 3



Comparability of calcium channel blocker subgroups (yes versus no). Ø, diameter; ARBs, angiotensin receptor blockers; HTN, hypertension.

with mild cognitive impairment, 42% suffering from Alzheimer's disease, and 7% with VaD), but only 57% being treated with BP-lowering drugs, Hanon *et al.* [29] observed that antihypertensive therapy, especially the use of CCBs, was associated with a lower risk of cognitive impairment and Alzheimer's disease. In the Syst-Eur trial, elderly people with isolated systolic hypertension receiving active treatment also had a lower incidence of dementia [9,11]. Unfortunately, this latter trial could not provide data on potential differential cognitive effects associated with various antihypertensive agents, as active treatment was composed of nitrendipine (a CCB) with the possible addition of enalapril (ACEI), hydrochlorothiazide, or both drugs. The protective effect observed in the Syst-Eur trial may, thus, have been achieved by lowering BP.

Other randomized trials have also suggested some beneficial effects of 1,4-dihydropyridine (DHP) CCBs: nimodipine in patients defined at baseline as affected by subcortical VaD [30]; and lercanidipine of third-generation CCBs in cognitive function improvement evaluated by MMSE after 6 months of treatment, especially in patients with good BP control [31]. In the present study, in patients treated with CCBs, users of DHP CCBs and non-DHP CCBs did not significantly differ in terms of cognitive function. However, any interpretation in this regard should be made with caution, given the small subgroup sizes, which may lead to an underpowered statistical comparison.

In contrast, data from the Canadian Study of Health and Aging (CSHA), a population-based, prospective 5-year investigation of the epidemiology of dementia and other health problems in Canadians 65 years of age and older,

showed that among the 205 hypertensive patients without evidence of dementia at baseline, those receiving CCBs were significantly more likely to experience cognitive decline than those treated with other antihypertensive agents [32]. Similarly, in a cross-sectional study of 1268 older hypertensive participants in the US Cardiovascular Health study, Heckbert *et al.* [33] observed that participants using CCBs or loop diuretics had a greater prevalence of WMHs on MRI and worse cognitive performance than β -blocker users. However, the above authors solely assessed global cognitive status with the Modified Mini-Mental State Examination (3MS), whereas in the study herein, MMSE was only performed to exclude dementia. Indeed, our study also included a validated and comprehensive battery of neuropsychological tests, which incorporated not only global cognitive status but also several domains of cognitive function. This and differences in tested population features may, therefore, contribute in explaining the discrepancy between the above reported results and those obtained herein.

However, in keeping with present study results, other data suggest that CCBs may have a protective effect on cognitive decline. A meta-analysis of 13 major studies conducted on 103 793 hypertensive patients suggested that CCBs decrease the risk of stroke more effectively than other treatments in patients with essential hypertension and that such an effect may not be entirely explained by a better antihypertensive response [34]. Moreover, several data suggest that calcium plays a key role in age-related changes in the brain [35]. This alteration in intracellular calcium homeostasis is critically involved in cognitive decline [36]. The cascade of biochemical events that lead to neuronal death appears

to interfere with intracellular calcium homeostasis via an activation of calcium channels, intracellular calcium stores, and the subsequent production of free radicals by calcium-sensitive enzymes. Such alterations in intracellular calcium homeostasis are critically involved in brain aging and may be one of the molecular bases for the pathogenesis of Alzheimer's disease [37]. The speculation that CCBs have particular advantages through a specific neuroprotective action is supported by a large body of evidence based on preclinical experimental models. In primary neuron cultures generated from Tg2576 mouse embryos, furosemide, nitrendipine (CCB), and candesartan cilexetil prevented oligomerization of both A β (1–40) and A β (1–42) *in vitro*, suggesting that antihypertensive compounds may prevent Alzheimer's disease-type neuropathology through inhibition of A β oligomer formation [38]. Another experimental study reported that nimodipine prevents transient cognitive dysfunction after moderate hypoxia in adult mice [39]. The chronic treatment of aging hypertensive stroke-prone rats with nimodipine or nifedipine was also suggested to preserve microvascular integrity in the cerebral cortex [40].

In contrast, we found no significant association between cognitive performance and use of ACEIs, β -blockers, diuretics, or other antihypertensive drugs. Our findings corroborate and extend, with regard to the specific population tested herein, those obtained in various trials. Indeed, no protective effect of a thiazide diuretic on cognitive decline was found in the SHEP, despite a reduction in BP and a lower risk of stroke [12]. The SCOPE [13] did not find any convincing evidence, in elderly hypertensive patients, that antihypertensive treatment confers a reduction in cognitive decline during ARB therapy, compared with control therapy. Cognitive function was well maintained in both treatment groups in the presence of substantial BP reductions. In a randomized, placebo-controlled, single blind trial using diuretics or β -blockers led by the Medical Research Council, no effect on cognitive impairment was achieved in elderly patients with moderate hypertension [41]. Finally, in 6105 randomized participants in the PROGRESS, active treatment (perindopril for all and indapamide for those with neither an indication for nor a contraindication to diuretics) was associated with reduced risks of stroke-related dementia and cognitive decline only in those with recurrent stroke [10].

Although it is expected that treating hypertension would be effective in preventing dementia according to previous studies [29,42–44], recent publications, however, have led to some controversy regarding this effect. A meta-analysis including SHEP, SCOPE, and Syst-Eur suggested no convincing evidence that BP lowering prevents the development of dementia or cognitive impairment in hypertensive patients with no apparent prior cerebrovascular disease. More recently, the study of

HYVET showed that antihypertensive treatment in elderly patients does not significantly reduce the incidence of dementia. However, the HYVET findings, when included in a meta-analysis, may support antihypertensive treatment in reducing incident dementia [14].

In the present study, inclusion criteria were set up to include patients with a history of hypertension, lasting more than 1 year and treated at the time of enrolment for at least 1 month with any agent of antihypertensive therapy, in order to include patients with stable treatment. However, the median duration of antihypertensive therapy was 10 years and only four patients were on treatment less than 1 year before inclusion. Moreover, cognitive function scores were not found associated with the duration of antihypertensive treatment in our study. In contrast, results from the Honolulu-Asia Aging Longitudinal study suggested that in hypertensive men, the duration of the antihypertensive treatment is associated with a reduced risk of incident dementia and cognitive decline [44]. Differences in study designs (cross-sectional versus longitudinal) and endpoints (SMCs versus dementia) may contribute in explaining the discrepancy between the above reported results and those obtained herein.

Certain limitations in this study should be noted. The observational study design does not allow ascertainment of causality. In addition, the cross-sectional design does not allow testing for temporal changes. In particular, we cannot exclude that long-term BP lowering prevents the development of dementia or cognitive impairment in hypertensive patients. Indeed, in the present study, there was no association between BP and cognitive decline and although the hypertensive status represented an inclusion criterion, study participants displayed a satisfactory BP control on average, as assessed by ambulatory BP monitoring (ABPM). Of note, however, memory score was neither associated with ABPM as a continuum, nor with optimum BP control or hypertension duration. Strengths of the current study include concomitant comprehensive vascular assessment with ultrasound and MRI, performed by experienced physicians using standardized procedures and blind to the patient's clinical features. Extensive vascular investigation included structural and functional assessments of both large arteries, endothelium function, and, indirectly, brain small vessels. ABPM was furthermore used to control for BP.

In conclusion, in elderly hypertensive treated patients, the use of CCBs was associated with better cognitive performance independently of BP level and usual cardiovascular risk factors and vascular structure, suggesting a specific protective effect of this pharmacological class. We are currently planning for a longitudinal follow-up of study participants while applying the same design of integrated vascular, MRI, and cognitive assessments. Further interventional trials are additionally required to confirm that CCBs, beyond BP lowering, exert a

neuroprotective effect able to achieve prevention of cognitive decline and hence dementia.

Acknowledgement

The present study was granted by the French Hypertension Society and Bayer Research Foundation, the Association de Recherche et d'Information en Cardiologie (ARISC). The authors wish to thank all the Physicians and psychologists of the Memory Clinique (CMRR) of the University Hospital of Nancy for their major contribution to the success of this paper.

References

- O'Brien JT, Erkinjuntti T, Reisberg B, Roman G, Sawada T, Pantoni L, et al. Vascular cognitive impairment. *Lancet Neurol* 2003; **2**:89–98.
- Mandilo TA, Olson J, Longstreth WT. Hypertension and cognitive function: pathophysiologic effects of hypertension on the brain. *Curr Hypertens Rep* 2003; **5**:255–261.
- Elias MF, Wolf PA, D'Agostino RB, Cobb J, White LR. Untreated blood pressure level is inversely related to cognitive functioning: the Framingham Study. *Am J Epidemiol* 1993; **138**:353–364.
- Skoog I, Lernfelt B, Landahl S, Palmertz B, Andreasson LA, Nilsson L, et al. 15-year longitudinal study of blood pressure and dementia. *Lancet* 1996; **347**:1141–1145.
- Launer LJ, Ross GW, Petrovitch H, Masaki K, Foley D, White LR, Havlik RJ. Midlife blood pressure and dementia: the Honolulu-Asia Aging study. *Neurobiol Aging* 2000; **21**:49–55.
- Awad IA, Spetzler RF, Hodak JA, Awad CA, Carey R. Incidental subcortical lesions identified on magnetic resonance imaging in the elderly. I. Correlation with age and cerebrovascular risk factors. *Stroke* 1986; **17**:1084–1089.
- Sierra C, De La Sierra A, Salameo M, Sobrino J, Gomez-Angelats E, Coca A. Silent cerebral white matter lesions and cognitive function in middle-aged essential hypertensive patients. *Am J Hypertens* 2004; **17**:529–534.
- Mosley TH Jr, Knopman DS, Catellier DJ, Bryan N, Hutchinson RG, Grothues CA, et al. Cerebral MRI findings and cognitive functioning: the Atherosclerosis Risk in Communities study. *Neurology* 2005; **64**:2056–2062.
- Forette F, Seux ML, Staessen JA, Thijs L, Birkenhager WH, Babarskiene MR, et al. Prevention of dementia in randomised double-blind placebo-controlled Systolic Hypertension in Europe (Syst-Eur) trial. *Lancet* 1998; **352**:1347–1351.
- Tzourio C, Anderson C, Chapman N, Woodward M, Neal B, MacMahon S, Chalmers J. Effects of blood pressure lowering with perindopril and indapamide therapy on dementia and cognitive decline in patients with cerebrovascular disease. *Arch Intern Med* 2003; **163**:1069–1075.
- Forette F, Seux ML, Staessen JA, Thijs L, Babarskiene MR, Babeanu S, et al. The prevention of dementia with antihypertensive treatment: new evidence from the Systolic Hypertension in Europe (Syst-Eur) study. *Arch Intern Med* 2002; **162**:2046–2052.
- Prevention of stroke by antihypertensive drug treatment in older persons with isolated systolic hypertension. Final results of the systolic hypertension in the elderly program (SHEP). SHEP Cooperative Research Group. *JAMA* 1991; **265**:3255–3264.
- Lithell H, Hansson L, Skoog I, Elmfeldt D, Hofman A, Olofsson B, et al. The Study on Cognition and Prognosis in the Elderly (SCOPE): principal results of a randomized double-blind intervention trial. *J Hypertens* 2003; **21**:875–886.
- Peters R, Beckett N, Forette F, Tuomilehto J, Clarke R, Ritchie C, et al. Incident dementia and blood pressure lowering in the Hypertension in the Very Elderly Trial Cognitive Function Assessment (HYVET-cog): a double-blind, placebo controlled trial. *Lancet Neurol* 2008; **7**:683–689.
- Derouesne C. Dementia. Diagnostic problems. *Therapie* 1993; **48**:189–193.
- Kearney-Schwartz A, Rossignol P, Bracard S, Felblinger J, Fay R, Boivin JM, et al. Vascular structure and function is correlated to cognitive performance and white matter hyperintensities in older hypertensive patients with subjective memory complaints. *Stroke* 2009; **40**:1229–1236.
- Folstein MF, Folstein SE, McHugh PR. 'Mini-mental state'. A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *J Psychiatr Res* 1975; **12**:189–198.
- Verdelho A, Henon H, Lebert F, Pasquier F, Leys D. Depressive symptoms after stroke and relationship with dementia: a three-year follow-up study. *Neurology* 2004; **62**:905–911.
- Grober E, Buschke H, Crystal H, Bang S, Dresner R. Screening for dementia by memory testing. *Neurology* 1988; **38**:900–903.
- Spreen O, Benton AL. Simulation of mental deficiency on a visual memory test. *Am J Ment Defic* 1963; **67**:909–913.
- Peigneux P, Van Der Linden M, Andres-Benito P, Sadzot B, Franck G, Salmon E. A neuropsychological and functional brain imaging study of visuo-imitative apraxia. *Rev Neurol (Paris)* 2000; **156**:459–472.
- Spreen O. Prognosis of learning disability. *J Consult Clin Psychol* 1988; **56**:836–842.
- Kerber KA, Whitman GT, Brown DL, Baloh RW. Increased risk of death in community-dwelling older people with white matter hyperintensities on MRI. *J Neurol Sci* 2006; **250**:33–38.
- Hachinski VC, Potter P, Merskey H. Leuko-araiosis: an ancient term for a new problem. *Can J Neurol Sci* 1986; **13**:533–534.
- Fazekas F, Chawluk JB, Alavi A, Hurtig HI, Zimmerman RA. MR signal abnormalities at 1.5T in Alzheimer's dementia and normal aging. *AJR* 1987; **149**:351–356.
- Levey AS, Coresh J, Balk E, Kausz AT, Levin A, Steffes MW, et al. National Kidney Foundation practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. *Ann Intern Med* 2003; **139**:137–147.
- Ahmed A, Hussain A, Love TE, Gambassi G, Dell'Italia LJ, Francis GS, et al. Heart failure, chronic diuretic use, and increase in mortality and hospitalization: an observational study using propensity score methods. *Eur Heart J* 2006; **27**:1431–1439.
- Masur DM, Fuld PA, Blau AD, Thal LJ, Levin HS, Aronson MK. Distinguishing normal and demented elderly with the selective reminding test. *J Clin Exp Neuropsychol* 1989; **11**:615–630.
- Hanon O, Pequignot R, Seux ML, Lenoir H, Bune A, Rigaud AS, et al. Relationship between antihypertensive drug therapy and cognitive function in elderly hypertensive patients with memory complaints. *J Hypertens* 2006; **24**:2101–2107.
- Pantoni L, del Ser T, Soglian AG, Amigoni S, Spadari G, Binelli D, Inzitari D. Efficacy and safety of nimodipine in subcortical vascular dementia: a randomized placebo-controlled trial. *Stroke* 2005; **36**:619–624.
- Tissaire-Sanchez J, Roma J, Camacho-Azcargorta I, Bueno-Gomez J, Moramacia J, Navarro A. Assessment of cognitive function in patients with essential hypertension treated with lercanidipine. *Vasc Health Risk Manag* 2006; **2**:491–498.
- Maxwell CJ, Hogan DB, Ebly EM. Calcium-channel blockers and cognitive function in elderly people: results from the Canadian Study of Health and Aging. *CMAJ* 1999; **161**:501–506.
- Heckbert SR, Longstreth WT Jr, Psaty BM, Murros KE, Smith NL, Newman AB, et al. The association of antihypertensive agents with MRI white matter findings and with modified Mini-Mental State Examination in older adults. *J Am Geriatr Soc* 1997; **45**:1423–1433.
- Angeli F, Verdecchia P, Reboldi GP, Gattobigio R, Bentivoglio M, Staessen JA, Porcellati C. Calcium channel blockade to prevent stroke in hypertension: a meta-analysis of 13 studies with 103 793 subjects. *Am J Hypertens* 2004; **17**:817–822.
- Foster TC. Calcium homeostasis and modulation of synaptic plasticity in the aged brain. *Aging Cell* 2007; **6**:319–325.
- Toescu EC, Verkhatsky A. The importance of being subtle: small changes in calcium homeostasis control cognitive decline in normal aging. *Aging Cell* 2007; **6**:267–273.
- Holscher C. Possible causes of Alzheimer's disease: amyloid fragments, free radicals, and calcium homeostasis. *Neurobiol Dis* 1998; **5**:129–141.
- Zhao W, Wang J, Ho L, Ono K, Teplow DB, Pasinetti GM. Identification of antihypertensive drugs which inhibit amyloid-beta protein oligomerization. *J Alzheimers Dis* 2009; **16**:49–57.
- Haile M, Limson F, Gingrich K, Li YS, Quartermain D, Blanck T, Bekker A. Nimodipine prevents transient cognitive dysfunction after moderate hypoxia in adult mice. *J Neurosurg Anesthesiol* 2009; **21**:140–144.
- Farkas E, De Jong GI, Apro E, Keuter JI, Luiten PG. Calcium antagonists decrease capillary wall damage in aging hypertensive rat brain. *Neurobiol Aging* 2001; **22**:299–309.
- Prince MJ, Bird AS, Blizard RA, Mann AH. Is the cognitive function of older patients affected by antihypertensive treatment? Results from 54 months of the Medical Research Council's trial of hypertension in older adults. *BMJ* 1996; **312**:801–805.
- Guo Z, Fratiglioni L, Zhu L, Fastbom J, Winblad B, Viitanen M. Occurrence and progression of dementia in a community population aged 75 years and older: relationship of antihypertensive medication use. *Arch Neurol* 1999; **56**:991–996.
- in't Veld BA, Ruitenberg A, Hofman A, Stricker BH, Breteler MM. Antihypertensive drugs and incidence of dementia: the Rotterdam study. *Neurobiol Aging* 2001; **22**:407–412.
- Peila R, White LR, Masaki K, Petrovitch H, Launer LJ. Reducing the risk of dementia: efficacy of long-term treatment of hypertension. *Stroke* 2006; **37**:1165–1170.

II.3.2. Article II. Étude des polymorphismes des gènes impliqués dans les altérations vasculaires chez des sujets âgés hypertendus présentant une plainte mnésique subjective

Watfa G, Marteau JB, Rossignol P, Kearney-Schwartz A, Fay R, Bracard S, Felblinger J, Boivin JM, Lacolley P, Visvikis-Siest S, Benetos A, Zannad F. Association study of gene polymorphisms involved in vascular alterations in elderly hypertensives with subjective memory complaints. Dement Geriatr Cogn Disord. 2010;30(5):440-448.

RESUME

Introduction : Notre équipe a récemment montré que les anomalies vasculaires sont associées au déclin cognitif ainsi qu'aux hypersignaux de la substance blanche (leucoaraïoses) chez des sujets âgés hypertendus présentant une plainte mnésique subjective, cette population est à haut risque de démence.

Objectif : L'objectif est d'identifier des variantes génétiques associées à la sévérité des troubles cognitifs et au degré de la leucoaraïose chez cette même population, en ciblant les gènes impliqués dans les altérations vasculaires.

Patients et Méthodes : les polymorphismes de 50 gènes impliqués dans les altérations vasculaires (régulation de la pression artérielle, métabolisme des lipides et d'homocystéine, thrombose et inflammation) ont été analysés par la technique de génotypage par multiplex. Cette étude a été réalisée chez 369 patients traités pour leur hypertension, âgés de plus de 60 ans et présentant une plainte mnésique subjective sans démence. Les patients ont subi une série de tests neuropsychologiques (test de fluence verbale, test de rétention visuelle de Benton et test de Grober et Buschke) ainsi qu'une IRM cérébrale avec une semi-quantification des leucoaraïoses.

Résultats : Il n'y a pas de corrélation entre les polymorphismes des gènes analysés et les scores de mémoires ou le score Fazekas de la leucoaraïose.

Conclusion : Nos résultats suggèrent qu'au moins à ce stade précoce de déclin cognitif, il n'y a pas de relation entre les facteurs génétiques et le déclin cognitif ou la leucoaraïose concernant la série des gènes ciblés dans cette étude.

Association Study of Gene Polymorphisms Involved in Vascular Alterations in Elderly Hypertensives with Subjective Memory Complaints

Ghassan Watfa^{a–d} Jean Brice Marteau^{c, e} Patrick Rossignol^{a–c}
Anna Kearney-Schwartz^{a, d} Renaud Fay^a Serge Bracard^{c, f, g}
Jacques Felblinger^{c, g} Jean-Marc Boivin^{a, c} Patrick Lacolley^{b, c}
Sophie Visvikis-Siest^{c–e} Athanase Benetos^{a–d} Faïez Zannad^{a–c}

^aNancy University Hospital and Inserm Clinical Investigation Center, CIC9501, ^bInserm U961, Faculty of Medicine,

^cNancy University, ^dDepartment of Geriatrics and Memory Clinique (CMRR), University Hospital of Nancy,

^eEA 4373 'Cardiovascular Genetics' Research Team, Faculty of Pharmacy, ^fNeuroradiology Service, Central Hospital, and ^gInserm U947, Adaptive, Diagnostic and Interventional Imagery, and CIC-Innovative Technologies, Hospital Brabois, Nancy, France

Key Words

Aging · Hypertension · Gene polymorphism · Genetic association · Leukoaraiosis · Memory impairment

Abstract

Background: We have recently shown that vascular abnormalities are associated with cognitive impairment as well as with white matter hyperintensities (WMH) in elderly hypertensive patients presenting with subjective memory complaints (SMC), a population at high risk of developing dementia. The aim of the present study was to identify genetic variants associated with the degree of cognitive impairment and the severity of WMH in the same study population, focusing on genes involved in vascular alterations. **Methods:** 50 gene polymorphisms known to be associated with vascular alterations (blood pressure regulation, lipid and homocysteine metabolism, thrombosis and inflammation) were genotyped using a multilocus genotyping assay in 369 elderly treated hypertensive patients >60 years of age and

presenting with SMC but no dementia. The patients underwent a combination of neuropsychological tests and brain magnetic resonance imaging with semiquantification of WMH. **Results:** None of the tested polymorphisms were found to be associated with age- and gender-adjusted memory score, visual capacity, body-mass-index-adjusted verbal fluency score or the age-adjusted WMH Fazekas score. **Conclusion:** Our results suggest that the associations between arterial factors and cognitive decline or WMH are not genetically driven by the genes we investigated, at least at this early stage of cognitive decline.

Copyright © 2010 S. Karger AG, Basel

Introduction

Cognitive impairment is a major health problem in elderly persons and must be construed as a common outcome for a number of interacting pathologies, the development of which is mediated by genetic, environmental

KARGER

Fax +41 61 306 12 34
E-Mail karger@karger.ch
www.karger.com

© 2010 S. Karger AG, Basel
1420–8008/10/0305–0440\$26.00/0

Accessible online at:
www.karger.com/dem

Prof. Faïez Zannad
Nancy University Hospital and Inserm Clinical Investigation Center
CIC9501
FR-54500 Vandœuvre-lès-Nancy
Tel. +33 3 8315 7320, Fax +33 3 8315 7324, E-Mail fzannad@chu-nancy.fr

and social factors. Patients with either subjective memory complaints (SMC) or mild cognitive impairment (MCI) are prone to develop dementia [1] and are therefore considered as priority targets for the development of prevention programs. So far, an influence of genetic factors beside the apolipoprotein E (ApoE) gene [2, 3] in cognitive impairment has not been reported in patients with SMC.

It has been postulated that arterial factors are associated with cognitive decline [4–6] and with white matter hyperintensities (WMH) [7], the latter having been found to be associated with impaired cognitive function [8, 9]. Recently, we have shown that vascular abnormalities such as arterial stiffness, beyond blood pressure (BP) levels, are associated with cognitive impairment as well as with WMH in elderly hypertensive patients presenting with SMC [10]. In this setting, the investigation of putative candidate genes of cerebrovascular risk factors may help identifying pathophysiological pathways associated with the early development of cognitive impairment and dementia. Hypertension is one of the main risk factors for cerebrovascular diseases. Many studies have shown that elevated BP levels are strongly associated with the long-term risk of cognitive decline and dementia [4, 5]. In previous studies, we found that the ApoC3, lipoprotein lipase, E-selectin and glycoprotein IIIa genes were associated with BP levels [11, 12]. Hypertension is also consistently identified as a risk factor for white matter lesions [13]. It has been suggested that polymorphisms of renin angiotensin system genes are associated with leukoaraiosis [14]. In a population-based setting, it has been shown that the presence of carotid plaques and increased carotid wall thickness [15], a measure of subclinical atherosclerosis associated with cardiovascular events, are associated with lower cognitive performance. Interestingly, the $\epsilon 4$ allele of the ApoE gene, a key apolipoprotein of cholesterol metabolism and atherosclerosis, is a known major genetic risk factor for late-onset familial and sporadic Alzheimer's disease [16] and seems to be implicated in cognitive decline in normal elderly persons [17]. Moreover, inflammation, hemostatic factors, homocysteine and lipid metabolism [6, 18–20] were found to be associated with cognitive impairment and dementia.

To the best of our knowledge, genetic associations with cognitive impairment have so far almost only been assessed at late stages. The aim of the present study was to identify genetic variants associated with the degree of cognitive impairment and the severity of WMH in elderly hypertensive patients presenting with SMC without dementia, i.e. in a selected population at high risk of vascular remodeling and/or dementia, using an integrative ap-

proach with comprehensive and concomitant assessments of arterial structure and hypertension, by using a multiplex genotyping assay including 50 candidate gene polymorphisms, focusing on the clustered genes implicated in BP regulation, lipid and homocysteine metabolism, thrombosis and inflammation.

Subjects and Methods

Subjects

This monocentric, cross-sectional study prospectively included 378 treated hypertensive men and women aged 60–85 years and presenting with SMC. SMC were defined as a McNair scale score greater than 15 (revised validated French version of 26 items) [21]. The protocol, described elsewhere [10, 22], was approved by the local research ethics committee, and all patients signed an informed consent form.

Patients with suspicion of dementia (Mini-Mental State Examination, MMSE [23], score of 24 or less for lower education level, and 26 or less for high education level) or suspicion of depression (Geriatric Depression Scale score >10) [24], history of alcohol or drug abuse, and treatments influencing cognitive efficiency evaluation (narcoleptics, antiepileptic or psychotic drugs) were not included in this study [10].

Data Collection and Assessment of Cognitive Function

Clinical evaluation included history recording as well as a general and a neurological examination. Education level was classified into 3 categories: low (elementary school education), medium (lower-level general education, intermediate-level general education) and high (higher-level general education and university). Supine systolic BP (SBP) and diastolic BP (DBP) were measured after at least 10 min of rest from the left arm, using a validated electronic device (DINAMAP®400Pro). BP was measured 3 times, and the average of these 3 measurements was used (see exclusion criteria). BP measurements (ambulatory BP monitoring)/24 h (SpaceLabs®) were also recorded [25]. Information on the nature of any current drugs was provided by patients and/or their general practitioner. Antihypertensive treatments were identified by their pharmacological class, and their date of initiation was recorded.

Cognitive status was established by a set of psychometric tests. First, the Cognitive Difficulties Scale of McNair [21] was performed by self-evaluation (inclusion criteria), after which the Geriatric Depression Scale, a self-report scale, was completed [24]. Global cognitive assessment was based on the MMSE [23]. A validated and comprehensive battery of neuropsychological tests was also performed by trained psychologists, including (1) immediate and delayed memory and language (free and cued recall) assessed by the Grober-Buschke test, also called Free and Cued Selective Reminding [26], which is a memory test that assesses attention and cognitive processing to maximize learning; (2) visuo-perceptual and visuospatial capacities by the Benton Visual Retention Test [27], which assesses the perception of spatial relations and memory for newly learned material; (3) praxis by the praxis scale [28], which allows detection of mild disturbances of coordination and adaptation of movements to a function, and (4) executive function and long-term verbal memory by the Verbal Fluency Test

Table 1. Characteristics of the study population

	Total (n = 369)	Men (n = 167)	Women (n = 202)	p
Subjects, %		45	55	–
Age, years	70 ± 6	70 ± 6	71 ± 6	0.15
Education – high level, %	64	71	59	0.015
Hypertension duration, years	11 (5–18)	10 (5–18)	11 (7–19)	0.19
Diabetes, %	10	15	7	0.010
Current or past smokers, %	38	63	17	<0.0001
BMI	28.0 ± 4.4	28.1 ± 3.6	27.9 ± 4.9	0.40
Total cholesterol, g/l	2.18 ± 0.34	2.08 ± 0.33	2.27 ± 0.33	<0.0001
LDL cholesterol, g/l	1.31 ± 0.32	1.26 ± 0.32	1.34 ± 0.31	0.038
HDL cholesterol, g/l	0.64 ± 0.22	0.57 ± 0.19	0.70 ± 0.23	<0.0001
Triglycerides, g/l	1.23 ± 0.65	1.26 ± 0.69	1.21 ± 0.61	0.75
Fasting glucose, g/l	1.02 ± 0.25	1.05 ± 0.30	0.99 ± 0.21	0.023
eGFR (MDRD formula), ml/min/1.73 m ²	63 ± 12	67 ± 13	61 ± 11	<0.0001
Fazekas score	2.4 ± 1.5	2.3 ± 1.6	2.4 ± 1.5	0.46
WMH (Fazekas score >1), %	70	71	70	0.84
Composite memory score	0.00 ± 1.01	–0.29 ± 1.01	0.23 ± 0.95	<0.0001
Composite visual retention score	0.00 ± 0.99	0.17 ± 0.96	–0.14 ± 1.00	0.002
Composite verbal fluency score	0.03 ± 1.00	0.05 ± 0.95	0.01 ± 1.04	0.55
Medications, %				
ACEI	27	32	23	0.068
ARB	39	38	40	0.71
Diuretics	48	44	52	0.11
CCB	34	42	27	0.002
β-Blockers	33	33	33	0.96
Anticoagulants/antiplatelet	28	37	20	0.0003
Lipid-lowering agents	47	50	45	0.27

Data are expressed as means ± SD or median with interquartile range in parentheses unless specified otherwise. Probability of the Mann-Whitney test (continuous variables) or χ^2 test (categorical variables). HDL = High-density lipoprotein; MDRD = Modification of Diet in Renal Disease; ACEI = angiotensin-converting enzyme inhibitors; ARB = angiotensin II receptor blockers; CCB = calcium channel blockers; eGFR = estimated glomerular renal filtration rate.

[29], which evaluates semantic memory, influence by language and memory function.

In order to reduce the number of parameters of cognitive assessment, composite scores were calculated for (i) memory function (memory score), including 2 components from the Grober-Buschke test, i.e. consistency of free recall and total recall (percentage of number of words recalled consistently from the first to the third trial on free recall, and on free or cued recall, respectively), (ii) verbal fluency (which describes lexical fluidity and includes 4 tests), and (iii) visual memory capacity (visual memory score, defining raw visual memory and errors by 2 tests).

DNA Polymorphism Determinations

Genotyping was performed in the context of a multimer assay using an immobilized probe approach, as described previously (Roche Molecular Systems, Alameda, Calif., USA) [30]. In brief, each DNA sample was amplified by PCR with pooled biotinylated primers. Each PCR product pool was then hybridized to a panel of sequence-specific oligonucleotide probes immobilized

in a linear array. The colorimetric detection method was based on the use of streptavidin-horseradish peroxidase conjugate with hydrogen peroxide and 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine as substrates. To confirm the genotype assignment, the scoring was carried out by 2 independent observers. Discordant results (<1% of all scoring) were resolved by a joint reading, and where necessary, a repeat genotyping.

Magnetic Resonance Imaging

Brain magnetic resonance imaging (MRI) at 1.5 T (Signal General Electric; GE Medical Systems) was performed in the axial and sagittal planes with a slice thickness of 5 mm [31]. WMH grading was performed using T₂-weighted axial images. Each MRI was screened initially by a neuroradiologist to rule out stroke or the presence of 3 or more lacunar infarcts (exclusion criteria [32]) and other possible causes of gait imbalance. The grading was performed by a single experienced neuroradiologist, blinded to the patients' clinical data, using the Fazekas and Schmidt scale. This score represents the sum of deep white matter lesions and

Table 2. Allele frequencies observed among the study population

Category/ gene	Polymor- phism	Candidate genes		Site	Alleles		Genotype frequencies			Hardy- Weinberg p
		SNP ID	protein		a	b	aa	ab	bb	
Lipid metabolism										
LPL	ApoA93	rs1853021	apolipoprotein (a)	93	C	T	281	81	7	0.92
APOA4	ApoAIV347	rs675	apolipoprotein AIV	347	Thr	Glu	237	108	24	0.064
	ApoAIV360	rs5110	apolipoprotein AIV	360	Glu	His	321	46	2	0.97
APOB	ApoB71	rs1367117	apolipoprotein B	71	Thr	Ile	153	165	51	0.83
APOC3	ApoCIII641	rs2542052	apolipoprotein CIII	-641	C	A	142	163	64	0.35
	ApoCIII482	rs2854117	apolipoprotein CIII	-482	C	T	191	152	26	0.85
	ApoCIII455	rs2854116	apolipoprotein CIII	-455	T	C	145	163	61	0.42
	ApoCIII1100	rs4520	apolipoprotein CIII	1100	C	T	187	156	26	0.70
	ApoCIII3175	rs5128	apolipoprotein CIII	3175	C	G	300	67	2	0.70
	ApoCIII3206	rs4225	apolipoprotein CIII	3206	T	G	137	173	59	0.94
APOE	ApoE112	rs429358	apolipoprotein E	112	Cys	Arg	276	87	6	0.96
	ApoE158	rs7412	apolipoprotein E	158	Arg	Cys	314	54	1	0.71
ADRB3	ADRB364	rs4994	β ₃ -adrenergic receptor	64	Trp	Arg	328	40	1	0.98
PPAR	PPAR12	rs1801282	PPAR-γ	12	Pro	Ala	291	70	8	0.32
LIPC	LIPH480	rs1800588	hepatic lipase	-480	C	T	216	130	23	0.85
LPL	LPL447	rs328	lipoprotein lipase	447	Ser	Ter	300	63	6	0.46
PON1	PON1_55	rs854560	paraoxonase 1	55	Met	Leu	66	164	139	0.36
	PON1_192	rs662	paraoxonase 1	192	Gln	Arg	197	142	30	0.83
PON2	PON2_311	rs6954345	paraoxonase 2	311	Ser	Cys	225	126	18	1.00
LDLR	LDLRNcoI	rs5742911	LDL receptor	NcoI	+	-	177	172	20	0.029
CETP	CETP405	rs5882	cholesterol ester transfer protein	405	Ile	Val	173	156	40	0.86
Homocysteine metabolism										
CBS	CBS278	rs5742905	cystathionine β-synthase	278	Ile	Thr	330	39	0	0.56
MTHFR	MTHFR677	rs1801133	methylenetetrahydrofolate reductase	677	C	T	151	158	60	0.24
Blood pressure regulation										
NOS3	NOS3948	rs1800779	nitric oxide synthase	-948	A	G	133	181	55	0.87
	NOS3690		nitric oxide synthase	-690	C	T	297	69	3	0.90
	NOS3298	rs1799983	nitric oxide synthase	298	Glu	Asp	160	161	48	0.76
ACE	ACE	rs1799752	angiotensin-converting enzyme		I	D	84	174	111	0.61
AGTR1	AT1R1166	rs5186	angiotensin II type I receptor	1166	A	C	192	146	31	0.91
AGT	AGT235	rs699	angiotensinogen	235	Met	Thr	116	187	66	0.82
ANP	ANP7	rs5063	atrial natriuretic peptide	7	Val	Met	336	33	0	0.67
	ANP2238	rs5065	atrial natriuretic peptide	2238	T	C	268	90	11	0.60
ADD1	aADD460	rs4961	α-adducin	460	Gly	Trp	248	112	9	0.68
SCNN1A	ENaCa493	rs5742912	epithelial sodium channel α-subunit	493	Trp	Arg	345	23	1	0.66
	ENaCa663	rs2228576	epithelial sodium channel α-subunit	663	Thr	Ala	176	153	40	0.74
GNB3	GNB3825	rs5443	G protein β ₃ -subunit	825	C	T	178	165	26	0.33
ADRB2	ADRB216	rs1042713	β ₂ -adrenergic receptor	16	Arg	Gly	55	183	131	0.79
	ADRB227	rs1042714	β ₂ -adrenergic	27	Gln	Glu	130	189	50	0.36
Thrombosis										
F7	FVII323	rs5742910	coagulation factor VII	-323	del.	ins.	276	85	8	0.89
	FVII353	rs6046	coagulation factor VII	353	Arg	Glu	291	71	7	0.56
SERPINE1	PAI1	rs1799768	plasminogen activator inhibitor-1	-675	5G	4G	73	190	106	0.76
	PAI11053	rs7242	plasminogen activator inhibitor-1	11053	G	T	71	198	100	0.31
FGB	Fib455	rs1800790	fibrinogen	-455	G	A	229	129	11	0.36
ITGA2	GP1a873	rs1062535	glycoprotein 1A	873	G	A	148	165	56	0.67
ITGB3	GPIIIa33	rs5918	glycoprotein 3A	33	Leu	Pro	263	93	13	0.42

Table 2 (continued)

Category/ gene	Polymor- phism	Candidate genes		Site	Alleles		Genotype frequencies			Hardy- Weinberg p
		SNP ID	protein		a	b	aa	ab	bb	
Inflammation										
SELE	ELAM128	rs5361	E-selectin E	128	Ser	Arg	292	73	4	0.97
	ELAM554	rs5355	E-selectin	554	Leu	Phe	339	29	1	0.90
ICAM1	ICAM1214	rs1799969	intracellular adhesion molecule	214	Gly	Arg	296	69	4	1.00
TNFA	TNFA308	rs1800629	tumor necrosis factor- α	-308	G	A	271	91	7	0.98
TNFB	TNFB26	rs1041981	tumor necrosis factor- β	26	Thr	Asn	183	148	38	0.61
MMP3	MMP3	rs3025028	matrix metalloproteinase-3	-1171	5A	6A	92	177	100	0.74
SNP = Single nucleotide polymorphisms; rs = reference. Genotype frequency total: 369.										

SNP = Single nucleotide polymorphisms; rs = reference. Genotype frequency total: 369.

periventricular lesions, divided into 3 groups of increasing severity (i.e. 0–1, 2–3 and 4–6) [33].

Blood and Urine Sampling

Total serum cholesterol, high-density lipoprotein and low-density lipoprotein (LDL), triglycerides, fasting blood glucose, fibrinogen, homocysteine, folates, the von Willebrand factor, serum creatinine (with a glomerular filtration rate estimation by the Modification of Diet in Renal Disease formula) were measured after an overnight fast, using a standardized venous blood sampling technique. A 24-hour urine collection was performed to measure microalbuminuria.

Statistical Analysis

All analyses were carried out using the SAS R9.1.3 software (SAS Institute, Cary, N.C., USA). Individuals with incomplete genotyping data were excluded from the analysis. Therefore the data presented herein include those on 369 subjects of the whole population cohort of 378. Baseline characteristics were presented as means $\pm$ SD for continuous variables and as percentages for categorical ones. Hypertension duration of which the distribution could not be considered normal is provided as a median (interquartile range). Genders were compared using the Mann-Whitney test. Standardized composite scores (overall mean = 0 and SD = 1) were computed using the scoring coefficients derived from a principal component analysis of the 8 subtests of the 3 memory tests. Three factors accounted for 83% of the total variance, being very highly correlated with verbal fluency ($r > 0.90$; $p < 0.0001$), visual retention ($r > 0.95$; $p < 0.0001$) and memory score ($r > 0.80$; $p < 0.0001$), respectively. Owing to their construction, these scores are expressed as SD.

Associations between composite scores and polymorphisms were analyzed using ANOVA. In a preliminary analysis, gender, age and body mass index (BMI) were found to be significantly associated with Fazekas (age), memory (age and gender), verbal fluency (age and gender) and visual capacity (BMI) scores. They were systematically tested in the models as potentially confounding factors, but kept only when found significant at the 0.05 level. Fifty ANOVA were carried out for each dependent variable: the significance level of the score-genotype associations was set to $\alpha = 0.001$ in order to preserve an overall error rate of < 0.05 .

Results

The main clinical, biological and phenotypic characteristics of the study population are summarized in table 1. Patients had been taking antihypertensive medications for an average of 11 ± 8 years. Antihypertensive treatments included diuretics (48%), calcium channel blockers (34%), β -blockers (33%), angiotensin-converting enzyme inhibitors (27%), angiotensin receptor antagonists (39%) or other agents (10%). The data are presented according to gender since men and women, despite similar ages, differed significantly in terms of memory and visual capacity scores. Of note, neither verbal fluency nor WMH Fazekas score severity significantly differed according to gender. WMH Fazekas ($r = 0.37$; $p < 0.0001$), memory ($r = -0.28$; $p < 0.0001$) and visual capacity scores ($r = 0.15$; $p = 0.003$), but not the verbal fluency score ($r = -0.03$; $p = 0.59$), were found to be associated with age, respectively. A significant correlation was observed between BMI and verbal fluency score ($r = 0.15$; $p = 0.003$). Therefore, the corresponding adjustments were used to test the association between the tested polymorphisms and the cognitive and WMH Fazekas scores.

The observed allele frequencies of the studied polymorphisms are presented in table 2. All genotypes frequencies met the Hardy-Weinberg equilibrium assumption, except for the LDL cholesterol receptor.

Taking into account an adjustment of the statistical significance threshold for multiple testing (i.e. statistical significance was set to $p < 1 \times 10^{-3}$), none of the tested polymorphisms were found to be associated with age- and gender-adjusted memory, visual capacity, BMI-adjusted verbal fluency or age-adjusted WMH Fazekas scores (table 3).

Table 3. Association of each studied polymorphism with Fazekas score and memory, visual retention and verbal fluency scores in the entire population

	Fazekas score		Memory score		Visual retention score		Verbal fluency score	
	r ²	p ^a	r ²	p ^b	r ²	p ^b	r ²	p ^c
ApoA93	0.131	0.79	0.089	0.49	0.097	0.67	0.026	0.47
ApoAIV347	0.136	0.27	0.089	0.47	0.110	0.042	0.031	0.16
ApoAIV360	0.130	0.95	0.086	0.90	0.095	0.97	0.023	0.69
ApoB71	0.130	0.87	0.090	0.40	0.095	0.92	0.033	0.13
ApoCIII641	0.139	0.17	0.087	0.75	0.095	0.89	0.031	0.16
ApoCIII482	0.142	0.086	0.086	0.88	0.106	0.10	0.029	0.26
ApoCIII455	0.135	0.31	0.088	0.58	0.095	0.88	0.033	0.13
ApoCIII1100	0.134	0.39	0.088	0.59	0.116	0.014	0.023	0.78
ApoCIII3175	0.135	0.36	0.087	0.83	0.109	0.053	0.039	0.038
ApoCIII3206	0.139	0.16	0.086	0.91	0.111	0.038	0.026	0.43
ApoE112	0.130	0.90	0.091	0.33	0.100	0.37	0.023	0.76
ApoE158	0.130	0.75	0.087	0.79	0.103	0.18	0.022	0.92
ADRB364	0.134	0.40	0.088	0.65	0.099	0.44	0.024	0.67
PPAR12	0.142	0.079	0.093	0.25	0.102	0.25	0.024	0.59
LIPH480	0.143	0.074	0.086	0.89	0.100	0.36	0.022	0.93
LPL447	0.130	0.86	0.086	0.87	0.099	0.43	0.023	0.73
PON1_55	0.137	0.23	0.092	0.30	0.097	0.68	0.025	0.48
PON1_192	0.141	0.10	0.089	0.56	0.098	0.56	0.022	0.86
PON2_311	0.138	0.20	0.087	0.75	0.107	0.083	0.023	0.75
LDLRNcoI	0.132	0.57	0.086	0.85	0.095	0.96	0.022	0.95
CETP405	0.131	0.79	0.088	0.57	0.097	0.68	0.023	0.79
CBS278	0.132	0.29	0.086	0.69	0.095	0.76	0.025	0.23
MTHFR677	0.139	0.14	0.090	0.39	0.096	0.83	0.022	0.85
NOS3948	0.131	0.69	0.087	0.73	0.106	0.099	0.034	0.091
NOS3690	0.131	0.81	0.094	0.20	0.097	0.63	0.025	0.53
NOS3298	0.132	0.65	0.086	0.95	0.102	0.25	0.040	0.031
ACE	0.130	0.87	0.093	0.21	0.095	0.89	0.024	0.61
AT1R1166	0.133	0.51	0.098	0.087	0.095	0.91	0.041	0.027
AGT235	0.131	0.73	0.087	0.83	0.098	0.53	0.023	0.74
ANP7	0.136	0.12	0.086	0.62	0.111	0.011	0.024	0.37
ANP2238	0.134	0.41	0.086	0.97	0.098	0.56	0.022	0.90
aADD460	0.140	0.14	0.086	0.89	0.120	0.007	0.025	0.49
ENaCa493	0.130	0.91	0.095	0.17	0.097	0.63	0.042	0.022
ENaCa663	0.137	0.22	0.092	0.31	0.095	0.89	0.026	0.46
GNB3825	0.139	0.14	0.088	0.62	0.095	0.99	0.028	0.27
ADRB216	0.130	0.85	0.092	0.26	0.096	0.74	0.022	0.96
ADRB227	0.133	0.55	0.086	0.95	0.095	0.88	0.023	0.75
FVII323	0.135	0.34	0.098	0.092	0.097	0.59	0.023	0.74
FVII353	0.135	0.33	0.095	0.16	0.097	0.62	0.023	0.69
PAI1	0.137	0.23	0.089	0.56	0.096	0.85	0.025	0.51
PAI1 1053	0.131	0.69	0.088	0.68	0.096	0.82	0.027	0.38
Fib455	0.134	0.39	0.088	0.63	0.098	0.51	0.026	0.43
GPIa873	0.135	0.34	0.094	0.18	0.097	0.62	0.026	0.40
GPIIIa33	0.132	0.65	0.086	0.95	0.097	0.70	0.026	0.40
ELAM128	0.131	0.69	0.091	0.34	0.096	0.83	0.028	0.31
ELAM554	0.134	0.44	0.093	0.24	0.099	0.39	0.022	0.94
ICAM1214	0.134	0.41	0.095	0.17	0.097	0.69	0.025	0.55
TNFA308	0.147	0.031	0.088	0.60	0.110	0.047	0.023	0.71
TNFB26	0.132	0.62	0.088	0.57	0.105	0.13	0.023	0.74
MMP3	0.137	0.22	0.086	0.92	0.099	0.42	0.036	0.060

^a Adjustment for age.

^b Adjustment for age and gender.

^c Adjustment for BMI.

Discussion

In a population of 369 elderly hypertensive treated patients presenting with SMC, free of dementia, no significant association was found of any of the 5 studied gene polymorphism clusters (BP regulation, lipid and homocysteine metabolism, thrombosis and inflammation) of 34 genes with cognitive impairment on the one hand, and with WMH on the other hand. To the best of our knowledge, this is the first study dedicated to an extensive vascular assessment (including arterial thickness, endothelial function and WMH measurement), together with 50 polymorphisms known to be associated with vascular abnormalities, in a highly selected population at high risk of developing dementia.

We (in the same study population) and others have previously shown that arterial factors are associated with cognitive decline [4–6, 10] and WMH [8–10]. The present data suggest that such associations are not genetically driven for the genes we investigated, at least at this early stage of cognitive decline. However, nongenetic risk factors may also play an important role and might be targeted by interventions to reduce cognitive impairment risk.

Interestingly, there was a trend for an association between aADD460 (Gly460Trp) genotypes and visual retention score ($r^2 = 0.12$; $p = 0.007$), which, however, did not reach the statistical significance threshold set at 0.001 (table 3). It has been reported that the Gly460Trp polymorphism of ADD1 was associated with a salt-sensitive form of hypertension [34]. An additional analysis with regard to genotype (Gly/Gly vs. Gly/Trp + Trp/Trp) showed no significant difference in BP levels in our study. These data corroborate and extend results from a majority of studies conducted on Caucasians [35], Asians [36] and African Americans [37] that did not confirm the existence of such an association between this polymorphism and higher BP levels. However, in our study, although hypertensive status represented an inclusion criterion, on average the study participants displayed a satisfactory BP control, as assessed by ambulatory BP monitoring. Indeed, all patients were treated with at least 1 antihypertensive drug.

In the same study population, we have recently shown that calcium channel blocker use was associated with better memory performance independently of BP level and macro- and microvascular alterations [22]. In order to investigate the influences of different classes of antihypertensive treatment on the association between genetic variants and cognitive function or leukoaraiosis, we fur-

ther included the use of each pharmacological antihypertensive class as a covariable, after which the multivariate analyses used in table 3 were repeated. The association of each studied polymorphism with Fazekas score and memory, visual retention and verbal fluency scores remained nonsignificant (data not shown).

In the present study, multivariate analyses (table 3) found no correlation between ApoE4 polymorphism and memory impairment or WMH. In contrast, Borenstein et al. [2] suggest that ApoE4 increases and ApoE2 decreases the risk of dementia or amnesic MCI versus normal cognition. Such a discrepancy may be due to different study population features, as SMC are close to but different from MCI [38]. Moreover, our study design was not a case-control study, as compared to the study mentioned [2]. Data from a population-based study revealed that elderly subjects carrying the $\epsilon 4$ allele had worse learning abilities than those with the ApoE2/2 or E2/3 genotypes, whereas these groups did not differ in other cognitive domains [39]. In a longitudinal study, Caselli et al. [17] suggested that the ApoE4 allele affects age-related memory performance independently of MCI and dementia. Another study reports that the presence of the ApoE4 allele is associated with an increased risk of MCI and a more rapid rate of cognitive decline in old age [3]. Of note, the cross-sectional design of our study does not allow testing for temporal changes. Although the mechanism underlying the vulnerability of white matter tracts to ApoE4 carriers is still unknown, Persson et al. [40] suggested that increased genetic risk of developing Alzheimer's disease is associated with changes in microscopic white matter integrity well before the onset of dementia.

In our study, no association between C677T methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene polymorphism and cognitive impairment was found. In subjects with cognitive impairment, Gorgone et al. [6] showed in 2009 that MMSE score was correlated with plasma homocysteine concentration and C677T MTHFR gene polymorphism. Any interpretation in this regard should be made with caution, given the small subgroup sizes. However, the above authors assessed solely global cognitive status by MMSE, while in our study, the MMSE was only performed to exclude dementia. Indeed, our study included also a validated and comprehensive battery of neuropsychological tests which incorporated not only global cognitive status but also several domains of cognitive function. This and differences in population features tested may therefore explain the discrepancies between the above-reported results and those obtained here.

Strengths of the current study include that it was powered to detect any association, using a significance threshold corresponding to 1 expected false positive ($p < 1 \times 10^{-3}$), of each polymorphism in the genes studied with cognitive impairment on the one hand, and with WMH on the other hand in the whole population and in men and women separately. Moreover, our study included a concomitant comprehensive vascular assessment by ultrasound and MRI, performed by experienced physicians using standardized procedures and blinded to the patient's clinical features.

This study is not without limitations. A limited number of gene polymorphisms were tested because of technical limitations. Moreover, all our patients were taking antihypertensive medication and some were taking other drugs with vascular effects. The influence of multiple treatments on the assessed parameters as well as on the observed associations cannot be evaluated reliably. Finally, the study power was not enough to detect gene-gene interactions.

In conclusion, no significant association was found of any of the 50 studied gene polymorphisms involved in vascular alterations (BP regulation, lipid and homocysteine metabolism, thrombosis and inflammation) with cognitive impairment on the one hand, and with WMH on the other hand in our population of elderly hypertensive treated patients presenting with SMC, but free of dementia. This suggests that we could exclude an important role of these candidate genes concerning the asso-

ciation between such arterial factors and cognitive decline or WMH, at least at this early stage of cognitive decline.

Perspectives

We are currently planning a longitudinal follow-up of the study participants, applying the same design of integrated vascular, MRI and cognitive assessments. This may enable us to identify gene polymorphisms associated with the evolution of cognitive function and leukoaraiosis in this population at high risk of dementia over a period of at least 5 years. Moreover, ongoing genome-wide association studies could also help us to focus on some new interesting variants. As with other presumably multifactorial diseases, genome-wide association studies may indeed be helpful, but they need to gather data from thousands of patients, which has not been achievable for such a highly selected population including extensive phenotyping.

Acknowledgments

This study was granted by the French Hypertension Society, the Bayer Research Foundation and the Association de Recherche et d'Information en Cardiologie (ARISC). We are grateful to Roche Molecular Systems Inc., Alameda, Calif., USA, for supporting the multiplex assay. We thank Prof. Simon Thornton (Inserm U961) for his very pertinent comments on this paper and for linguistic corrections.

References

- 1 Grober E, Lipton RB, Hall C, Crystal H: Memory impairment on free and cued selective reminding predicts dementia. *Neurology* 2000;54:827–832.
- 2 Borenstein AR, Mortimer JA, Ding D, Schellenberg GD, Decarli C, Zhao Q, Copenhaver C, Guo Q, Chu S, Galasko D, Salmon DP, Dai Q, Wu Y, Petersen R, Hong Z: Effects of apolipoprotein E- ϵ 4 and - ϵ 2 in amnesic mild cognitive impairment and dementia in Shanghai: SCOBHI-P. *Am J Alzheimers Dis Other Dement* 2010;25:233–238.
- 3 Boyle PA, Buchman AS, Wilson RS, Kelly JF, Bennett DA: The apoe ϵ 4 allele is associated with incident mild cognitive impairment among community-dwelling older persons. *Neuroepidemiology* 2010;34:43–49.
- 4 Elias MF, Wolf PA, D'Agostino RB, Cobb J, White LR: Untreated blood pressure level is inversely related to cognitive functioning: the Framingham Study. *Am J Epidemiol* 1993;138:353–364.
- 5 Launer LJ, Ross GW, Petrovitch H, Masaki K, Foley D, White LR, Havlik RJ: Midlife blood pressure and dementia: the Honolulu-Asia Aging Study. *Neurobiol Aging* 2000;21:49–55.
- 6 Gorgone G, Ursini F, Altamura C, Bressi F, Tombini M, Curcio G, Chiovenda P, Squitti R, Silvestrini M, Ientile R, Pisani F, Rossini PM, Vernieri F: Hyperhomocysteinemia, intima-media thickness and C677T MTHFR gene polymorphism: a correlation study in patients with cognitive impairment. *Atherosclerosis* 2009;206:309–313.
- 7 Kuo HK, Chen CY, Liu HM, Yen CJ, Chang KJ, Chang CC, Yu YH, Lin LY, Hwang JJ: Metabolic risks, white matter hyperintensities, and arterial stiffness in high-functioning healthy adults. *Int J Cardiol* 2010;143:184–191.
- 8 Mosley TH Jr, Knopman DS, Catellier DJ, Bryan N, Hutchinson RG, Grothues CA, Folsom AR, Cooper LS, Burke GL, Liao D, Szklo M: Cerebral MRI findings and cognitive functioning: the Atherosclerosis Risk in Communities Study. *Neurology* 2005;64:2056–2062.
- 9 Sierra C, de la Sierra A, Salameo M, Sobrino J, Gomez-Angelats E, Coca A: Silent cerebral white matter lesions and cognitive function in middle-aged essential hypertensive patients. *Am J Hypertens* 2004;17:529–534.
- 10 Kearney-Schwartz A, Rossignol P, Bracard S, Felblinger J, Fay R, Boivin JM, Lecompte T, Lacolley P, Benetos A, Zannad F: Vascular structure and function is correlated to cognitive performance and white matter hyperintensities in older hypertensive patients with subjective memory complaints. *Stroke* 2009;40:1229–1236.

- 11 Marteau JB, Sass C, Pfister M, Lambert D, Noyer-Weidner M, Visvikis S: The Leu-554Phe polymorphism in the E-selectin gene is associated with blood pressure in overweight people. *J Hypertens* 2004;22:305–311.
- 12 Sass C, Cheng S, Siest G, Visvikis S: Genetic influences on blood pressure within the Stanislas cohort. *J Hypertens* 2004;22:297–304.
- 13 Awad IA, Spetzler RF, Hodak JA, Awad CA, Carey R: Incidental subcortical lesions identified on magnetic resonance imaging in the elderly. 1. Correlation with age and cerebrovascular risk factors. *Stroke* 1986;17:1084–1089.
- 14 Hassan A, Lansbury A, Catto AJ, Guthrie A, Spencer J, Craven C, Grant PJ, Bamford JM: Angiotensin-converting enzyme insertion/deletion genotype is associated with leukoaraiosis in lacunar syndromes. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2002;72:343–346.
- 15 Cerhan JR, Folsom AR, Mortimer JA, Shahar E, Knopman DS, McGovern PG, Hays MA, Crum LD, Heiss G: Correlates of cognitive function in middle-aged adults. Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study Investigators. *Gerontology* 1998;44:95–105.
- 16 Farrer LA, Cupples LA, Haines JL, Hyman B, Kukull WA, Mayeux R, Myers RH, Pericak-Vance MA, Risch N, van Duijn CM: Effects of age, sex, and ethnicity on the association between apolipoprotein E genotype and Alzheimer disease: a meta-analysis. APOE and Alzheimer Disease Meta-Analysis Consortium. *JAMA* 1997;278:1349–1356.
- 17 Caselli RJ, Dueck AC, Osborne D, Sabbagh MN, Connor DJ, Ahern GL, Baxter LC, Rapcsak SZ, Shi J, Woodruff BK, Locke DE, Snyder CH, Alexander GE, Rademakers R, Reiman EM: Longitudinal modeling of age-related memory decline and the APOE ϵ 4 effect. *N Engl J Med* 2009;361:255–263.
- 18 Coraci IS, Husemann J, Berman JW, Hulette C, Dufour JH, Campanella GK, Luster AD, Silverstein SC, El-Khoury JB: CD36, a class B scavenger receptor, is expressed on microglia in Alzheimer's disease brains and can mediate production of reactive oxygen species in response to β -amyloid fibrils. *Am J Pathol* 2002;160:101–112.
- 19 Krabbe KS, Mortensen EL, Avlund K, Pilegaard H, Christiansen L, Pedersen AN, Schroll M, Jørgensen T, Pedersen BK, Bruunsgaard H: Genetic priming of a proinflammatory profile predicts low IQ in octogenarians. *Neurobiol Aging* 2009;30:769–781.
- 20 Watanabe T, Koba S, Kawamura M, Itokawa M, Idei T, Nakagawa Y, Iguchi T, Katagiri T: Small dense low-density lipoprotein and carotid atherosclerosis in relation to vascular dementia. *Metabolism* 2004;53:476–482.
- 21 Derouesné C: Dementia: diagnostic problems (in French). *Thérapie* 1993;48:189–193.
- 22 Wafar G, Rossignol P, Kearney-Schwartz A, Fay R, Bracard S, Felblinger J, Boivin JM, Lacolley P, Zannad F, Benetos A: Use of calcium channel blockers is associated with better cognitive performance in older hypertensive patients with subjective memory complaints. *J Hypertens* 2010, E-pub ahead of print.
- 23 Folstein MF, Folstein SE, McHugh PR: 'Mini-Mental State': a practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *J Psychiatr Res* 1975;12:189–198.
- 24 Verdelho A, Henon H, Lebert F, Pasquier F, Leys D: Depressive symptoms after stroke and relationship with dementia: a three-year follow-up study. *Neurology* 2004;62:905–911.
- 25 O'Brien E, Asmar R, Beilin L, Imai Y, Mancia G, Mengden T, Myers M, Padfield P, Palatini P, Parati G, Pickering T, Redon J, Staessen J, Stergiou G, Verdecchia P: Practice guidelines of the European Society of Hypertension for clinic, ambulatory and self blood pressure measurement. *J Hypertens* 2005;23:697–701.
- 26 Grober E, Buschke H, Crystal H, Bang S, Dresner R: Screening for dementia by memory testing. *Neurology* 1988;38:900–903.
- 27 Spreen O, Benton AL: Simulation of mental deficiency on a visual memory test. *Am J Ment Defic* 1963;67:909–913.
- 28 Peigneux P, van der Linden M, Andres-Benito P, Sadzot B, Franck G, Salmon E: A neuropsychological and functional brain imaging study of visuo-imitative apraxia (in French). *Rev Neurol (Paris)* 2000;156:459–472.
- 29 Spreen O: Prognosis of learning disability. *J Consult Clin Psychol* 1988;56:836–842.
- 30 Cheng S, Grow MA, Pallaud C, Klitz W, Erlich HA, Visvikis S, Chen JJ, Pullinger CR, Malloy MJ, Siest G, Kane JP: A multilocus genotyping assay for candidate markers of cardiovascular disease risk. *Genome Res* 1999;9:936–949.
- 31 Kerber KA, Whitman GT, Brown DL, Baloh RW: Increased risk of death in community-dwelling older people with white matter hyperintensities on MRI. *J Neurol Sci* 2006;250:33–38.
- 32 Hachinski VC, Potter P, Merskey H: Leukoaraiosis: an ancient term for a new problem. *Can J Neurol Sci* 1986;13:533–534.
- 33 Fazekas F, Chawluk JB, Alavi A, Hurtig HI, Zimmerman RA: MR signal abnormalities at 1.5 T in Alzheimer's dementia and normal aging. *AJR Am J Roentgenol* 1987;149:351–356.
- 34 Cusi D, Barlassina C, Azzani T, Casari G, Citterio L, Devoto M, Glorioso N, Lanzani C, Manunta P, Righetti M, Rivera R, Stella P, Troffa C, Zagato L, Bianchi G: Polymorphisms of α -adducin and salt sensitivity in patients with essential hypertension. *Lancet* 1997;349:1353–1357.
- 35 Bray MS, Li L, Turner ST, Kardia SL, Boerwinkle E: Association and linkage analysis of the α -adducin gene and blood pressure. *Am J Hypertens* 2000;13:699–703.
- 36 Shin MH, Chung EK, Kim HN, Park KS, Nam HS, Kweon SS, Choi JS: -Adducin Gly-460Trp polymorphism and essential hypertension in Korea. *J Korean Med Sci* 2004;19:812–814.
- 37 Larson N, Hutchinson R, Boerwinkle E: Lack of association of 3 functional gene variants with hypertension in African Americans. *Hypertension* 2000;35:1297–1300.
- 38 Bartres-Faz D, Junqué C, López-Alomar A, Valveny N, Moral P, Casamayor R, Salido A, Bel C, Clemente IC: Neuropsychological and genetic differences between age-associated memory impairment and mild cognitive impairment entities. *J Am Geriatr Soc* 2001;49:985–990.
- 39 Soininen HS, Riekkinen PJ Sr: Apolipoprotein E, memory and Alzheimer's disease. *Trends Neurosci* 1996;19:224–228.
- 40 Persson J, Lind J, Larsson A, Ingvar M, Cruts M, van Broeckhoven C, Adolfsson R, Nilsson LG, Nyberg L: Altered brain white matter integrity in healthy carriers of the APOE ϵ 4 allele: a risk for AD? *Neurology* 2006;66:1029–1033.

II.3.3. Article III. Relation entre le déclin cognitif sur un an, et le niveau de la rigidité aortique. Etude longitudinale chez des sujets institutionnalisés de plus de 80 ans

Benetos A, Wafar G, Hanon O, Salvi P, Fantin F, Toulza O, Manckoundia P, Agnoletti D, Labat C, Gautier S. Pulse Wave Velocity is Associated With 1-Year Cognitive Decline in the Elderly Older than 80 Years: the PARTAGE Study. J Am Med Dir Assoc. 2011.

RESUME

Introduction : Plusieurs études ont montré l'importance des facteurs de risque cardio-vasculaire dans l'apparition et l'évolution des troubles cognitifs et des démences, en particulier chez les personnes très âgées.

Objectif : L'objectif de l'analyse de cette cohorte longitudinale, suivie sur un an, était d'évaluer l'influence de la rigidité artérielle sur le déclin cognitif chez des sujets institutionnalisés âgés de plus de 80 ans.

Méthodes: 873 sujets (79% de femmes) ont été inclus dans cette analyse longitudinale. Le Mini-Mental-Status-Examination (MMSE) a été évalué lors de la visite initiale et à la fin du suivi. La pression artérielle et la vélocité de l'onde du pouls (VOP) carotido-fémorale, indicateur de la rigidité aortique, ont été mesurées lors de la visite initiale. La population a été classifiée en tertiles par rapport au niveau initial de la VOP.

Résultats : Entre les deux visites, la baisse du MMSE était de $1,42 \pm 3,60$ dans le 1^{er} tertile, $1,78 \pm 4,08$ dans le 2^{ème} tertile et $2,20 \pm 3,98$ dans le 3^{ème} tertile de VOP ($p < 0,03$) après ajustement à la PA moyenne (PAM), l'âge, le niveau d'éducation et le score l'ADL. Nous n'avons pas retrouvé d'association entre la PAM initiale et le déclin du MMSE.

Conclusion: Chez des patients institutionnalisés de plus de 80 ans, plus la rigidité aortique est élevée, et plus le déclin des fonctions cognitives est prononcé. Ces résultats suggèrent que la mesure de la VOP, méthode non invasive, validée pour l'évaluation de la rigidité artérielle, peut contribuer à la détection des patients âgés à haut risque de déclin cognitif.

Pulse Wave Velocity is Associated With 1-Year Cognitive Decline in the Elderly Older than 80 years: the PARTAGE Study

Athanase Benetos, MD, PhD, Ghassan Watfa, MD, MSc, Olivier Hanon, MD, PhD, Paolo Salvi, MD, PhD, Francesco Fantin, MD, Olivier Toulza, MD, Patrick Manckoundia, MD, PhD, Davide Agnoletti, MD, Carlos Labat, BSc, and Sylvie Gautier, MD on Behalf Of The PARTAGE Study Investigators

Objectives: Studies have shown the importance of vascular risk factors in the pathogenesis and evolution of cognitive disorders and dementia especially among the very elderly. The aim of the present longitudinal 1-year cohort analysis was to evaluate the influence of arterial stiffness on cognitive decline in institutionalized subjects older than 80 years.

Design: Longitudinal study.

Setting: Nursing homes in France and Italy.

Participants: A total of 873 subjects (79% women), aged 87 ± 5 years were included in this longitudinal analysis from the PARTAGE cohort.

Measurements: All completed the Mini-Mental Status Examination (MMSE) on the 2 visits over 1 year and underwent a measurement of carotid-femoral pulse wave velocity (PWV), an indicator of aortic stiffness. Clinical and 3-day self-measurements of blood

pressure (BP) and activities of daily living (ADL) were evaluated at baseline visit.

Results: According to PWV tertiles and after adjustment for baseline MMSE, mean BP (MBP), age, education level, and ADL, Δ MMSE was -1.42 ± 3.60 in the first tertile, -1.78 ± 4.08 in the second tertile, and -2.20 ± 3.98 in the third tertile ($P < .03$). Similar analyses with self-measured MBP failed to show any association between BP on MMSE decline.

Conclusion: This 1-year longitudinal study in institutionalized patients older than 80 years shows that the higher the aortic stiffness, the more pronounced the decline in cognitive function. These results point out the interest of measuring PWV, a simple noninvasive and validated method for arterial stiffness assessment, to detect high-risk patients for cognitive decline. (J Am Med Dir Assoc 2010; ■: ■-■)

Keywords: Aging; pulse wave velocity; cognitive decline; Mini-Mental Status Examination

Department of Geriatrics and Memory Clinique (CMRR), University Hospital of Nancy, Nancy, France (A.B., G.W., P.S., S.G.); Inserm, U961, Faculty of Medicine, Nancy, France (A.B., G.W., C.L.); Nancy University Hospital & Inserm Clinical Investigation Centre, CIC 9501, France (A.B., G.W.); Department of Geriatrics, University Descartes Paris 5, Broca Hospital, AP-HP, France (O.H.); Department of Internal Medicine, University of Bologna, Bologna, Italy (P.S., D.A.); Department of Geriatrics, University Hospital of Toulouse, Toulouse, France (O.T.); Department of Geriatrics, University Hospital of Dijon, Dijon, France (P.M.); Department of Geriatrics, University Hospital of Verona, Verona, Italy (F.F.).

The primary financial support of this study came from the National PHRC (Programme Hospitalier de Recherche Clinique) of the French Ministry of Health. Registered by the AFSSAPS (Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé—French Health Products Safety Agency), protocol number: 2006-A00042-49.

This study has been released on ClinicalTrials.gov under the identifier: NCT00901355.

Supplementary financial support was provided by the French Society of Hypertension, the "Fondation pour la Recherche Médicale," and Boehringer Ingelheim France Laboratories.

This study has also been supported by the National Institutes of Health (INSERM) and the PPF (Plan Pluri-Formation) of the French Ministry of Research.

P.S. is a consultant for DiaTecne s.r.l. (Milan, Italy). A.B. has received in the past honoraria or travel grants from companies being involved in the

fabrication of devices measuring blood pressure and arterial stiffness (Colson, Diatecne srl, Omron, Kontron). The remaining authors report no conflicts.

Address correspondence to Athanase Benetos, MD, PhD, Department of Geriatrics, University Hospital of Nancy, 54511, Vandoeuvre-lès-Nancy, France. E-mail: a.benetos@chu-nancy.fr

The PARTAGE Study investigators (in addition to the authors):

- Department of Geriatrics, University Hospital of Nancy, France: Severine Buatois, PhD; Rachida Benelmir, MD; Anna Kearney-Schwartz, MD; Christine Perret-Guillaume, MD; Alexandra Zervoudaki, MD.
- Department of Internal Medicine, Bufalini Hospital, Cesena, Italy: Sara Capelli, PhD; Francesca Vaienti, PhD.
- Department of Geriatrics, Broca Hospital, Paris, France: Delphine Dubail, MD.
- Department of Public Health, University Hospital of Nancy, France: Francis Guillemin, MD.
- Department of Geriatrics, University Hospital of Verona, Verona, Italy: Francesca Marino, MD; Filippo Valbusa, MD; Mauro Zamboni, MD, PhD.
- Department of Geriatrics, University Hospital of Toulouse, Toulouse, France: Yves Rolland, MD, PhD.

Copyright ©2010 American Medical Directors Association

DOI:10.1016/j.jamda.2010.08.014

The population in industrialized countries is aging, thereby inducing a greater incidence of dementia. The prevention of these diseases has thus become a major public health challenge. Studies have shown the importance of cardiovascular risk factors in the pathogenesis of memory impairment and dementia especially among the very elderly. Indeed, vascular dementia (VaD) and Alzheimer's disease (AD) have been associated with cerebrovascular diseases, hypertension, diabetes, high cholesterol, and atherosclerosis.^{1,2} Epidemiological and clinical data have highlighted a link between the vascular component and AD.³ Indeed, more than one third of patients with AD exhibit cerebrovascular disorders, and approximately one third of patients with a prior diagnosis of VaD were ultimately diagnosed with AD upon anatomopathological analysis at autopsy.⁴

Aging is accompanied by a gradual remodeling affecting both cardiac and arterial walls. Stiffness of the large arteries is the main phenotype of arterial aging, and thus imposes that age be taken into account in any study on arterial stiffness. The latter is responsible for reduced distensibility and an amplification of arterial wave reflections.

The involvement of arterial stiffness has been evoked in cognitive impairment, VaD and in AD. Previous cross-sectional studies addressing the issue of the relationship between arterial stiffness and cognitive function in a population of elderly subjects reporting memory loss have indicated a significant association between high pulse wave velocity (PWV) values and alterations in cognitive function.⁵⁻⁷

In a longitudinal study, Scuteri et al⁸ showed that arterial stiffness, as measured by carotid femoral PWV (cf PWV), is an independent predictor of longitudinal changes in cognitive function in elderly patients. In a larger cohort of 582 middle-aged patients (54.3 years), PWV was associated with a cognitive decline over an 11-year follow-up period.⁹ However, this association was not found in the Rotterdam study, with a follow-up of 5 years in 2767 subjects with a mean age of 70.7 ± 6 years.¹⁰ To date, nearly all of the investigative studies have primarily targeted middle-aged and elderly populations, whereas none are currently designed to examine whether arterial stiffness is independently associated with cognitive decline in an institutionalized population older than 80 years.

The PARTAGE study is a multicenter study aimed at determining the predictive value of peripheral and central blood pressure (BP) and arterial stiffness estimated by PWV and pulse wave analysis on overall mortality, major cardiovascular events, and cognitive decline in a large population of subjects aged 80 and older living in nursing homes.¹¹ The aim of the present analysis was to evaluate the influence of PWV levels in 1-year cognitive decline in these very elderly subjects (mean age 88 ± 5 years).

METHODS

This longitudinal multicenter "PARTAGE" study included prospectively 1130 elderly subjects aged older than 80 years living in nursing homes. The protocol, described elsewhere,¹¹ was approved by local research ethics committees. Participants were included if they were aged 80 years

and older, were institutionalized, and if they signed the informed consent form. Moreover, the relatives and/or the physician of the patient were informed of the study and gave their approval.

Persons were excluded if they had severe dementia, a low level of autonomy, or were under guardianship or "a measure of legal protection."

Clinical Data Collection and Blood Pressure Measurement

Clinical data collections were performed by collecting extensive information during face-to-face interviews and from the patients' medical records (for details see Benetos et al¹¹). Education level was classified into 4 categories: (1) if none, (2) if low (ie, elementary school education), (3) if medium (ie, lower-level general education, intermediate-level general education), and (4) if high (ie, higher-level general education and university).

Peripheral BP and heart rate (HR) were measured at the level of the brachial artery using the validated Colson DM H-20 automated oscillometric device (Dupont Médical, Frouard, France). The mid-arm circumference was measured and the cuff width adapted accordingly. A condition of arterial hypertension was defined by 3-day self-measurements of BP. These were performed following the "rule of 3"¹²: 3 measurements with intervals of 1 minute, morning and evening during 3 consecutive days. The PARTAGE study has already demonstrated that elderly subjects living in nursing homes present hemodynamic characteristics that are different from those described in community-living elderly populations, in that no significant differences were found between clinical and self-measured BP in the elderly population residing in nursing homes.¹¹

Pulse Wave Velocity Assessment

The PulsePen device (DiaTecne srl, Milan, Italy), was used for measuring cf PWV.^{13,14} The procedure has been detailed previously.¹⁴

Cognitive and Functional Status and Follow-up

Cognitive status was assessed using the Mini-Mental-Status-Examination (MMSE) a validated and reliable tool to address cognitive function (maximum score = 30 points).¹⁵ Subjects with MMSE less than 12/30 were excluded. Functional status was evaluated by the Katz Index of Independence in Activities of Daily Living (ADL).¹⁶ The Katz ADL scale assesses basic personal activities of daily living and ranks adequacy of performance in 6 functions (bathing, dressing, going to the toilet, transferring from bed to chair, continence, and feeding). Dependency in each personal activity was evaluated and a summary score ranging from 0 (dependence in all activities) to 6 (independency in all activities) was obtained. Subjects with ADL ≤ 2 were excluded.

After 1 year, MMSE was measured again. Changes in cognitive function were expressed as the difference between the second and the first MMSE measurements. A total of 873 subjects completed the cognitive assessment for 2 visits and

therefore were available for potential inclusion in the MMSE evolution analysis.

Statistical Analysis

Descriptive values are expressed as means $\pm$ SD or number and percentages. A *P* value less than .05 was regarded as statistically significant. Statistical analyses were performed using the NCSS 2000 statistical software package (Kaysville, Utah). The influence of cf PWV on MMSE changes was evaluated by dividing the study population in PWV tertiles, each composed of 291 subjects.

Comparisons between PWV tertiles were performed using a trend ANOVA analysis. Univariate correlations were realized with Pearson parametric analysis.

RESULTS

Among the 1130 subjects recruited in the PARTAGE study (see Benetos et al¹¹), 257 were not included in the present longitudinal analysis for the following reasons: 123 were deceased, 47 had missing data for PWV values, 17 because of patient refusal for the MMSE, 19 for inability to evaluate the MMSE because of a bad health state, and 51 were lost to follow-up because of nursing home change and loss of information. Therefore, this study was composed of 873 subjects who completed the cognitive assessment for 2 visits: 179 males (mean age: 87 ± 5 years) and 694 females (mean age: 88 ± 5 years).

According to baseline characteristics, the individuals not included in the current analysis had lower baseline scores for MMSE (21.8 ± 5.4 versus 23.7 ± 5 ; $P < .0001$) and ADLs (4.7 ± 1.1 versus 5 ± 1 ; $P < .0001$), were more likely to be men (28% versus 20%; $P = .007$) and to have a history of dementia (25% versus 16%; $P = .001$), as well as showed lower levels for SBP and MBP (135.2 ± 18.1 versus 138.5 ± 16.8 mm Hg; $P = .007$ and 93.3 ± 11.6 mm Hg versus 95.0 ± 10.4 ; $P = .03$ respectively), whereas these individuals did not differ significantly in terms of PWV (14.1 ± 5.3 versus 14.4 ± 0.5 m/s; $P = .50$), education level, or other studied parameters as compared with our study population.

The baseline clinical, hemodynamic, and anthropometric parameter characteristics of the included subjects as well as their cognitive and functional status are reported according to PWV tertiles in Table 1. As expected, subjects with higher PWV values were older, more likely to be men, and accumulated several associated risk factors: history of hypertension and diabetes. Unadjusted values of HR and BP levels increased progressively from the lowest PWV to the highest. Other parameters did not differ significantly among groups.

For the study population as a whole, second visit MMSE was 21.9 ± 5.9 and Δ MMSE was -1.80 ± 3.90 . Univariate significant correlates of the Δ MMSE were age, education level, baseline MMSE, and ADL score ($r = -0.109$, $P = .001$; $r = -0.089$, $P = .009$; $r = -0.118$, $P < .001$; $r = 0.094$, $P = .005$; and $r = -0.095$ respectively).

Table 1. Baseline Characteristics of the Study Population according to Tertiles of PWV

Characteristic	Total	PWV Tertiles			P (ANOVA)
		1	2	3	
N	873	291	291	291	
Age, y	88 ± 5	87 ± 5	88 ± 5	88 ± 5	.04
Women, %	79%	83%	79%	76%	.04
BMI, kg/m ²	25.8 ± 4.5	25.0 ± 4.3	26.0 ± 4.6	26.3 ± 4.5	.59
Baseline MMSE	23.7 ± 4.9	23.7 ± 5.1	23.9 ± 4.7	23.5 ± 5.0	.59
Education level (high)	12%	12%	12%	10%	.35
ADL Katz index (0–6)	5.05 ± 1.01	5.11 ± 1.01	4.99 ± 1.04	5.04 ± 0.98	.45
Charlson index	5.94 ± 1.83	5.77 ± 1.73	5.99 ± 1.90	6.07 ± 1.85	.06
Diabetes, %	15%	7%	18%	21%	<.0001
History of hypertension, %	73%	66%	73%	80%	.0003
Treated for hypertension, %	95%	94%	97%	94%	.65
Dyslipidemia, %	26%	26%	29%	22%	.26
Smoking (past and current)	20%	20%	18%	23%	.34
History of dementia, %	16%	17%	14%	18%	.65
Parkinson's disease, %	3%	5%	2%	2%	.06
Epilepsy, %	3%	4%	2%	3%	.46
Depression, %	30%	29%	29%	33%	.40
Other CNS disease, %	9%	8%	9%	10%	.47
Total number of drugs	7.0 ± 3.4	6.9 ± 3.4	7.0 ± 3.4	7.1 ± 3.4	.45
Number of anti-HT drugs	2.2 ± 1.1	2.1 ± 1.1	2.2 ± 1.1	2.2 ± 1.2	.22
SBP, mm Hg*	138 ± 17	133 ± 16	139 ± 16	143 ± 18	<.0001
DBP, mm Hg*	73 ± 9	72 ± 9	73 ± 8	74 ± 9	.002
MBP, mm Hg	95 ± 10	92 ± 10	95 ± 10	97 ± 11	<.0001
PP, mm Hg*	65 ± 13	61 ± 12	66 ± 12	69 ± 14	<.0001
HR, bpm*	74 ± 11	73 ± 10	73 ± 10	76 ± 12	<.002
cf PWV, m/s	14.4 ± 5.0	9.6 ± 1.3	13.5 ± 1.2	20.1 ± 4.0	—

Data are expressed as mean $\pm$ SD and number (n)/percentage (%).

ADL, activity of daily living; ANOVA, analysis of variance; BMI, body mass index; cf PWV, carotid femoral pulse wave velocity; CNS, central nervous system; HR, heart rate; HT, hypertension; MMSE, Mini Mental Status Examination; PP, pulse pressure; SBP/DBP/MBP, systolic/diastolic/mean blood pressure.

*Values represent the means of morning and evening self-measurements realized during 3 consecutive days

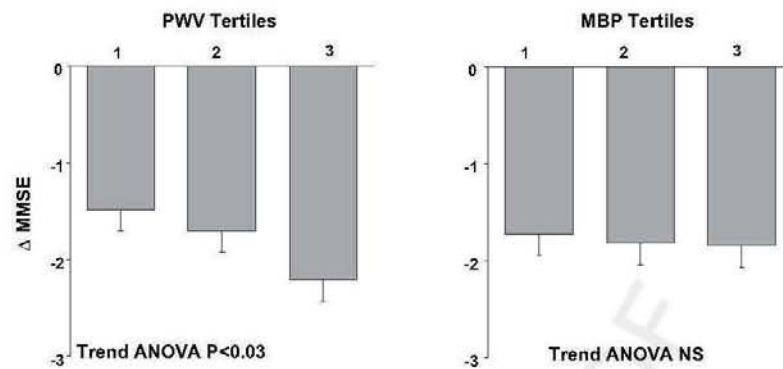


Fig. 1. Adjusted changes in MMSE over a period of 1 year according to PWV (left panel) or self-measurement MBP (right panel) tertiles.

*Comparisons were performed using trend ANOVA analysis.

Data were adjusted for MBP (only for the relationship between PWV and Δ MMSE), age, education level, ADL, and baseline MMSE.

NS, not significant; MMSE, Mini Mental Status Examination; ADL, activity of daily living; MBP, mean blood pressure; PWV, pulse wave velocity.

Therefore, the corresponding adjustments, aside from MBP, were used to test the association between PWV tertiles and Δ MMSE.

Figure 1 displays the relationship of PWV and MBP tertiles with Δ MMSE after adjustment for MBP (only for the relationship between PWV and Δ MMSE), age, education level, ADL, and baseline MMSE. With regard to PWV (left panel), Δ MMSE was -1.42 ± 3.60 in the first tertile, -1.78 ± 4.08 in the second tertile, and -2.20 ± 3.98 in the third tertile ($P < .03$). Additional adjustments for presence of cardiovascular disease or use of antihypertensive drugs did not change the results (data not shown). The presence of an association between PWV and MMSE decline over 1 year was also shown in a linear analysis by using absolute values of PWV and Δ MMSE ($r = -0.095$, $P = .005$).

The more pronounced decrease in MMSE in the higher PWV tertiles led to lower MMSE values during the second visit (22.3 ± 5.8 ; 22.1 ± 5.9 ; 21.3 ± 6.0 ; in the first, second, and third PWV tertiles respectively $P < .05$).

By contrast, no association was found between tertiles of self-measured MBP and MMSE decline ($P = .97$, Figure 1 right panel). Similar results were observed when tertiles of clinical instead of self-measured MBP were also used or when absolute values of SBP, DBP, MBP, or PP were used (data not shown).

DISCUSSION

The present study results show that, regardless of the initial level of global cognitive function, arterial stiffness measured by cf PWV predicted cognitive decline as assessed by MMSE, beyond that predicted by age, education level, blood pressure, and functional status as evaluated by ADL, in a large population of institutionalized subjects aged 80 and older. Interestingly, PWV but not BP was associated with cognitive decline.

These data corroborate and extend results obtained in other populations.^{8,9} Indeed, this study included very

elderly institutionalized patients, which, to the best of our knowledge, had never been specifically assessed with regard to large artery stiffness influence on cognitive decline. In a subset of 582 or fewer participants, derived from the Baltimore Longitudinal Study of Aging (a prospective study of community-dwelling volunteers) who underwent a single baseline assessment of pulse wave velocity and subsequent cognitive assessment on 1 to 6 occasions over the next 11 years, Waldstein et al⁹ observed that persons (mean age: 54.3 years) with higher baseline PWV exhibited prospective decline on tests of verbal learning and delayed recall, nonverbal memory, and cognitive screening measurement ($P < .05$).

Moreover, in a study of 102 older individuals (mean age 79 ± 6 years) reporting memory problems, cf PWV was the single strongest predictor of cognitive decline with an average 0.74 per-year decrease in MMSE score ($P < .001$), after a median follow-up of 12 months.⁸

However, any interpretation of the above reported result should be made with caution given the small subgroup size (102 subjects), which may lead to an underpowered statistical comparison.

In contrast, in the Rotterdam Study, an ongoing prospective population-based cohort study since 1990 in which PWV was measured during the third examination (1997–1999) and cognitive function assessed during the third and fourth examination (2002–2004) with a neuropsychological test battery including MMSE, resulting data showed no associations between PWV and cognitive decline or risk of dementia after adjustment for cardiovascular factors among the 2767 (mean age 70.7 ± 6) subjects without evidence of dementia at baseline.¹⁰ However, the differences in tested population features (community living versus institutionalized) may contribute to explaining the discrepancy between the above reported results and those obtained herein.

In the present study, no association was found between BP and cognitive decline ($r = -0.005$, $P = .88$). Conversely, in

a community-based longitudinal study, higher PP was associated with increased risk for AD and dementia in a population of 1270 subjects aged 75 years or older who were clinically examined twice over 6 years.¹⁷ However, PWV was not assessed in that study. Differences in population study and end points (MMSE decline versus dementia with the use of the criteria of the Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders) may contribute to these differing results. Indeed, in the present study, the absence of any association between BP and cognitive decline was found using both standard clinical and multiple self-measurements during a period of 3 days.¹¹ The absence of more pronounced cognitive decline in patients with higher BP levels could be related to the fact that in this very advanced age, low BP levels are often the result of comorbidities and therefore patients with low BP may be among the most frail patients. These results underscore the possible usefulness, of using other measurements than BP to assess the risk of vascular damage.

However, in keeping with present study results, reported data suggest that arterial stiffness, as assessed by PWV, can predict cognitive decline in institutionalized patients aged 80 and older. Although the pattern of the present study does not allow us to ascertain causality, there are several direct and indirect mechanisms whereby increased arterial stiffness may be linked to diminished cognitive function. For example, a recent study showed that arterial stiffness assessed by PWV was correlated with the severity of white matter hyperintensities (WMH) in elderly subjects.¹⁸ In another cross-sectional study, arterial stiffness assessed by Δ was found to be independently associated with WMH severity.⁶ Although not assessed in the present study, WMH have been shown to be associated with cognitive impairment.^{19,20} It has been thus suggested that arterial stiffness may influence microvascular disease and cerebral perfusion.²¹

The absence of an association between baseline MMSE and PWV, in the present study, could be explained by an inclusion bias; indeed, an MMSE less than 12 was a noninclusion criterion and therefore no such patient was present in the first visit. By contrast, an association was observed between PWV and Δ MMSE as well as between PWV and MMSE during the last visit.

Certain limitations in this study should be noted. Cognitive function was assessed solely by MMSE without a comprehensive battery of neuropsychological tests, which incorporated only global cognitive status but not several domains of cognitive function. The short follow-up duration can also be considered as a limitation. However, in very old patients with high rates of morbidity and mortality, assessment of determinants of short-term 1-year cognitive decline is nevertheless of relevant interest.

CONCLUSION AND PERSPECTIVES

In a large population of very elderly institutionalized patients, PWV, a noninvasive marker of arterial stiffness, was found associated with a decline in cognitive function. PWV may be useful in evaluating the risk of cognitive decline in very elderly individuals. Finally, the present longitudinal study reinforces the concept of the importance of a vascular

component in the development and the evolution of cognitive disorders and dementia and could therefore contribute to the development of preventive strategies in the field of accelerated arterial aging.

ACKNOWLEDGMENTS

The study was conducted with the logistic support of the Center of Clinical Investigations (CIC), the Center of Clinical Epidemiology (CEC), and the Memory Clinique (CMRR) of the University Hospital of Nancy. We thank the Association of Physicians of Lorraine Area (AMCE-LOR), especially Jacques Creusot, for their major contribution to the success of the PARTAGE study.

The authors thank all the directors, physicians, and especially the personnel of the 72 nursing homes for contributing to the realization of this study.

We also thank Mr. Pierre Pothier for language review and stimulating discussions.

REFERENCES

- Hofman A, Ott A, Breteler MM, et al. Atherosclerosis, apolipoprotein E, and prevalence of dementia and Alzheimer's disease in the Rotterdam Study. *Lancet* 1997;349:151–154.
- Seshadri S, Beiser A, Selhub J, et al. Plasma homocysteine as a risk factor for dementia and Alzheimer's disease. *N Engl J Med* 2002;346:476–483.
- Cassidy I, Topol E. Convergence of atherosclerosis and Alzheimer's disease: inflammation, cholesterol, and misfolded proteins. *Lancet* 2004;363:1139–1146.
- O'Brien JT, Erkinjuntti T, Reisberg B, et al. Vascular cognitive impairment. *Lancet Neurol* 2003;2:89–98.
- Hanon O, Haulon S, Lenoir H, et al. Relationship between arterial stiffness and cognitive function in elderly subjects with complaints of memory loss. *Stroke* 2005;36:2193–2197.
- Kearney-Schwartz A, Rossignol P, Bracard S, et al. Vascular structure and function is correlated to cognitive performance and white matter hyperintensities in older hypertensive patients with subjective memory complaints. *Stroke* 2009;40:1229–1236.
- Scuteri A, Brancati AM, Gianni W, et al. Arterial stiffness is an independent risk factor for cognitive impairment in the elderly: a pilot study. *J Hypertens* 2005;23:1211–1216.
- Scuteri A, Tesaro M, Appolloni S, et al. Arterial stiffness as an independent predictor of longitudinal changes in cognitive function in the older individual. *J Hypertens* 2007;25:1035–1040.
- Waldstein SR, Rice SC, Thayer JF, et al. Pulse pressure and pulse wave velocity are related to cognitive decline in the Baltimore Longitudinal Study of Aging. *Hypertension* 2008;51:99–104.
- Poels MM, van Oijen M, Mattace-Raso FU, et al. Arterial stiffness, cognitive decline, and risk of dementia: The Rotterdam study. *Stroke* 2007;38:888–892.
- Benetos A, Buatois S, Salvi P, et al. Blood pressure and pulse wave velocity values in the institutionalized elderly aged 80 and over: Baseline of the PARTAGE study. *J Hypertens* 2010;28:41–50.
- [Management of adults with essential hypertension—2005 update—guidelines]. *J Mal Vasc* 2006;31:16–33.
- Joly L, Perret-Guillaume C, Kearney-Schwartz A, et al. Pulse wave velocity assessment by external noninvasive devices and phase-contrast magnetic resonance imaging in the obese. *Hypertension* 2009;54:421–426.
- Salvi P, Lio G, Labat C, et al. Validation of a new non-invasive portable tonometer for determining arterial pressure wave and pulse wave velocity: The PulsePen device. *J Hypertens* 2004;22:2285–2293.
- Folstein MF, Folstein SE, McHugh PR. "Mini-mental state." A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *J Psychiatr Res* 1975;12:189–198.

16. Katz S, Ford AB, Moskowitz RW, et al. Studies of illness in the aged. The index of ADL: A standardized measure of biological and psychosocial function. *JAMA* 1963;185:914–919.
17. Qiu C, Winblad B, Viitanen M, Fratiglioni L. Pulse pressure and risk of Alzheimer disease in persons aged 75 years and older: A community-based, longitudinal study. *Stroke* 2003;34:594–599.
18. Kuo HK, Chen CY, Liu HM, et al. Metabolic risks, white matter hyperintensities, and arterial stiffness in high-functioning healthy adults. *Int J Cardiol* 2010;143:184–191.
19. Mosley TH Jr., Knopman DS, Catellier DJ, et al. Cerebral MRI findings and cognitive functioning: The Atherosclerosis Risk in Communities study. *Neurology* 2005;64:2056–2062.
20. Pantoni L, Garcia JH. Pathogenesis of leukoaraiosis: A review. *Stroke* 1997;28:652–659.
21. O'Rourke MF, Safar ME. Relationship between aortic stiffening and microvascular disease in brain and kidney: Cause and logic of therapy. *Hypertension* 2005;46:200–204.

UNCORRECTED PROOF

II.3.4. Article IV. Etude de l'évolution du test Mini-Mental State Examination chez les personnes âgées de 65 ans et plus vivant à domicile et sans démence

G. Watfa, N. Husson, S. Buatois, M. C. Laurain and P. Miget, Benetos A. Study of minimal state exam evolution in community-dwelling subjects aged over 60 years without dementia. J Nutr Health Aging. In press.

RESUME

Introduction : Le test Mini-Mental State Exam (MMSE), a été largement utilisé ces dernières années, et a été proposé dans le dépistage du déclin cognitif lors des évaluations gériatriques systématiques dans les centres de santé.

Objectif : L'objectif de cette étude longitudinale est d'évaluer l'influence de l'état psychologique et émotionnel sur le score MMSE et son évolution sur 4 ans chez une population âgée de plus de 60 ans, en bon état général de santé, sans démence et ayant bénéficié d'un bilan systématique de santé.

Patients et Méthodes : 687 sujets (âge moyen $65,6 \pm 5,07$ années) ayant réalisé le bilan de santé des seniors ont été inclus dans cette étude. Tous les sujets ont été suivis sur 4 ans et ont réalisé 2 visites durant cette période. Le score MMSE et les auto-questionnaires sur l'état émotionnel et psychologique ont été évalués à la visite initiale et à la visite de suivi.

Résultats : Les résultats montrent que les composantes majeures de la variance du score MMSE à la visite initiale sont représentées par le niveau d'éducation, la pratique régulière d'une activité physique, la nervosité et le désespoir. L'analyse multivariée a identifié 3 variables évaluées lors de la visite initiale qui prédisent indépendamment les changements annuels du MMSE : le score MMSE, le niveau d'éducation et la « difficulté dans les relations sociales ».

Conclusion : Le niveau d'éducation et plusieurs facteurs psychologiques peuvent influencer le score MMSE et son évolution au fil du temps chez des sujets vivants à domicile, âgés de plus de 60 ans et sans démence. Chez ces sujets, un score faible du MMSE ne permet pas de prédire le déclin cognitif durant la période de 4 ans. Par conséquent, la fiabilité du MMSE chez cette population est douteuse.

Les résultats ci-dessous ne sont pas publiés dans l'article mais font partie des objectifs de la présente thèse :

Il s'agit d'étudier la relation entre la pression artérielle et la fonction cognitive :

En utilisant la même procédure de l'article, nous avons comparé les valeurs de la PA entre les deux groupes classés selon leurs scores MMSE (≤ 25 et > 25). Il n'y a pas de différences significatives de la PAS, la PAD ou la PP mesurées lors de la visite initiale comme déjà reporté dans la Table 1 de l'article. Cependant, nous avons remarqué une tendance de différence significative de la PAM entre ces deux groupes (MMSE ≤ 25 : 97 ± 9 mmHg, MMSE > 25 : 95 ± 9 mmHg ; $p = 0,054$).

Nous avons classé les sujets selon leurs niveaux de PA selon les recommandations de l'European Society of Hypertension (ESH) 2007 (tableau 5).¹⁰¹. Ensuite, chez toute la population de l'étude et chez les sujets traités pour leur HTA et les sujets sans traitement antihypertensif de façon séparée, nous avons comparé l'effet de chaque classe de PA sur le score MMSE (tableau 6).

Tableau 5 : Classification des niveaux de pression artérielle (mmHg) selon les recommandations ESH 2007.

Catégorie	PAS		PAD
Optimale	< 120	et	< 80
Normale	120-129	et/ou	80-84
Normale haute	130-139	et/ou	85-89
HT grade 1	140-159	et/ou	90-99
HT grade 2	160-179	et/ou	100-109
HT grade 3	≥ 180	et/ou	≥ 110

Tableau 6 : Effet des différentes classes de l'HTA sur le score MMSE lors de la visite initiale.

Catégorie de PA	Tous les patients n=687		Patient sans Antihypertenseurs n=456		Patients avec Antihypertenseur n=222	
	%	MMSE	%	MMSE	%	MMSE
Optimale	11,2	28,18 ± 0,21	15,4	28,24 ± 0,22	3	27,57 ± 0,71
Normale	24,6	28,07 ± 0,14	25,7	28,09 ± 0,17	22,6	28,02 ± 0,26
Normale haute	24,6	27,76 ± 0,14	25,7	27,85 ± 0,17	22,6	27,62 ± 0,26
HTA grade 1	32,1	27,39 ± 0,13	26,1	27,33 ± 0,17	43,9	27,47 ± 0,19
HTA grade 2	5,7	27,64 ± 0,30	5,7	27,62 ± 0,37	5,7	27,69 ± 0,52
HTA grade 3	1,7	28,25 ± 0,54	1,5	28,00 ± 0,71	2,2	28,60 ± 0,84
P* ajouté à l'âge		0,766		0,482		0,504

*** : Analysé par le test d'ANOVA**

Il n'existe aucune différence significative du score MMSE entre les différentes classes de PA, que ce soit chez l'ensemble de la population ou chez les sujets traités pour l'HTA ou bien chez les sujets non traités.

Dans le modèle de régression multiple ayant étudié les déterminants du score MMSE de la visite initiale, aucun paramètre de la PA n'est significatif.

Même en forçant les paramètres de la pression artérielle (PAS, PAD, PAM et PP) de façon séquentielle, dans le modèle final de régression multiple ayant étudié les facteurs associés au changement annuel du MMSE, nous n'avons pas pu mettre en évidence une relation entre la pression artérielle et l'évolution de la fonction cognitive dans cette population (tableau 7).

Tableau 7 : Modèle de régression multiple obtenu à partir des données enregistrées lors de la visite initiale du bilan Senior visant à expliquer le changement annuel du MMSE et en introduisant les paramètres de la pression artérielle séquentiellement.

Variables	Coefficient de détermination	Coefficient de regression	P-Value
Intercepte		6,082 ± 0,395	< 0.0001
Score MMSE de la visite initiale	0,233	0,222 ± 0,041	< 0.0001
Niveau d'études (supérieur)	0,017	-0,153 ± 0,040	< 0.0001
« Relations difficiles avec l'entourage »	0,007	0,254± 0,102	0,013
PAS (mmHg)		-0,001 ± 0,002	0,430
PAD (mmHg)		-0,002 ± 0,003	0.563
PAM (mmHg)		-0,002 ± 0,003	0,439
PAD (mmHg)		-0,001 ± 0,002	0,565

Dans chapitre 1 de la discussion générale, nous avons discuté ces résultats et les résultats obtenus chez les populations des études ADELAHYDE et PARTAGE portant sur l'étude de la relation entre la PA et la fonction cognitive.

STUDY OF MINI-MENTAL STATE EXAM EVOLUTION IN COMMUNITY-DWELLING SUBJECTS AGED OVER 60 YEARS WITHOUT DEMENTIA

G. WATFA^{1,2,3}, N. HUSSON¹, S. BUATOIS¹, M.C. LAURAIN¹, P. MIGET⁴, A. BENETOS^{1,2,3}

1. Department of Geriatrics, Centre d'Etudes et de Formation sur le Vieillessement (EFORVIE) and Memory Clinic, Centre Mémoire de Ressources et de Recherche (CMRR), University Hospital of Nancy, Nancy, France; 2. Inserm, U961, Faculty of Medicine, Nancy, France; 3. Nancy University Hospital & Inserm Clinical Investigation Centre, CIC9501, France; 4. Preventive Medical Centre (CMP) Nancy, France. Corresponding author: Prof. Athanase Benetos, MD; PhD, Head of Department of Geriatrics, University Hospital of Nancy, 54500 Vandoeuvre lès Nancy, France. Tel: +33 383 15 33 22; fax: +33 383 15 76 68; E-mail: a.benetos@chu-nancy.fr

Abstract: *Objective:* In recent years, the Mini-Mental State Examination (MMSE) has been widely used and has been proposed for cognitive decline screening in the framework of a systematic geriatric evaluation in health centers. The aim of the present longitudinal study was to identify the potential determinants of MMSE score and its evolution over a 4-year period in a population aged over sixty years with good general health without dementia and consulting for a health check-up. *Design:* Longitudinal study. *Setting:* The preventive medical center (CMP) in Nancy. *Participants:* 687 subjects over 60 years of age (mean age 65.6 ± 5.07 years) were included from the Senior health examination study. *Measurements:* All subjects underwent 2 visits over a period of 4 years. MMSE measurement and a self-administered questionnaire of emotional and psychological state were evaluated at baseline and at the follow-up visit. *Results:* The major components of total variance of baseline MMSE were represented by education level, practice of regular physical activity, nervousness and despair. Multivariate analysis identified 3 variables at baseline visit that independently predicted annual changes in MMSE: MMSE score, education level and "Difficulty in social relations" ($r = -0.222, 0.154$ and -0.255 respectively). *Conclusions:* Education level and several psychological factors may influence MMSE score and its evolution over time in community-dwelling subjects aged over 60 years without dementia. In these subjects, a low MMSE score does not predict cognitive decline over a period of 4 years. Therefore, the reliability of MMSE in this type of population is questionable.

Key words: Mini-Mental-Status-Examination, psychological state, elderly, test bias.

Introduction

Health policy documents recommend screening for cognitive impairment and that general practitioners and public health nurses should be encouraged to screen elderly people. Therefore, in recent years, cognitive assessment has been proposed in elderly subjects within the framework of a systematic short geriatric evaluation.

Screening for cognitive deficiency has been considerably improved by the use of a standardized tool. The mini-mental state exam (MMSE) is a widely-used test to screen for cognitive impairment and to track cognitive changes that occur with time. MMSE is also proposed for cognitive decline screening in health centers in France. It is attractive because it is brief, easily administered and easily scored. The items were first formalized by Folstein et al. (1975) (1) in order to distinguish neurological from psychiatric patients. Several translations of the MMSE have also been developed. Since it has been well established that MMSE scores are affected by age and education (2), any attempt to interpret MMSE scores must take these factors into consideration. There is also some evidence that language of testing may impact performance (3). Other potentially critical variables, such as mood and prior experience, can also influence MMSE score.

In individuals without dementia, the determinants of MMSE are not known and it is unclear whether a low initial MMSE score can predict the rapid evolution of MMSE decline. The

aim of the present longitudinal study was to identify the potential determinants of MMSE score and its evolution over a 4-year period in a population aged over sixty years with good general health without dementia and consulting for a health check-up.

Patients and methods

Participants were derived from the Senior health examination study between 2004 and 2009, which is community-dwelling longitudinal prospective study of a population aged over 60 years with an apparently good state of health consulting for a health check-up at the preventive medical center (CMP) in Nancy. Subjects were included if they completed 2 MMSE measurements over at least 1 year. All patients with known dementia were excluded from our study. A total of 687 subjects aged > 60 years were included in this analysis. All subjects gave their informed consent at the time of the visit.

At each visit, the GRECO version (4) of the MMSE test, which is a French standardization of the MMSE used as cognitive screening test (5), was performed by trained nurses. A score of 30 is obtained when all answers are correct. A cut off score of 26 (scores of 25 or below indicate impairment) was used for the MMSE for comparison purposes, because it has been demonstrated an optimal cut-off score at 26 points for screening of dementia (6, 7).

MMSE IN COGNITIVELY INTACT INDIVIDUALS

In the two visits, all individuals underwent a clinical evaluation which included history recording. Age was assessed in years. Education level was classified into three categories: low (i.e., elementary school education), medium (i.e., lower-level general education, intermediate-level general education) and high (i.e., higher-level general education and University). Supine systolic blood pressure (SBP) and diastolic blood pressure (DBP) were measured after at least 10 min of rest, on the left arm. Blood pressure was measured 3 times, from which the average of the 3 measurements was used. Heart rate (HR) was assessed in beats per minute (bpm). A nurse measured height and weight and calculated the Body Mass Index (BMI) in all individuals.

Total serum cholesterol, high-density lipoproteins (HDL), low-density lipoproteins (LDL), triglycerides and fasting blood glucose were measured the same day after an overnight fast using a standardized venous blood sampling technique.

Alcohol use was coded as consumption of drinks per day. One drink was defined as 12 oz. of beer, 4 to 5 oz. of wine, or 2 oz. of spirits. Subjects were classified according to smoking habits as never smokers, past smokers and current smokers. Practice of regular physical activity (for at least 1.5 hours) was coded as yes/no.

An emotional and psychological evaluation was recorded using a self-administered questionnaire including: Solitude, Insomnia, Difficulty in social relations, Nervousness, Inability to decide, Painful event, Life without interest, Critics and malice in your life, Despair, Feelings of being surrounded by strange "incomprehensible" things, Sense of being elderly, Memory problems reported by family, Psychological follow-up, Stable psychological state. These covariates were collapsed into a single "yes/no" category with the exception of the question for stable psychological state which was answered as very bad, bad, good or very good.

Statistical analysis

All analyses were carried out using NCSS (version 2000) software. The two-tailed significance level was set to $p = 0.05$. Characteristics are presented as mean $\pm$ standard deviation for continuous variables and as percent for categorical variables. The variables were compared using Student T-test, Chi-Square tests or ANOVA, as appropriate.

Analyses of factors associated with MMSE score at baseline as well as with its evolution over time were performed using multiple regression analyses with an interactive backward selection method. Validity of the model assumption was verified using analysis of model residuals and testing for heteroscedasticity.

Follow-up and outcomes: Follow-up period was 4.1 years (range: 1-6.2 years). Changes in cognitive function were expressed as the annual change in MMSE score (defined as the difference between the second and the first MMSE measurements / follow-up time).

Results

The present study encompassed 687 participants (378 men and 309 women, aged 65.6 ± 5.07 years) from the 2735 Senior Study volunteers aged over sixty years.

Table 1 shows the baseline characteristics and the psychological parameters in the studied population. Data are presented according to a cut-off value of 26 in the MMSE score. The two subgroups did not differ significantly in terms of age, gender or smoking, whereas the subgroup with an MMSE score > 25 had higher education levels, higher practice of regular physical activity, lower BMI and consumed alcohol less frequently. Individuals with an MMSE score > 25 were more likely to show lower mean levels for HDL cholesterol as compared with those with an MMSE score ≤ 25 . The time of follow-up visit was shorter in the group with an MMSE score ≤ 25 as compared with those with an MMSE score > 25 . In terms of psychological parameters, "Nervousness" and "Despair" were more frequently found in subjects with MMSE score ≤ 25 . There was also a trend for "Life without interest" and "Sense of being elderly" in those with an MMSE score ≤ 25 .

In order to further investigate the factors associated with MMSE score at baseline visit, additional multiple regression analysis was performed, controlling for several other potential confounders beyond age and gender and taking into account the significant differences listed in Table 1 (BMI, education level, practice of regular physical activity, alcohol consumption, HDL cholesterol, triglycerides, fasting blood glucose, nervousness, life without interest, despair and sense of being elderly). The major components of total variance were represented by the following parameters: education level, practice of regular physical activity, nervousness and despair (Table 2). The model accounted for 13 % of the total variance in MMSE score.

Finally, the relationship between annual changes in MMSE and parameters evaluated at baseline visit was verified through univariate and multivariate analyses.

Significant univariate correlates of the annual changes in MMSE were "Difficulty in social relations" ($p=0.005$), "Nervousness" ($p=0.005$), "Inability to decide" ($p=0.03$), "Painful event" ($p=0.02$), "Despair" ($p<0.0001$), "Feelings of being surrounded by strange (incomprehensible) things" ($p=0.0001$), "Sense of being elderly" ($p=0.01$) and MMSE score at baseline ($r=-0.477$, $p<0.0001$). By contrast, no association was found between annual changes in MMSE and age ($p=0.32$), "practice of regular physical activity" ($p=0.21$), education level ($p=0.43$), BMI ($p=0.22$) or other factors evaluated in our study.

Table 3 presents the model for the prediction of annual decline rates in MMSE score by multiple regression, including all variables revealing significant differences in univariate analyses described above beyond age, gender. The analysis shows that the annual decline rates of MMSE score were more pronounced when, at baseline, MMSE score was high, education level was low and "difficulty in social relations" was

present. The model accounted for 26 % of the total variance in annual changes in MMSE score.

Table 1
Baseline characteristics and psychological parameters in the study population

	MMSE ≤ 25 (N=79)	MMSE > 25 (N=608)	P*
Age (years)	67 ± 4.9	67 ± 5.1	0.78
Male gender (%)	48.1	55.9	0.19
Education level (%)	Low : 59.0 Medium : 37.2 High : 3.8	Low : 27.8 Medium : 54.3 High : 17.9	< 0.01
BMI (kg/m ²)	27.2 ± 4.3	26.8 ± 4.0	0.03
SBP (mmHg)	135 ± 15	132 ± 16	0.06
DBP (mmHg)	77 ± 8	76 ± 8	0.32
HR (bpm)	67 ± 11	66 ± 10	0.66
PP (mmHg)	58.2 ± 12.8	56.1 ± 13.4	0.34
Practice of regular physical activity [†] (%)	46.9	61.6	0.02
Smokers	Never: 70.5 Current: 10.3 Past: 19.2	Never: 68.5 Current: 8.0 Past: 23.5	0.60
Alcohol consumption (drinks per day)	2.5 ± 6.8	1.4 ± 1.7	0.01
Glucose (mmol/L)	5.7 ± 0.9	5.7 ± 1.1	0.56
Total cholesterol (mmol/L)	5.7 ± 1.1	5.7 ± 0.96	0.24
HDL cholesterol (mmol/L)	1.7 ± 0.4	1.6 ± 0.4	0.01
LDL cholesterol (mmol/L)	3.4 ± 0.8	3.4 ± 0.8	0.77
Triglycerides (mmol/L)	1.4 ± 1.06	1.3 ± 0.6	0.05
Follow-up visit (years)	2.9	5	0.02
<i>Psychological parameters</i>			
Solitude	11.8	6.3	0.07
Insomnia	29.7	32.2	0.67
Difficulty in social relations	8	6.8	0.71
Nervousness	26.3	12.2	< 0.01
Inability to decide	8.1	3.8	0.09
Painful event	40.0	31.3	0.13
Life without interest	7.0	2.7	0.05
Critics and malice in your life	9.3	6.5	0.81
Despair	16.4	4.54	< 0.01
Feelings of being surrounded by strange "incomprehensible" things	9.5	5.1	0.11
Sense of being elderly	27.6	18.1	0.05
Memory problems reported by family	20.0	18.8	0.81
Psychological following-up	2.7	1.7	0.43
Stable psychological state	Very bad: 0.0 Bad: 8.2 Good: 78.1 Very good: 13.7	Very bad: 1.0 Bad: 4.3 Good: 75.7 Very good: 18.9	0.428

Data are expressed as: Mean ± SD, median and Percentage (%). *: Student T-test, Chi-Square tests or ANOVA were used, as appropriate, to verify the probability level between the two groups. [†]: Practice of regular physical activity for at least 1.5 hours. BMI: body mass index; SBP/DBP: Systolic/Diastolic Blood Pressure; PP: Pulse Pressure; HR: Heart Rate; bpm: beats per minute; HDL/LDL High/Low-Density Lipoprotein.

Discussion

In the present study, we aimed to analyze the evolution of MMSE over 4 years as well as identify the potential determinants of cognitive decline as assessed by MMSE

evolution in a longitudinal study examining healthy community dwelling elders aged 60 and older and free of cognitive complaints.

Table 2
Analysis of factors associated with MMSE score at baseline visit using multiple regression models

Independent variable	Regression coefficient	p
Intercept	26.39 ± 0.23	< 0.0001
Education level (high)	0.71 ± 0.10	< 0.0001
Nervousness (yes)	-0.47 ± 0.20	0.023
Despair (yes)	-0.94 ± 0.31	0.003
Practice of regular physical activity (yes)	0.39 ± 0.14	0.007

Table 3
Significant predictors of annual changes in MMSE in a multiple regression model

Independent variable	Regression coefficient	p
Intercept	6.08 ± 0.40	< 0.0001
MMSE score at baseline	0.22 ± 0.04	< 0.0001
Education level (high)	-0.15 ± 0.04	0.0002
Difficulty in social relations (yes)	0.25 ± 0.10	0.0128

As reported in table 1, the group of MMSE score ≤ 25 has a higher risk profile of health-related behaviors as lower education levels, lower practice of regular physical activity and more frequently consumed alcohol. Indeed, it was suggested that higher socioeconomic status as higher education level tend to be associated with better physical health (8).

Upon baseline analysis of the parameters studied, education level, regular practice of physical activity, nervousness and despair were found to play a significant role on MMSE in our population, results of which were confirmed in multivariate analyses (Table 2). These findings corroborate and extend results obtained in various populations. Indeed, a number of studies have demonstrated that the practice of physical activity may have a beneficial effect on cognitive function. In 2010, results of the INVADE study revealed that moderate or high physical activity is associated with a reduced incidence of cognitive impairment after 2 years in a large population-based cohort of elderly subjects (9). Data obtained from a community sample of 9008 randomly selected men and women 65 years or older, in the Canadian Study of Health and Aging, also suggested that regular physical activity could represent an important and potent protective factor for cognitive decline and dementia in elderly persons (10).

In agreement with many studies (2, 3), MMSE scores herein were superior in those individuals that were more educated. There is evidence that low educational or intelligence levels increase the likelihood of misclassifying normal people as cognitively impaired while higher ability and educational levels may mask mild impairment.

In our study, the influence of the auto-evaluated psychological factors on MMSE score was highlighted in the

MMSE IN COGNITIVELY INTACT INDIVIDUALS

case of nervousness and despair. This association was confirmed in multivariate analyses and shown to be independent of regular physical activity practice and educational level. Indeed, many sociodemographic variables and the presence of a mood disorder have been reported to influence MMSE performance (11). Moreover, in a community-based sample of an elderly population, being currently employed and being married were related to higher test scores (12).

Moreover, it was demonstrated that low socioeconomic status could be associated to psychiatric and mood disorders. Indeed, in a meta-analysis the authors found strong evidence for socioeconomic inequalities in depression (13).

In contrast to other studies, we found no association between MMSE performance and age in our population (2, 11). However, our study is also limited by selection bias of the Senior study; only the 60-82 year age group was included in the analysis. This may therefore contribute in explaining the discrepancy between the above reported results and those obtained herein.

Present findings also indicate in older individuals consulting for a medical checkup that the initial level of global cognitive score measured as MMSE was a strong predictor of evolution in MMSE over time. While it would be expected that an initial poor MMSE score would predict cognitive decline, in contrast, we found that a poor MMSE score prevented cognitive decline in our population study. However, it must be cautioned that this finding may be influenced by the test-retest effect in this population in apparently good health state and free of dementia. Indeed, prior experience may result in practice effects merely because a person has had some previous experience with the testing material or because participants may remember some of the questions and rehearse answers given previously (14). Moreover, in the PAQUID cohort (15), the comparison of MMSE evolution in 350 subjects experiencing development of Alzheimer's disease (AD) with 350 matched controls showed no MMSE decline in the control subjects over the 14 years of observation, while the scores of predemented subjects showed a slow decline at first followed by a dramatic falling off in the last 3 years preceding the diagnosis of AD, in contrast to no differences in MMSE scores at baseline between the two groups (27.2 vs. 27.2).

In agreement with another longitudinal study (16), we found that a higher education level prevented the decline in MMSE scores over time. In addition to baseline MMSE score and education level, we found that difficulty in social relations was also a predictor of MMSE decline over time. If we admit that cognitive decline screening tests may be biased against mood disorders, we should be remembered that such a disorder remains nonetheless a genuine risk factor for cognitive impairment (17, 18).

Certain limitations in this study should be noted. The observational study design does not allow for ascertaining causality. In addition, there is no comprehensive study on the mood state of the individual as our assessment of the

psychological state of the subjects was based only on a self-administered questionnaire and not on an assessment by standardized scales such as GDS (Geriatric Depression Scales).

Conclusion

Education level and several psychological factors may influence MMSE score and its evolution over time in community-dwelling subjects aged over 60 years without dementia. In these subjects, a low MMSE score does not predict cognitive decline over a period of 4 years. Therefore, MMSE reliability in this type of population is questionable.

Acknowledgments: The authors thank the medical staff, the nurses, and the directors of the Centre de Médecine Préventive, Vandoeuvre-les-Nancy, France, and thank Mr. Pierre Pothier for language review and stimulating discussion. This study was supported by the Caisse Nationale d'Assurance Maladie (CNAM) and the Communauté Urbaine du Grand Nancy, France.

Conflicts of interest disclosure: None

References

1. Folstein MF, Folstein SE and McHugh PR: "Mini-mental state". A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *J Psychiatr Res* 12: 189-198, 1975
2. Crum RM, Anthony JC, Bassett SS and Folstein MF: Population-based norms for the Mini-Mental State Examination by age and educational level. *JAMA* 269: 2386-2391, 1993
3. Bravo G and Hebert R: Age- and education-specific reference values for the Mini-Mental and modified Mini-Mental State Examinations derived from a non-demented elderly population. *Int J Geriatr Psychiatry* 12: 1008-1018, 1997
4. Derouesne C, Poitrenaud J, Hugonot L, Kalafat M, Dubois B and Laurent B: [Mini-Mental State Examination: a useful method for the evaluation of the cognitive status of patients by the clinician. Consensual French version]. *Presse Med* 28: 1141-1148, 1999
5. Peters R and Pinto EM: Predictive value of the Clock Drawing Test. A review of the literature. *Dement Geriatr Cogn Disord* 26: 351-355, 2008
6. Kukull WA, Larson EB, Teri L, Bowen J, McCormick W and Pfanschmidt ML: The Mini-Mental State Examination score and the clinical diagnosis of dementia. *J Clin Epidemiol* 47: 1061-1067, 1994
7. Rakusa M, Granda G, Kogoj A, Mlakar J and Vodusek DB: Mini-Mental State Examination: standardization and validation for the elderly Slovenian population. *Eur J Neurol* 13: 141-145, 2006
8. Johnson W, Kyvik KO, Mortensen EL, Skytthe A, Batty GD and Deary IJ: Does education confer a culture of healthy behavior? Smoking and drinking patterns in Danish twins. *Am J Epidemiol* 173: 55-63, 2011
9. Etgen T, Sander D, Huntgeburth U, Poppert H, Forstl H and Bickel H: Physical activity and incident cognitive impairment in elderly persons: the INVADE study. *Arch Intern Med* 170: 186-193, 2010
10. Laurin D, Verreault R, Lindsay J, MacPherson K and Rockwood K: Physical activity and risk of cognitive impairment and dementia in elderly persons. *Arch Neurol* 58: 498-504, 2001
11. Anderson TM, Sachdev PS, Brodaty H, Trollor JN and Andrews G: Effects of sociodemographic and health variables on Mini-Mental State Exam scores in older Australians. *Am J Geriatr Psychiatry* 15: 467-476, 2007
12. Moraes C, Pinto JA, Jr., Lopes MA, Litvov J and Bottino CM: Impact of sociodemographic and health variables on mini-mental state examination in a community-based sample of older people. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 7: 535-542, 2010
13. Lorant V, Deliege D, Eaton W, Robert A, Philippot P and Ansseau M: Socioeconomic inequalities in depression: a meta-analysis. *Am J Epidemiol* 157: 98-112, 2003
14. Keating HJ, 3rd: "Studying" for the Mini-Mental Status Exam. *J Am Geriatr Soc* 35: 594-595, 1987
15. Amieva H, Le Goff M, Millet X, et al.: Prodromal Alzheimer's disease: successive emergence of the clinical symptoms. *Ann Neurol* 64: 492-498, 2008
16. Jacqmin-Gadda H, Fabrigoule C, Commenges D and Dartigues JF: A 5-year longitudinal study of the Mini-Mental State Examination in normal aging. *Am J Epidemiol* 145: 498-506, 1997
17. Vinkers DJ, Gussekloo J, Stek ML, Westendorp RG and van der Mast RC: Temporal relation between depression and cognitive impairment in old age: prospective population based study. *BMJ* 329: 881, 2004
18. Xavier FM, Ferraz MP, Trentini CM, Freitas NK and Moriguchi EH: Bereavement-related cognitive impairment in an oldest-old community-dwelling Brazilian sample. *J Clin Exp Neuropsychol* 24: 294-301, 2002

III. DISCUSSION ET CONCLUSION

Fonction cognitive et pression artérielle

De nombreuses études ont montré que la pression artérielle est inversement corrélée à la fonction cognitive. Chez les patients de l'étude **ADELAHYDE**, patients âgés traités pour l'hypertension et présentant des troubles cognitifs débutants, nous n'avons pas observé d'effet de l'augmentation de la pression artérielle sur la diminution des performances cognitives malgré des mesures de la PA avec le brassard et avec la MAPA.

Comme précédemment décrit dans l'introduction, de nombreuses études de cohorte ont en effet montré un lien entre l'hypertension artérielle et le déclin cognitif. Plusieurs conditions peuvent expliquer les différences observées entre nos résultats et ceux des résultats des études ayant montré une relation entre la PA et les fonctions cognitives.

Tout d'abord, les relations les plus significatives entre l'hypertension et le déclin cognitif ont été mises en évidence dans de grandes cohortes suivies sur de nombreuses années (de 4 à 30 ans et plus) alors que notre étude repose sur des mesures transversales ^{5, 6, 8}.

Par ailleurs, nous avons constaté que les populations des études mentionnées ci-dessus étaient composées de sujets hypertendus mais pas forcément traités. Ainsi, la cohorte de Framingham a montré une relation inverse entre la performance cognitive et la PA chez les hypertendus mais uniquement chez les sujets non traités ⁵. De plus, notre population est à un stade plus précoce du déclin cognitif, contrairement à la cohorte de Göteborg par exemple qui montre une relation entre la PA et l'apparition de démences, ce qui donne des résultats plus probants ⁷.

Cependant notre travail n'exclut pas cette relation. Le fait de ne pas pouvoir la démontrer chez notre population de patients hypertendus traités suggère que le traitement et /ou la diminution de la PA vers des valeurs plus basses fait disparaître cette relation, et que ces patients bénéficiaient d'un contrôle tensionnel satisfaisant comme en témoignent les valeurs de pression artérielle moyenne (PAS= 129 ± 12 mmHg; PAD= 74 ± 8 mmHg) ; par ailleurs ce « contrôle tensionnel » est aussi confirmé par la valeur moyenne des mesures ambulatoires de pression artérielle sur 24 heures.

Egalement, dans la cohorte PARTAGE, aucune association n'a été trouvée entre les niveaux de la pression artérielle et le Δ MMSE ⁸². A savoir que chez cette population de sujets institutionnalisés âgés de plus de 80 ans, 76% des femmes et 60% des hommes avaient une

hypertension artérielle, et plus de 91% des sujets étaient sous antihypertenseurs, ainsi que 51% des hypertendus traités ont été bien contrôlés (PA systolique <140 mmHg)⁹³. Cependant ce résultat n'exclut pas cette relation surtout pour cette période de suivi de 1 an.

Cette absence de corrélation entre la PA et le déclin cognitif a été également constatée chez la population de l'étude Bilan Senior. Nous avons étudié la relation entre la pression artérielle et la fonction cognitive évaluée par le MMSE, et nos résultats ont montré l'absence de telle relation dans l'analyse univariée ayant comparé les deux groupes selon leurs scores MMSE (≤ 25 et > 25). Du même contexte, l'absence de cette relation persiste dans la comparaison des scores MMSE des différentes classes de la PA (tableau 6) chez l'ensemble de la population ainsi que chez les sujets avec ou sans traitement antihypertensif analysés séparément.

Les paramètres de la pression artérielle (PAS, PAD, PAM et PP) ont été introduit dans le modèle final de régression multiple ayant étudié les facteurs associés au changement annuel du MMSE (Tableau 7). Aucun de ces paramètres ne permet de prédire l'évolution de la fonction cognitive chez cette population en bon état général et sans démence.

A noter que les patients traités (222 patients) bénéficiaient d'un contrôle tensionnel satisfaisant (77,5 % des patients traités ont des valeurs PAS < 140 mmHg et ou PAD < 90 mmHg). Seulement 12,7 % des sujets non traités étaient classés comme hypertendus selon les recommandations de l'ESH 2007¹⁰¹. Nous sommes donc dans un contexte où l'HTA n'est pas importante pour cette population en bon état général et sans démence, ceci peut contribuer à l'explication de l'absence d'une relation entre la PA et la fonction cognitive.

Les données transversales de l'étude ADELAHYDE nous ont permis de montrer que la prise d'inhibiteurs calciques est associée à de meilleures fonctions cognitives indépendamment du niveau de la pression artérielle.

Ceci est en accord avec les résultats de l'étude Syst-Eur, essai clinique en double aveugle comparant l'efficacité de la nitrendipine par rapport au placebo, montrant que chez des sujets âgés et hypertendus, l'antagoniste calcique permet de réduire l'incidence de démence de 50 %^{11, 102}. De même, dans notre étude transversale du même type de population, nous avons montré que l'utilisation d'antagonistes calciques est associée à une meilleure fonction cognitive par rapport à ceux non traités par cette classe pharmacologique¹⁷. Tout ceci suggère donc un effet de classe de ce traitement antihypertenseur. Néanmoins, seules les études

contrôlées comparant les différentes classes médicamenteuses peuvent répondre définitivement à cette question.

L'hypothèse que les bloqueurs de canaux calciques préservent la fonction cognitive par un effet neuroprotecteur spécifique pourrait expliquer ces résultats. En effet, de nombreuses données expérimentales montrent que le vieillissement au niveau cérébral serait notamment lié à une perturbation de l'homéostasie du calcium ; celle-ci interviendrait dans les mécanismes amenant au déclin cognitif ¹⁰³ mais aussi aux démences vasculaires et dégénératives comme la maladie d'Alzheimer. Or, les inhibiteurs des canaux calciques pourraient agir sur cette dérégulation en bloquant la pénétration intracellulaire du calcium au niveau des canaux voltage-dépendant. Ainsi, des études *in vivo* ont montré que cette classe d'antihypertenseurs en traitement chronique permet de préserver l'intégrité microvasculaire du cortex cérébral au-delà du seul contrôle de la pression artérielle chez des rats spontanément hypertendus « stroke-prone » (SHR-SP), ¹⁰⁴.

Etat cognitif, anomalies de la substance blanche et rigidité artérielle

L'étude ADELAHYDE nous a également permis d'observer une relation négative entre la sévérité de la leucoaraïose et les capacités cognitives évaluées par le test Grober et Buschke chez des sujets hypertendus âgés de 60 à 85 ans (figure 1). Ces résultats sont confirmés par des analyses multivariées présentées dans le tableau 3.

D'ailleurs, la sévérité de la leucoaraïose est associée à l'âge à la PAD et à l'augmentation des concentrations plasmatiques du facteur von Willebrand. Ce dernier est considéré comme un marqueur de la fonction endothéliale.

D'autres résultats de l'étude ADELAHYDE qui ont été publiés par notre équipe (montrent que dans une sous-population de 198 patients ayant eu un phénotypage vasculaire complet ²⁶, la rigidité artérielle était significativement corrélée et indépendante aux troubles de mémoire chez la population masculine. Aucune association entre les scores de mémoire évalués par le test Grober et Buschke et les paramètres artériels n'a été montrée chez les femmes. D'ailleurs, la sévérité de la leucoaraïose était associée d'une part à l'augmentation d'EIM et à la rigidité artérielle évaluée par l'Alx, et d'autre part à l'âge et à l'augmentation des concentrations plasmatiques du facteur von Willebrand.

Ces résultats sont en accord avec ce qui a été précédemment présenté dans l'introduction : les hypersignaux de la substance blanche sont associés aux troubles cognitifs ⁴³⁻⁴⁶, et l'âge et les altérations vasculaires sont des déterminants des hypersignaux de la substance blanche.

Ces résultats de l'étude ADELAHYDE suggèrent néanmoins que le risque de déclin cognitif serait plus marqué chez les hypertendus qui présentent une rigidité artérielle accrue, i.e. ceux qui avaient un vieillissement artériel plus marqué.

Nos résultats indiquent que chez des hypertendus vieillissants et après ajustement à l'âge, la présence de plusieurs phénotypes de vieillissement artériel accentué est associée en plus à la leucoaraïose. Ce résultat est d'une importance majeure dans le cadre de la prévention et de la prise en charge des troubles cognitifs, puisque la présence de leucoaraïose est un marqueur et/ou un facteur fortement associé au déclin cognitif ⁴⁸.

Dans la cohorte PARTAGE, nous avons montré une corrélation positive entre la rigidité aortique (et non pas la pression artérielle) et le déclin des fonctions cognitives chez des patients institutionnalisés âgés de plus de 80 ans suivis sur une période d'un an (plus la rigidité aortique est élevée, plus le déclin des fonctions cognitives est prononcé).

Les résultats de ces deux études ADELAHYDE et PARTAGE montrent l'implication des gros troncs artériels dans les fonctions cognitives. L'importance de ces deux programmes de recherche clinique est liée au fait qu'elles ont examiné des populations à très haut risque de déclin cognitif. L'étude ADELAHYDE a étudié des sujets vieillissants, hypertendus avec plainte mnésique, alors que l'étude PARTAGE a suivi des sujets très âgés fragiles et institutionnalisés. A noter que la très grande majorité des sujets participants à l'étude PARTAGE étaient aussi des hypertendus traités.

Après avoir démontré que les anomalies vasculaires sont associées au déclin cognitif et aux hypersignaux de la substance blanche chez des sujets âgés, nous avons voulu identifier des variantes génétiques associées au degré des troubles cognitifs et au degré de la leucoaraïose chez la population ADELAHYDE, en ciblant les gènes impliqués dans les altérations vasculaires. Nos résultats suggèrent qu'au moins à ce stade précoce de déclin cognitif, il n'y a pas de relation entre les facteurs génétiques et le déclin cognitif ou la leucoaraïose concernant la série des gènes ciblés par notre étude.

La présence de l'allèle E4 du gène de l'apolipoprotéine E (ApoE) est considérée comme un facteur de risque important de la « maladie d'Alzheimer » ou du déclin cognitif. Dans l'étude ADELAHYDE, aucune corrélation n'a été trouvée entre le polymorphisme de l'Apo E4 et les scores mémoires ou la sévérité de la leucoaraïose.

Borenstein et al.⁵¹ suggèrent que l'Apo E4 augmente le risque de démence ou MCI amnésique alors que l'Apo E2 le diminue. L'absence de telle relation dans l'étude ADELAHYDE peut être due aux différentes caractéristiques de la population de l'étude, la plainte mnésique subjective étudiée dans la population ADELAHYDE est proche mais différente de MCI¹⁰⁵. Par ailleurs, l'étude ADELAHYDE n'était pas une étude cas-témoins comme l'étude mentionnée ci-dessus⁵¹. Une autre étude a montré que les sujets âgés porteurs de l'allèle ε4 avaient de mauvaises capacités d'apprentissage par rapport aux porteurs de l'allèle Apo ε 2 ou 3. Cependant, il n'existe pas de différences dans d'autres domaines cognitifs¹⁰⁶. Dans une étude longitudinale, Caselli et al.⁵⁷ montrent que l'allèle Apo ε 4 affecte les performances de la mémoire liées à l'âge.

L'absence d'une relation entre ces gènes et l'état cognitif peut être expliqué par une influence majeure du facteur environnemental sur les fonctions cognitives, ce qui rend l'étude de l'association génotype-phénotype difficile. Des populations plus grandes sont éventuellement nécessaires afin d'étudier les interactions gènes – environnement sur ce phénotype.

Nos résultats portant sur ces 3 populations indiquent clairement que chez le sujet âgé l'évaluation des marqueurs du vieillissement artériel permet de définir les sujets à plus haut risque de déclin cognitif, alors que la valeur prédictive de la pression artérielle sur le déclin cognitif ne semble pas être significative.

Tests neuropsychologiques

Nous avons utilisé seulement le test MMSE dans les deux études PARTAGE et Sénior alors qu'une batterie de tests neuropsychologiques était utilisée dans l'étude ADELAHYDE. Cette hétérogénéité de tests est liée au type de la population de l'étude. Les sujets de l'étude ADELAHYDE étaient en bon état général et tous les examens étaient réalisés à l'hôpital exclusivement pour l'étude, avec un temps suffisamment long, ce qui nous a permis de réaliser plusieurs tests neuropsychologiques. L'étude Sénior est un bilan de santé de personnes âgées de plus 60 ans au CMP. Donc seul le MMSE a été rajouté pour évaluer les fonctions cognitives, pour ne pas compliquer la visite et pour que le test puisse être utilisé par les infirmiers du CMP. Etant donné que les sujets de l'étude PARTAGE étaient très âgés, fragiles et institutionnalisés, il ne nous a pas été permis de proposer un autre test que le MMSE et pour la même raison, l'évaluation biologique était privée, pour ne pas avoir un impact sur le recrutement.

Les tests neuropsychologiques utilisés ne couvrent pas tous les domaines cognitifs, ce qui peut contribuer à expliquer l'échec de la mise en évidence d'une relation entre la fonction cognitive et les phénotypes comme la pression artérielle ou les génotypes étudiés. C'est la raison pour laquelle on rajoute de nouveaux tests psychométriques comme le Trail Making Test afin de mieux évaluer les fonctions exécutives dans la phase longitudinale, fonctions qui sont très touchées dans la population d'ADELAHYDE.

Cependant, le MMSE a été largement utilisé ces dernières années, et a été proposé pour le dépistage du déclin cognitif lors des évaluations gériatriques systématiques dans les centres de santé.

Au cours du bilan Senior, nous avons voulu évaluer l'influence de l'état psychologique et émotionnel sur le score MMSE et son évolution avec le temps chez les personnes âgées de plus de soixante ans. Nous avons montré que le niveau d'éducation et plusieurs facteurs psychologiques peuvent influencer le score MMSE et son évolution au fil du temps. Chez ces sujets, un score faible du MMSE ne permet pas de prédire le déclin cognitif durant la période de 4 ans. Par conséquent, la fiabilité du MMSE chez cette population est douteuse.

Il faut aussi toujours garder à l'esprit le fait que l'éducation et les troubles de l'état psychologique sont eux-mêmes des facteurs de risque pour les troubles cognitifs et pour les démences.

Conclusions et Perspectives :

Notre travail sur les troubles cognitifs chez le sujet âgé a un intérêt clinique puisque :

- Nos résultats portant sur ces 3 populations indiquent clairement que l'évaluation des marqueurs du vieillissement artériel chez le sujet âgé permet de définir les sujets à plus haut risque de déclin cognitif, alors que la valeur prédictive de la pression artérielle (PA) sur le déclin cognitif ne semble pas être significative.
- Chez les personnes âgées hypertendues traitées présentant une plainte mnésique subjective sans démence, l'utilisation d'antagonistes calciques est associée à de meilleures performances cognitives, indépendamment du niveau de la PA et de l'état vasculaire. Ceci suggère un effet protecteur spécifique de cette classe pharmacologique sur le déclin cognitif. D'autres investigations devraient être menées pour confirmer la supériorité d'action de cette classe pharmacologique sur la prévention du déclin cognitif.

- Les deux études présentées (ADELAHYDE et PARTAGE) ont montré l'intérêt de l'évaluation de l'état artériel dans l'évaluation des fonctions cognitives chez les sujets à haut risque de déclin cognitif. Ces résultats ouvrent de nouvelles voies de recherche clinique dans le domaine de la détection des sujets à haut risque de déclin cognitif et de la prévention de ce déclin. Cependant, ces résultats transversaux (ADELAHYDE) ou longitudinaux à court terme (PARTAGE) doivent être confirmés par des études longitudinales à long terme.
- La fiabilité du MMSE chez des sujets âgés vivants à domicile en bon état de santé et sans démence est douteuse, car chez ces sujets, un score faible du MMSE ne permet pas de prédire le déclin cognitif au fil du temps. Lors du 3ème bilan Senior de cette cohorte, l'évaluation cognitive pourrait être complétée par d'autres tests psychométriques, et il faudrait envisager une évaluation psychologique plus standardisée comme l'échelle de la dépression (GDS).

C'est la raison pour laquelle nous avons décidé de réaliser une étude longitudinale de la population de l'étude ADELAHYDE afin d'étudier si les facteurs vasculaires artériels étudiés au cours de la première visite ont une valeur prédictive dans l'évolution des fonctions cognitives ou de la leucoaraïose chez les mêmes patients réévalués 8 ans plus tard. Cela nous permettra aussi d'identifier des polymorphismes de gènes associés à l'évolution de la fonction cognitive et la leucoaraïose chez cette population. Ce délai peut être considéré en effet comme suffisant pour observer une différence significative du « niveau » cognitif. D'autre part, le suivi de la cohorte PARTAGE se poursuit sur une période de 5 ans, ce qui nous permettra également d'étudier les effets de la rigidité artérielle sur le déclin cognitif et la perte de l'autonomie dans cette population très âgée et particulièrement fragile. Le suivi de ces deux cohortes permettra ainsi de mieux comprendre le rôle des paramètres artériels dans l'évolution des fonctions cognitives et des syndromes démentiels.

IV. RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Hofman A, Ott A, Breteler MM, Bots ML, Slooter AJ, van Harskamp F, van Duijn CN, Van Broeckhoven C, Grobbee DE. Atherosclerosis, apolipoprotein E, and prevalence of dementia and Alzheimer's disease in the Rotterdam Study. *Lancet*. 1997;349(9046):151-154.
2. Seshadri S, Beiser A, Selhub J, Jacques PF, Rosenberg IH, D'Agostino RB, Wilson PW, Wolf PA. Plasma homocysteine as a risk factor for dementia and Alzheimer's disease. *N Engl J Med*. 2002;346(7):476-483.
3. Casserly I, Topol E. Convergence of atherosclerosis and Alzheimer's disease: inflammation, cholesterol, and misfolded proteins. *Lancet*. 2004;363(9415):1139-1146.
4. O'Brien JT, Erkinjuntti T, Reisberg B, Roman G, Sawada T, Pantoni L, Bowler JV, Ballard C, DeCarli C, Gorelick PB, Rockwood K, Burns A, Gauthier S, DeKosky ST. Vascular cognitive impairment. *Lancet Neurol*. 2003;2(2):89-98.
5. Elias MF, Wolf PA, D'Agostino RB, Cobb J, White LR. Untreated blood pressure level is inversely related to cognitive functioning: the Framingham Study. *Am J Epidemiol*. 1993;138(6):353-364.
6. Launer LJ, Ross GW, Petrovitch H, Masaki K, Foley D, White LR, Havlik RJ. Midlife blood pressure and dementia: the Honolulu-Asia aging study. *Neurobiol Aging*. 2000;21(1):49-55.
7. Skoog I, Lernfelt B, Landahl S, Palmertz B, Andreasson LA, Nilsson L, Persson G, Oden A, Svanborg A. 15-year longitudinal study of blood pressure and dementia. *Lancet*. 1996;347(9009):1141-1145.
8. Tzourio C, Dufouil C, Ducimetiere P, Alperovitch A. Cognitive decline in individuals with high blood pressure: a longitudinal study in the elderly. EVA Study Group. *Epidemiology of Vascular Aging. Neurology*. 1999;53(9):1948-1952.
9. Harrington F, Saxby BK, McKeith IG, Wesnes K, Ford GA. Cognitive performance in hypertensive and normotensive older subjects. *Hypertension*. 2000;36(6):1079-1082.
10. Glynn RJ, Beckett LA, Hebert LE, Morris MC, Scherr PA, Evans DA. Current and remote blood pressure and cognitive decline. *JAMA*. 1999;281(5):438-445.
11. Forette F, Seux ML, Staessen JA, Thijs L, Birkenhager WH, Babarskiene MR, Babeanu S, Bossini A, Gil-Extremera B, Girerd X, Laks T, Lilov E, Moiseyev V, Tuomilehto J, Vanhanen H, Webster J, Yodfat Y, Fagard R. Prevention of dementia in randomised double-blind placebo-controlled Systolic Hypertension in Europe (Syst-Eur) trial. *Lancet*. 1998;352(9137):1347-1351.
12. Tzourio C, Anderson C, Chapman N, Woodward M, Neal B, MacMahon S, Chalmers J. Effects of blood pressure lowering with perindopril and indapamide therapy on dementia and cognitive decline in patients with cerebrovascular disease. *Arch Intern Med*. 2003;163(9):1069-1075.
13. Hanon O, Pequignot R, Seux ML, Lenoir H, Bune A, Rigaud AS, Forette F, Girerd X. Relationship between antihypertensive drug therapy and cognitive function in elderly hypertensive patients with memory complaints. *J Hypertens*. 2006;24(10):2101-2107.
14. McGuinness B, Todd S, Passmore P, Bullock R. The effects of blood pressure lowering on development of cognitive impairment and dementia in patients without apparent prior cerebrovascular disease. *Cochrane Database Syst Rev*. 2006(2):CD004034.
15. Lithell H, Hansson L, Skoog I, Elmfeldt D, Hofman A, Olofsson B, Trenkwalder P, Zanchetti A. The Study on Cognition and Prognosis in the Elderly (SCOPE): principal

- results of a randomized double-blind intervention trial. *J Hypertens*. 2003;21(5):875-886.
16. Peters R, Beckett N, Forette F, Tuomilehto J, Clarke R, Ritchie C, Waldman A, Walton I, Poulter R, Ma S, Comsa M, Burch L, Fletcher A, Bulpitt C. Incident dementia and blood pressure lowering in the Hypertension in the Very Elderly Trial cognitive function assessment (HYVET-COG): a double-blind, placebo controlled trial. *Lancet Neurol*. 2008;7(8):683-689.
 17. Hanon O, Latour F, Seux ML, Lenoir H, Forette F, Rigaud AS. [Relationship between arterial pressure and cognitive functions. Data for the French Network on Alzheimer's disease (REAL.FR)]. *Rev Med Interne*. 2003;24 Suppl 3:292s-300s.
 18. Lakatta EG. Arterial and cardiac aging: major shareholders in cardiovascular disease enterprises: Part III: cellular and molecular clues to heart and arterial aging. *Circulation*. 2003;107(3):490-497.
 19. Benetos A, Salvi P, Lacolley P. Blood pressure regulation during the aging process: the end of the 'hypertension era'? *J Hypertens*. 2011;29(4):646-652.
 20. Safar ME, Smulyan H. Coronary ischemic disease, arterial stiffness, and pulse pressure. *Am J Hypertens*. 2004;17(8):724-726.
 21. Scuteri A, Brancati AM, Gianni W, Assisi A, Volpe M. Arterial stiffness is an independent risk factor for cognitive impairment in the elderly: a pilot study. *J Hypertens*. 2005;23(6):1211-1216.
 22. Hanon O, Haulon S, Lenoir H, Seux ML, Rigaud AS, Safar M, Girerd X, Forette F. Relationship between arterial stiffness and cognitive function in elderly subjects with complaints of memory loss. *Stroke*. 2005;36(10):2193-2197.
 23. Scuteri A, Tesaro M, Appolloni S, Preziosi F, Brancati AM, Volpe M. Arterial stiffness as an independent predictor of longitudinal changes in cognitive function in the older individual. *J Hypertens*. 2007;25(5):1035-1040.
 24. Waldstein SR, Rice SC, Thayer JF, Najjar SS, Scuteri A, Zonderman AB. Pulse pressure and pulse wave velocity are related to cognitive decline in the Baltimore Longitudinal Study of Aging. *Hypertension*. 2008;51(1):99-104.
 25. Poels MM, van Oijen M, Mattace-Raso FU, Hofman A, Koudstaal PJ, Witteman JC, Breteler MM. Arterial stiffness, cognitive decline, and risk of dementia: the Rotterdam study. *Stroke*. 2007;38(3):888-892.
 26. Kearney-Schwartz A, Rossignol P, Bracard S, Felblinger J, Fay R, Boivin JM, Lecompte T, Lacolley P, Benetos A, Zannad F. Vascular structure and function is correlated to cognitive performance and white matter hyperintensities in older hypertensive patients with subjective memory complaints. *Stroke*. 2009;40(4):1229-1236.
 27. Gariepy J, Massonneau M, Levenson J, Heudes D, Simon A. Evidence for in vivo carotid and femoral wall thickening in human hypertension. Groupe de Prevention Cardio-vasculaire en Medecine du Travail. *Hypertension*. 1993;22(1):111-118.
 28. Zannad F, Visvikis S, Gueguen R, Sass C, Chapet O, Herbeth B, Siest G. Genetics strongly determines the wall thickness of the left and right carotid arteries. *Hum Genet*. 1998;103(2):183-188.
 29. Talelli P, Ellul J, Terzis G, Lekka NP, Gioldasis G, Chrysanthopoulou A, Papapetropoulos T. Common carotid artery intima media thickness and post-stroke cognitive impairment. *J Neurol Sci*. 2004;223(2):129-134.
 30. Gorgone G, Ursini F, Altamura C, Bressi F, Tombini M, Curcio G, Chiovenda P, Squitti R, Silvestrini M, Ientile R, Pisani F, Rossini PM, Vernieri F. Hyperhomocysteinemia, intima-media thickness and C677T MTHFR gene

- polymorphism: A correlation study in patients with cognitive impairment. *Atherosclerosis*. 2009.
31. Roquer J, Segura T, Serena J, Castillo J. Endothelial dysfunction, vascular disease and stroke: the ARTICO study. *Cerebrovasc Dis*. 2009;27 Suppl 1:25-37.
 32. Verma S, Buchanan MR, Anderson TJ. Endothelial function testing as a biomarker of vascular disease. *Circulation*. 2003;108(17):2054-2059.
 33. Zuliani G, Cavalieri M, Galvani M, Passaro A, Munari MR, Bosi C, Zurlo A, Fellin R. Markers of endothelial dysfunction in older subjects with late onset Alzheimer's disease or vascular dementia. *J Neurol Sci*. 2008;272(1-2):164-170.
 34. Dede DS, Yavuz B, Yavuz BB, Cankurtaran M, Halil M, Ulger Z, Cankurtaran ES, Aytemir K, Kabakci G, Ariogul S. Assessment of endothelial function in Alzheimer's disease: is Alzheimer's disease a vascular disease? *J Am Geriatr Soc*. 2007;55(10):1613-1617.
 35. Coraci IS, Husemann J, Berman JW, Hulette C, Dufour JH, Campanella GK, Luster AD, Silverstein SC, El-Khoury JB. CD36, a class B scavenger receptor, is expressed on microglia in Alzheimer's disease brains and can mediate production of reactive oxygen species in response to beta-amyloid fibrils. *Am J Pathol*. 2002;160(1):101-112.
 36. Hachinski VC, Potter P, Merskey H. Leuko-araiosis. *Arch Neurol*. 1987;44(1):21-23.
 37. Awad IA, Spetzler RF, Hodak JA, Awad CA, Carey R. Incidental subcortical lesions identified on magnetic resonance imaging in the elderly. I. Correlation with age and cerebrovascular risk factors. *Stroke*. 1986;17(6):1084-1089.
 38. Firbank MJ, Wiseman RM, Burton EJ, Saxby BK, O'Brien JT, Ford GA. Brain atrophy and white matter hyperintensity change in older adults and relationship to blood pressure. Brain atrophy, WMH change and blood pressure. *J Neurol*. 2007;254(6):713-721.
 39. Pantoni L, Garcia JH. The significance of cerebral white matter abnormalities 100 years after Binswanger's report. A review. *Stroke*. 1995;26(7):1293-1301.
 40. Markus HS, Hunt B, Palmer K, Enzinger C, Schmidt H, Schmidt R. Markers of endothelial and hemostatic activation and progression of cerebral white matter hyperintensities: longitudinal results of the Austrian Stroke Prevention Study. *Stroke*. 2005;36(7):1410-1414.
 41. Manolio TA, Burke GL, O'Leary DH, Evans G, Beauchamp N, Knepper L, Ward B. Relationships of cerebral MRI findings to ultrasonographic carotid atherosclerosis in older adults : the Cardiovascular Health Study. CHS Collaborative Research Group. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1999;19(2):356-365.
 42. Kuo HK, Chen CY, Liu HM, Yen CJ, Chang KJ, Chang CC, Yu YH, Lin LY, Hwang JJ. Metabolic risks, white matter hyperintensities, and arterial stiffness in high-functioning healthy adults. *Int J Cardiol*. 2009.
 43. Pantoni L, Garcia JH. Pathogenesis of leukoaraiosis: a review. *Stroke*. 1997;28(3):652-659.
 44. Mosley TH, Jr., Knopman DS, Catellier DJ, Bryan N, Hutchinson RG, Grothues CA, Folsom AR, Cooper LS, Burke GL, Liao D, Szklo M. Cerebral MRI findings and cognitive functioning: the Atherosclerosis Risk in Communities study. *Neurology*. 2005;64(12):2056-2062.
 45. Sierra C, De La Sierra A, Salamero M, Sobrino J, Gomez-Angelats E, Coca A. Silent cerebral white matter lesions and cognitive function in middle-aged essential hypertensive patients. *Am J Hypertens*. 2004;17(6):529-534.
 46. Waldemar G, Christiansen P, Larsson HB, Høgh P, Laursen H, Lassen NA, Paulson OB. White matter magnetic resonance hyperintensities in dementia of the Alzheimer

- type: morphological and regional cerebral blood flow correlates. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1994;57(12):1458-1465.
47. Enzinger C, Fazekas F, Matthews PM, Ropele S, Schmidt H, Smith S, Schmidt R. Risk factors for progression of brain atrophy in aging: six-year follow-up of normal subjects. *Neurology*. 2005;64(10):1704-1711.
 48. Silbert LC, Nelson C, Howieson DB, Moore MM, Kaye JA. Impact of white matter hyperintensity volume progression on rate of cognitive and motor decline. *Neurology*. 2008;71(2):108-113.
 49. Garde E, Lykke Mortensen E, Rostrup E, Paulson OB. Decline in intelligence is associated with progression in white matter hyperintensity volume. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2005;76(9):1289-1291.
 50. Burton EJ, McKeith IG, Burn DJ, Firbank MJ, O'Brien JT. Progression of white matter hyperintensities in Alzheimer disease, dementia with lewy bodies, and Parkinson disease dementia: a comparison with normal aging. *Am J Geriatr Psychiatry*. 2006;14(10):842-849.
 51. Borenstein AR, Mortimer JA, Ding D, Schellenberg GD, Decarli C, Zhao Q, Copenhaver C, Guo Q, Chu S, Galasko D, Salmon DP, Dai Q, Wu Y, Petersen R, Hong Z. Effects of Apolipoprotein E-E4 and -E2 in Amnesic Mild Cognitive Impairment and Dementia in Shanghai: SCOBHI-P. *Am J Alzheimers Dis Other Demen*.
 52. Boyle PA, Buchman AS, Wilson RS, Kelly JF, Bennett DA. The APOE epsilon4 allele is associated with incident mild cognitive impairment among community-dwelling older persons. *Neuroepidemiology*. 34(1):43-49.
 53. Marteau JB, Sass C, Pfister M, Lambert D, Noyer-Weidner M, Visvikis S. The Leu554Phe polymorphism in the E-selectin gene is associated with blood pressure in overweight people. *J Hypertens*. 2004;22(2):305-311.
 54. Sass C, Cheng S, Siest G, Visvikis S. Genetic influences on blood pressure within the Stanislas Cohort. *J Hypertens*. 2004;22(2):297-304.
 55. Hassan A, Lansbury A, Catto AJ, Guthrie A, Spencer J, Craven C, Grant PJ, Bamford JM. Angiotensin converting enzyme insertion/deletion genotype is associated with leukoaraiosis in lacunar syndromes. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2002;72(3):343-346.
 56. Farrer LA, Cupples LA, Haines JL, Hyman B, Kukull WA, Mayeux R, Myers RH, Pericak-Vance MA, Risch N, van Duijn CM. Effects of age, sex, and ethnicity on the association between apolipoprotein E genotype and Alzheimer disease. A meta-analysis. APOE and Alzheimer Disease Meta Analysis Consortium. *JAMA*. 1997;278(16):1349-1356.
 57. Caselli RJ, Dueck AC, Osborne D, Sabbagh MN, Connor DJ, Ahern GL, Baxter LC, Rapsak SZ, Shi J, Woodruff BK, Locke DE, Snyder CH, Alexander GE, Rademakers R, Reiman EM. Longitudinal modeling of age-related memory decline and the APOE epsilon4 effect. *N Engl J Med*. 2009;361(3):255-263.
 58. Boshuizen HC, Izaks GJ, van Buuren S, Ligthart GJ. Blood pressure and mortality in elderly people aged 85 and older: community based study. *BMJ*. 1998;316(7147):1780-1784.
 59. Satish S, Zhang DD, Goodwin JS. Clinical significance of falling blood pressure among older adults. *J Clin Epidemiol*. 2001;54(9):961-967.
 60. Askari M, Kiely DK, Lipsitz LA. Is pulse pressure a predictor of cardiovascular complications in a frail elderly nursing home population? *Aging Clin Exp Res*. 2004;16(3):206-211.

61. Asmar R, Benetos A, Topouchian J, Laurent P, Pannier B, Brisac AM, Target R, Levy BI. Assessment of arterial distensibility by automatic pulse wave velocity measurement. Validation and clinical application studies. *Hypertension*. 1995;26(3):485-490.
62. Salvi P, Lio G, Labat C, Ricci E, Pannier B, Benetos A. Validation of a new non-invasive portable tonometer for determining arterial pressure wave and pulse wave velocity: the PulsePen device. *J Hypertens*. 2004;22(12):2285-2293.
63. Wilkinson IB, Fuchs SA, Jansen IM, Spratt JC, Murray GD, Cockcroft JR, Webb DJ. Reproducibility of pulse wave velocity and augmentation index measured by pulse wave analysis. *J Hypertens*. 1998;16(12 Pt 2):2079-2084.
64. Benetos A, Buatois S, Salvi P, Marino F, Toulza O, Dubail D, Manckoundia P, Valbusa F, Rolland Y, Hanon O, Gautier S, Miljkovic D, Guillemin F, Zamboni M, Labat C, Perret-Guillaume C. Blood pressure and pulse wave velocity values in the institutionalized elderly aged 80 and over: baseline of the PARTAGE study. *J Hypertens*. 28(1):41-50.
65. Salvi P, Safar ME, Labat C, Borghi C, Lacolley P, Benetos A. Heart disease and changes in pulse wave velocity and pulse pressure amplification in the elderly over 80 years: the PARTAGE Study. *J Hypertens*. 28(10):2127-2133.
66. Cutler SJ, Grams AE. Correlates of self-reported everyday memory problems. *J Gerontol*. 1988;43(3):S82-90.
67. Bassett SS, Folstein MF. Cognitive impairment and functional disability in the absence of psychiatric diagnosis. *Psychol Med*. 1991;21(1):77-84.
68. Derouesne C, Lacomblez L, Thibault S, LePoncin M. Memory complaints in young and elderly subjects. *Int J Geriatr Psychiatry*. 1999;14(4):291-301.
69. Antikainen R, Hanninen T, Honkalampi K, Hintikka J, Koivumaa-Honkanen H, Tanskanen A, Viinamaki H. Mood improvement reduces memory complaints in depressed patients. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*. 2001;251(1):6-11.
70. Masur DM, Sliwinski M, Lipton RB, Blau AD, Crystal HA. Neuropsychological prediction of dementia and the absence of dementia in healthy elderly persons. *Neurology*. 1994;44(8):1427-1432.
71. Amieva H, Jacqmin-Gadda H, Orgogozo JM, Le Carret N, Helmer C, Letenneur L, Barberger-Gateau P, Fabrigoule C, Dartigues JF. The 9 year cognitive decline before dementia of the Alzheimer type: a prospective population-based study. *Brain*. 2005;128(Pt 5):1093-1101.
72. Elias MF, Beiser A, Wolf PA, Au R, White RF, D'Agostino RB. The preclinical phase of alzheimer disease: A 22-year prospective study of the Framingham Cohort. *Arch Neurol*. 2000;57(6):808-813.
73. Folstein MF, Folstein SE, McHugh PR. "Mini-mental state". A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *J Psychiatr Res*. 1975;12(3):189-198.
74. Derouesne C, Poitreneau J, Hugonot L, Kalafat M, Dubois B, Laurent B. [Mini-Mental State Examination:a useful method for the evaluation of the cognitive status of patients by the clinician. Consensual French version]. *Presse Med*. 1999;28(21):1141-1148.
75. Crum RM, Anthony JC, Bassett SS, Folstein MF. Population-based norms for the Mini-Mental State Examination by age and educational level. *JAMA*. 1993;269(18):2386-2391.
76. Kalafat M, Hugonot L, Poitreneau J. Etalonnage français du MMS version GRECO. *Revue de neuropsychologie*. 2003;13(2):209-236.

77. Derouesné C, Poitreneau J, Hugonot L, Kalafat M, Dubois B, Laurent B. Le Mini-Mental State Examination (MMSE) : un outil pratique pour l'évaluation de l'état cognitif des patients par le clinicien. *Presse Med.* 1999;28(2):1141- 1148.
78. Recommandation Haute Autorité de santé : Diagnostic et prise en charge de la maladie d'Alzheimer et des maladies apparentées. Mars 2008:8-9.
79. Watfa G, Dragonas C, Brosche T, Dittrich R, Sieber CC, Alecu C, Benetos A, Nzietchueng R. Study of telomere length and different markers of oxidative stress in patients with Parkinson's disease. *J Nutr Health Aging.* 2011;15(4):277-281.
80. Watfa G, Rossignol P, Kearney-Schwartz A, Fay R, Bracard S, Felblinger J, Boivin JM, Lacolley P, Zannad F, Benetos A. Use of calcium channel blockers is associated with better cognitive performance in older hypertensive patients with subjective memory complaints. *J Hypertens.* 2010;28(12):2485-2493.
81. Watfa G, Marteau JB, Rossignol P, Kearney-Schwartz A, Fay R, Bracard S, Felblinger J, Boivin JM, Lacolley P, Visvikis-Siest S, Benetos A, Zannad F. Association study of gene polymorphisms involved in vascular alterations in elderly hypertensives with subjective memory complaints. *Dement Geriatr Cogn Disord.* 2010;30(5):440-448.
82. Benetos A, Watfa G, Hanon O, Salvi P, Fantin F, Toulza O, Manckoundia P, Agnoletti D, Labat C, Gautier S. Pulse Wave Velocity is Associated With 1-Year Cognitive Decline in the Elderly Older than 80 Years: the PARTAGE Study. *J Am Med Dir Assoc.* In press.
83. Derouesne C. [Dementia. Diagnostic problems]. *Therapie.* 1993;48(3):189-193.
84. Fazekas F, Chawluk JB, Alavi A, Hurtig HI, Zimmerman RA. MR signal abnormalities at 1.5 T in Alzheimer's dementia and normal aging. *AJR Am J Roentgenol.* 1987;149(2):351-356.
85. Verdelho A, Henon H, Lebert F, Pasquier F, Leys D. Depressive symptoms after stroke and relationship with dementia: A three-year follow-up study. *Neurology.* 2004;62(6):905-911.
86. Grober E, Buschke H, Crystal H, Bang S, Dresner R. Screening for dementia by memory testing. *Neurology.* 1988;38(6):900-903.
87. Spreen O, Benton AL. Simulation of mental deficiency on a visual memory test. *Am J Ment Defic.* 1963;67:909-913.
88. Peigneux P, Van Der Linden M, Andres-Benito P, Sadzot B, Franck G, Salmon E. [A neuropsychological and functional brain imaging study of visuo-imitative apraxia]. *Rev Neurol (Paris).* 2000;156(5):459-472.
89. Spreen O. Prognosis of learning disability. *J Consult Clin Psychol.* 1988;56(6):836-842.
90. De Jager CA, Hogervorst E, Combrinck M, Budge MM. Sensitivity and specificity of neuropsychological tests for mild cognitive impairment, vascular cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Psychol Med.* 2003;33(6):1039-1050.
91. Qiu C, Winblad B, Viitanen M, Fratiglioni L. Pulse pressure and risk of Alzheimer disease in persons aged 75 years and older: a community-based, longitudinal study. *Stroke.* 2003;34(3):594-599.
92. Amieva H, Le Goff M, Millet X, Orgogozo JM, Peres K, Barberger-Gateau P, Jacqmin-Gadda H, Dartigues JF. Prodromal Alzheimer's disease: successive emergence of the clinical symptoms. *Ann Neurol.* 2008;64(5):492-498.
93. Benetos A, Buatois S, Salvi P, Marino F, Toulza O, Dubail D, Manckoundia P, Valbusa F, Rolland Y, Hanon O, Gautier S, Miljkovic D, Guillemin F, Zamboni M, Labat C, Perret-Guillaume C. Blood pressure and pulse wave velocity values in the institutionalized elderly aged 80 and over: baseline of the PARTAGE study. *J Hypertens.* 2010;28(1):41-50.

94. Benetos A, Watfa G, Hanon O, Salvi P, Fantin F, Toulza O, Manckoundia P, Agnoletti D, Labat C, Gautier S. Pulse Wave Velocity is Associated With 1-Year Cognitive Decline in the Elderly Older than 80 Years: the PARTAGE Study. *J Am Med Dir Assoc*. 2011.
95. Katz S, Ford AB, Moskowitz RW, Jackson BA, Jaffe MW. Studies of Illness in the Aged. The Index of Adl: A Standardized Measure of Biological and Psychosocial Function. *JAMA*. 1963;185:914-919.
96. [Management of adults with essential hypertension--2005 update--guidelines]. *J Mal Vasc*. 2006;31(1):16-33.
97. Alecu C, Gueguen R, Aubry C, Salvi P, Perret-Guillaume C, Ducrocq X, Vespignani H, Benetos A. Determinants of arterial stiffness in an apparently healthy population over 60 years. *J Hum Hypertens*. 2006;20(10):749-756.
98. Buatois S, Perret-Guillaume C, Gueguen R, Miget P, Vancon G, Perrin P, Benetos A. A simple clinical scale to stratify risk of recurrent falls in community-dwelling adults aged 65 years and older. *Phys Ther*. 90(4):550-560.
99. Kukull WA, Larson EB, Teri L, Bowen J, McCormick W, Pfanschmidt ML. The Mini-Mental State Examination score and the clinical diagnosis of dementia. *J Clin Epidemiol*. 1994;47(9):1061-1067.
100. Rakusa M, Granda G, Kogoj A, Mlakar J, Vodusek DB. Mini-Mental State Examination: standardization and validation for the elderly Slovenian population. *Eur J Neurol*. 2006;13(2):141-145.
101. Mancia G, De Backer G, Dominiczak A, Cifkova R, Fagard R, Germano G, Grassi G, Heagerty AM, Kjeldsen SE, Laurent S, Narkiewicz K, Ruilope L, Rynkiewicz A, Schmieder RE, Boudier HA, Zanchetti A, Vahanian A, Camm J, De Caterina R, Dean V, Dickstein K, Filippatos G, Funck-Brentano C, Hellemans I, Kristensen SD, McGregor K, Sechtem U, Silber S, Tendera M, Widimsky P, Zamorano JL, Erdine S, Kiowski W, Agabiti-Rosei E, Ambrosioni E, Lindholm LH, Viigimaa M, Adamopoulos S, Bertomeu V, Clement D, Farsang C, Gaita D, Lip G, Mallion JM, Manolis AJ, Nilsson PM, O'Brien E, Ponikowski P, Redon J, Ruschitzka F, Tamargo J, van Zwieten P, Waeber B, Williams B. 2007 Guidelines for the Management of Arterial Hypertension: The Task Force for the Management of Arterial Hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC). *J Hypertens*. 2007;25(6):1105-1187.
102. Forette F, Seux ML, Staessen JA, Thijs L, Babarskiene MR, Babeanu S, Bossini A, Fagard R, Gil-Extremuera B, Laks T, Kobalava Z, Sarti C, Tuomilehto J, Vanhanen H, Webster J, Yodfat Y, Birkenhager WH. The prevention of dementia with antihypertensive treatment: new evidence from the Systolic Hypertension in Europe (Syst-Eur) study. *Arch Intern Med*. 2002;162(18):2046-2052.
103. Toescu EC, Verkhatsky A. The importance of being subtle: small changes in calcium homeostasis control cognitive decline in normal aging. *Aging Cell*. 2007;6(3):267-273.
104. Farkas E, De Jong GI, Apro E, Keuker JJ, Luiten PG. Calcium antagonists decrease capillary wall damage in aging hypertensive rat brain. *Neurobiol Aging*. 2001;22(2):299-309.
105. Bartres-Faz D, Junque C, Lopez-Alomar A, Valveny N, Moral P, Casamayor R, Salido A, Bel C, Clemente IC. Neuropsychological and genetic differences between age-associated memory impairment and mild cognitive impairment entities. *J Am Geriatr Soc*. 2001;49(7):985-990.
106. Soininen HS, Riekkinen PJ, Sr. Apolipoprotein E, memory and Alzheimer's disease. *Trends Neurosci*. 1996;19(6):224-228.

V. ANNEXES

Annexe I : Article issu de Master 2 Recherche

Étude de différents marqueurs du stress oxydant et de la longueur des télomères chez des patients atteints de la maladie de Parkinson

Watfa G, Dragonas C, Brosche T, Dittrich R, Sieber CC, Alecu C, Benetos A, Nzietchueng R. Study of telomere length and different markers of oxidative stress in patients with Parkinson's disease. J Nutr Health Aging. 2011;15(4):277-281.

Introduction: De nombreuses données suggèrent que le stress oxydant pourrait être un facteur majeur dans la maladie de Parkinson (MP). L'étude sur la longueur des télomères (LT) occupe une position importante dans la recherche des biomarqueurs des pathologies liées à l'âge comme les maladies neurodégénératives. Actuellement, il existe peu de preuves in vivo en faveur de l'existence d'une corrélation entre la longueur des télomères, le stress oxydant et le processus neurodégénératif.

Objectifs: Evaluer chez des patients atteints de MP la longueur des télomères et des marqueurs du stress oxydant.

Patients et Méthodes: La longueur des télomères leucocytaires, l'activité plasmatique de la superoxyde dismutase (SOD) et les taux plasmatiques du glutathion et des protéines carbonylées sont mesurés chez 35 hommes et femmes, âgés > 65 ans, dont 20 Parkinsoniens et 15 contrôles de même âge.

Résultats: La différence de LT observée entre les Parkinsoniens ($6,06 \pm 0,81$ kb) et les contrôles ($6,45 \pm 0,73$ kb), n'a pas atteint le seuil de la significativité ($p = 0,08$). Concernant la mesure des marqueurs de stress oxydant, aucune différence significative n'a été observée entre les deux groupes. Chez les contrôles uniquement, l'âge était le déterminant principal du raccourcissement des télomères ($r = -0,547$; $p = 0,03$), tandis que chez les patients parkinsoniens, le raccourcissement des télomères a été corrélé aux concentrations plasmatiques des protéines carbonylées ($r = -0,544$; $p = 0,044$). Dans le groupe des Parkinsoniens, nous avons trouvé une relation négative entre les concentrations plasmatiques des protéines carbonylées et l'activité plasmatique de la SOD ($r = -0,622$, $p = 0,004$).

Conclusion: Chez des patients atteints de la maladie de Parkinson, LT est plus courte en présence de stress oxydant élevé tel que mesuré par les concentrations plasmatiques des protéines carbonylées. L'absence d'usure télomérique avec l'âge chez les Parkinsoniens pourrait refléter une régulation de la dynamique des télomères par des mécanismes autres que l'âge.

STUDY OF TELOMERE LENGTH AND DIFFERENT MARKERS OF OXIDATIVE STRESS IN PATIENTS WITH PARKINSON'S DISEASE

G. WATFA^{1,2,3}, C. DRAGONAS^{4,5}, T. BROSCHÉ⁵, R. DITTRICH⁶, C.C. SIEBER^{4,5}, C. ALECU¹,
A. BENETOS^{1,2}, R. NZIETCHUENG²

1. Department of Geriatrics, University Hospital of Nancy, Nancy, France; 2. Inserm, U961, Faculty of Medicine, Nancy, France; 3. Nancy University Hospital & Inserm Clinical Investigation Centre, CIC9501, Nancy, France; 4. Department of Internal Medicine (Geriatrics), Internal Medicine Clinic II, Clinical Center Nuremberg, Nuremberg, Germany; 5. Institute for Biomedicine of Aging, University of Erlangen-Nuremberg, Nuremberg, Germany; 6. Department of Obstetrics and Gynecology, Erlangen University Hospital University of Erlangen-Nuremberg, Erlangen, Germany. Correspondence: Athanase Benetos, Head of Department of Geriatrics, University Hospital of Nancy, 54500 Vandœuvre lès Nancy, France, Tel: +33 383 15 33 22; fax: +33 383 15 76 68, E-mail: a.benetos@chu-nancy.fr

Abstract: *Background:* Many studies have shown that short telomere length (TL) is associated with high oxidative stress and various age-related diseases. Parkinson's disease (PD) is an age-related disease, and although its pathogenic mechanism is uncertain, oxidative stress is believed to be implicated in this pathology. The aim of this case-control study was to assess both TL and the different markers of oxidative stress in elderly patients with PD compared to age control subjects. *Methods:* 20 PD patients and 15 age-matched controls, >65 years were studied. TL was measured by Southern blotting from DNA samples extracted from white blood cells. Superoxide dismutase (SOD) activity and plasma levels of total glutathione and protein carbonyls were determined. *Results:* There was a trend for lower TL in PD patients: 6.06 ± 0.81 kb in PD versus 6.45 ± 0.73 kb in controls ($p = 0.08$). No significant difference was found between the two groups in terms of oxidative stress markers. In controls, age was the main determinant of telomere shortening ($r = -0.547$; $p = 0.03$) whereas, in PD patients, telomere shortening was mainly dependent on plasmatic concentrations of carbonyl proteins ($r = -0.544$; $p = 0.044$). In PD patients, a negative association was observed between plasma carbonyl protein levels and SOD activity ($r = -0.622$, $p = 0.004$). *Conclusions:* In PD, TL is shorter in presence of high oxidative stress as measured by carbonyl protein levels. The absence of telomere attrition with age among patients with PD could reflect a telomere regulation by mechanisms other than age.

Key words: Aging, Parkinson's disease, oxidative stress, telomere length.

Abbreviations: BMI: Body Mass Index; CRP: C-Reactive Protein; CV: CardioVascular; DNPH: 2, 4-dinitrophenylhydrazine; DTNB: 5,5'-dithiobis-2-nitrobenzoic; GSH: Glutathione; HDL-C: High-Density Lipoprotein Cholesterol; kb: kilobase; LDL-C: Low-Density Lipoprotein Cholesterol; n.a: not applicable; PD: Parkinson's Disease; SOD: Superoxide dismutase; TG: TriGlycerides; TL: Telomere Length; TNB: 5-thio-2-nitrobenzoic; TRF: Terminal Restriction Fragment; WBCs: White Blood Cells.

Introduction

Telomeres are tandem repeats of TTAGGG of the DNA sequence at the ends of eukaryotic chromosomes. With each cell replication, telomeres shorten (attrition) until reaching a critical size where all cell replication becomes impossible, hence inducing cellular senescence (1, 2). At a given age, telomere size depends primarily on their size at birth and on the chronic effects of oxidative stress, the latter currently considered as the most powerful factor in the attrition of telomere size. Experimental evidence, obtained from various cell types (3-5), indicate that oxidative stress accelerates the attrition of telomeres. Thus, telomere length is both an indicator of the "life history" of the cell and of its fate (6). In humans, many studies have shown that relative telomere attrition is associated with various age-related diseases including hypertension, arterial stiffening, atherosclerosis and Alzheimer's disease (7-11). Parkinson's disease (PD) is an age-related neurodegenerative disease, and although its pathogenic mechanism is uncertain, oxidative stress is believed to be implicated in this pathology (12, 13). Therefore, one could expect that PD patients would show increased markers of

oxidative stress and shorter telomeres. However, few data exist regarding telomere length and PD. In a case-control study (96 cases and 172 age-matched controls), telomeres were not associated with the risk of PD (14). In a recent study by Guan et al. (15), although the authors did not observe a statistical difference in mean telomere length of peripheral leukocytes between PD patients and control participants, a percentage analysis of telomere length suggested that telomere shortening was accelerated in PD patients in comparison to controls (15).

To our knowledge, there has yet to be a study investigating the relationship between telomere attrition and oxidative stress in PD. The aim of the present case-control study was to assess both telomere length and various markers of oxidative stress in elderly patients with PD compared to age control subjects.

Methods

Population

This study is a sub-study of the project described previously (16). The present study included 20 patients with PD diagnosed according to the UK PD Society Brain Bank criteria, and 15 age-matched healthy controls, aged 65 years and older. All

Received March 29, 2010

Accepted for publication May 21, 2010

TRF AND OXIDATIVE STRESS IN PARKINSON'S

study participants were consecutively admitted to the geriatrics day hospital of Nuremberg and fulfilled the criteria of the SENIEUR protocol (17). This protocol defines healthy aged individuals for immunogerontological studies by setting clear health guidelines based on clinical and laboratory data. Briefly, the following exclusion criteria were applied to all participants: abdominal hematological and hepatic values, current myocardial infarction and stroke, cardiovascular disease, hypertension, diabetes mellitus, hyperuricemia, current infections and inflammation (defined as a serum C-reactive protein (CRP) value > 10 mg/L), malignancy, malnutrition and alcoholism. Also excluded were subjects with other neurodegenerative diseases, those on special diets, or taking antioxidant supplements or drugs with known influence on the immune system. Participants with prescribed antiparkinsonian drugs, acetylsalicylic acid (100 mg) or statins were included. All PD patients were treated with antiparkinsonian drugs, including levodopa, direct dopaminergics, amantadine, catechol-O-methyl transferase inhibitors, and monoamine-oxidase-B-inhibitors. Reasons for admission to the geriatric day hospital were adjustment of antiparkinsonian medication and physiotherapy in patients with PD, or treatment of depression or chronic pain syndrome in controls. All subjects gave written informed consent before entering the study. The study protocol was approved by the Ethics Committee of the University of Erlangen-Nuremberg, Germany.

Analytical methods

Blood was collected between 9.00 am and 10.00 am after an overnight fast of at least 12 h. Serum and EDTA samples were obtained following centrifugation at 1800 x g for 15 min, and stored at -28° C until analysis. Serum albumin was measured nephelometrically using an Immage Nephelometer (Beckman-Coulter Ltd., Krefeld, Germany). The Olympus AU2700 Clinical Chemistry System and manufacturer's reagents (Olympus, Hamburg, Germany) were used to measure lipids (total cholesterol, HDL cholesterol and triglycerides). LDL cholesterol was calculated using the Friedwald formula. CRP concentrations were determined with the Dynamik CRP AU kit (Biomed, Munich, Germany).

Measurements of the Terminal Restriction Fragments (TRF) Length

DNA samples were extracted from white blood cells (WBCs) as previously described (18) and verified for integrity on 0.8% agarose gel. TRF length was measured as previously described (7, 8, 19). Briefly, DNA samples were digested overnight with restriction enzymes *HinfI* and *RsaI* (40 units) and resolved on a 0.8% agarose gel (15 cm x 25 cm) at 40 V (PowerPac Basic, Bio-Rad). After 20 h, the DNA was depurinated, denatured and neutralized and then transferred for 1.5 h onto a positively charged nylon membrane (Amersham). The membranes were hybridized with the telomeric probe [digoxigenin 3'-end labeled 5'-(CCTAAA) 3] overnight and

washed in a sodium chloride and sodium citrate buffer. The digoxigenin-labeled probe was detected by the digoxigenin luminescent detection procedure (Roche) and exposed on X-ray film. Each DNA sample was measured in duplicate.

Oxidative stress determination

All oxidative stress markers were determined using the Cayman assay kits according to the manufacturer's instructions (Cayman Chemical, Ann Arbor, MI).

Briefly, carbonyl groups react with 2, 4-dinitrophenylhydrazine (DNPH) to generate chromophoric dinitrophenylhydrazones. Proteins were precipitated with trichloroacetic acid (20%) and washed with ethanol/ethyl acetate mixture. The resulting protein precipitates were dissolved in guanidine-HCl solution and the absorbances measured at 370nm, using a molar extinction coefficient of DNPH ($\epsilon = 2.2 \times 10^4 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$). Protein contents were determined simultaneously in the HCl blank pellets and protein carbonyl content was expressed in nanomoles per milliliter (nmol/ml).

For the determination of plasma total glutathione (GSH) content, plasma samples were deproteinized with metaphosphoric acid (50 mg/mL) and concentrated 3-fold. The sulfhydryl group of GSH reacts with 5,5'-dithiobis-2-nitrobenzoic acid (DTNB) via GSH reductase and produces a yellow-colored reaction product TNB (5-thio-2-nitrobenzoic acid) with Ellman's reagent. The mixed disulfide GSTNB, which is concomitantly produced, is reduced by GSH reductase to recycle GSH and produce more TNB. Absorbance was measured at 405 nm using a microplate reader.

Finally, assay temperature for Superoxide Dismutase (SOD) enzymatic activity was 25°C. Using a 96 well plate, radical detector (Tetrazolium) was added to sample and SOD standard wells. The reactions were initiated by adding Xanthine Oxidase to all wells. After incubation at room temperature, the absorbance was measured at 450 nm using a microplate reader. This kit utilizes a Tetrazolium salt for detection of superoxide radicals generated by Xanthine oxidase. One unit of SOD is defined as the amount of enzyme needed to exhibit 50% dismutation of the superoxide radical.

Statistical analysis

All statistical analyses were carried out with the NCSS (version 2000) software. All variables were tested for normal distribution of the data. Differences between the groups of patients with and without PD were examined using the Student's t test or for continuous variables, while Chi-Square test was used for categorical data. Bivariate correlations were performed using the Pearson correlation coefficient. A P value ≤ 0.05 was considered as significant.

Results

Main demographic, clinical and laboratory parameters for patients with PD and for age-matched healthy controls are summarized in Table 1. There was a trend for lower TRF in PD

patients: 6.06 ± 0.81 kb in PD versus 6.45 ± 0.73 kb in controls ($p = 0.08$ after adjustment for age and gender). No significant difference was found between the two groups with regard to plasmatic SOD activity, plasmatic concentrations of carbonyl proteins or total GSH ($p = 0.38$; $p = 0.35$; $p = 0.84$; respectively).

Table 1
Demographic, clinical and laboratory data of the study population

	PD Patients n=20	Controls n=15	P-Value
Demographic, clinical data			
Age, years	77.5 ± 6.0	78.7 ± 8.6	0.62
Gender, n, male/female	11/9	4/11	0.09
Weight, kg	76 ± 17.5	67.5 ± 11.7	0.10
Height, cm	165.2 ± 12.5	160.5 ± 9.1	0.22
BMI, kg/m ²	27.6 ± 4.2	26.4 ± 5.2	0.48
CV history, n, %	3, 15%	0, 0%	0.12
Smoking, n, %	0, 0%	2, 13%	0.09
Statins, n, %	4, 20%	4, 27%	0.56
Acetylsalicylic acid, n, %	10, 50%	6, 40%	0.68
Stage of PD	3.6 ± 0.7	n.a	
Duration of PD, year	4.4 ± 2.8	n.a	
Laboratory data			
Mean TRF, kb	6.03 ± 0.81	6.45 ± 0.73	0.11
SOD, U/ml	0.248 ± 0.04	0.261 ± 0.05	0.38
Total GSH, μ M	1.85 ± 0.77	1.80 ± 0.46	0.84
Carbonyl Proteins, nmol/ml	94.1 ± 29.9	102.6 ± 23.1	0.35
TG, mmol/L	1.52 ± 0.50	1.50 ± 0.72	0.92
Cholesterol, mmol/L	5.17 ± 1.07	5.30 ± 0.89	0.70
HDL-C, mmol/L	1.46 ± 0.44	1.60 ± 0.32	0.30
LDL-C, mmol/L	3.01 ± 0.86	3.02 ± 0.75	0.99
Protein, g/L	70.9 ± 3.9	71.3 ± 4.5	0.80
Albumin, g/L	40 ± 3.3	40.5 ± 3.3	0.67

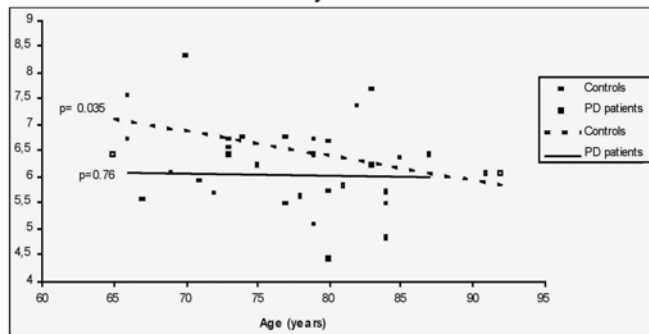
Data are expressed as: Mean $\pm$ SD and number (n) /Percentage (%). Student T-test (continuous variables) or Chi-Square tests (categorical variables) were used to verify the probability level between the two groups. PD: Parkinson's Disease; BMI: Body Mass Index; CV: CardioVascular; TRF: Terminal Restriction Fragment; SOD: Superoxide dismutase; Total GSH: Total Glutathione; TG: Triglycerides; HDL-C: High-Density Lipoprotein Cholesterol; LDL-C: Low-Density Lipoprotein Cholesterol; n.a: not applicable.

Effect of age on TRF length and oxidative stress markers in both groups

The relationship between TRF length and age was studied in both PD patients and age-matched controls. Telomere shortening with aging was observed only in controls ($r = -0.547$; $p = 0.03$), whereas in PD patients, no significant correlation was detected with age ($r = 0.073$, $p = 0.76$) (fig. 1).

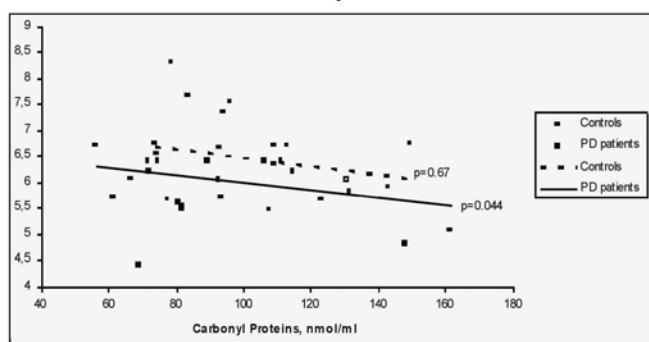
In PD patients but not in controls, a negative relationship was found between SOD activity and age ($r = -0.522$; $p = 0.02$), whereas no other significant association was found between other oxidative stress markers and age in PD patients. In contrast, there was no correlation between age and any of the oxidative stress markers in controls.

Figure 1
Association between TRF length and age in PD patients and healthy controls



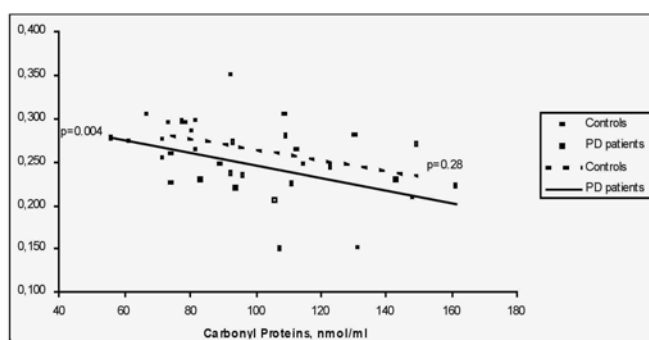
kb: kilobase; PD: Parkinson's Disease; TRF: Terminal Restriction Fragment

Figure 2
Association between Carbonyl Proteins and TRF in PD patients and healthy controls



kb: kilobase; PD: Parkinson's Disease; TRF: Terminal Restriction Fragment

Figure 3
Association between Carbonyl Proteins and SOD activity in PD patients and healthy controls



SOD: Superoxide dismutase; PD: Parkinson's Disease

Analysis of the relationship between oxidative stress markers and TRF length

In PD patients, a significant negative association was observed between the plasmatic concentrations of carbonyl proteins and TRF length ($r = -0.544$; $p = 0.044$) (fig.2). This

TRF AND OXIDATIVE STRESS IN PARKINSON'S

association remained unchanged after adjustment for age. In contrast, no other significant association was found between other oxidative stress markers and TRF length in PD patients, nor between any of the oxidative stress markers and TRF length in healthy controls (data not showed). Finally, plasmatic SOD activity was negatively correlated with plasmatic concentrations of carbonyl proteins ($r = -0.622$, $p = 0.004$) (fig.3).

Discussion and conclusion

To our knowledge, this is the first study concomitantly measuring telomere length and peripheral markers of oxidative stress in PD patients. The present case-control study conducted in a limited number of individuals provides some first elements of an implication of oxidative stress in the attrition of telomere length in PD patients. Notably, two results point in this direction: a trend toward lower TRF length ($p = 0.08$) and a significant inverse relationship between plasmatic concentrations of carbonyl proteins and TRF length.

The difference in telomere length of 0.4 kb observed between the two groups is comparable to differences reported in previous studies between controls and patients with different age-related alterations and diseases such as aortic stiffness (8, 9) carotid atherosclerosis (7) and dementia (10, 20). However, the association between PD and telomeres had never been established. For instance, Wang et al. (14) found no association between shorter telomeres with an increased risk of PD. In another study addressing the issue of telomere attrition in PD patients (15), Guan et al. did not observe a statistical difference in mean telomere length of peripheral leukocytes between PD patients and control participants. They did however observe mean telomere lengths shorter than 5 kb in only the PD patients and a significant PD-associated decrease in telomeres with a length ranging from 23.1 to 9.4 kb in patients in their 50s and 60s suggesting that telomere shortening is accelerated in PD patients in comparison to the normal population. Nevertheless, due to the small size of their population (28 Japanese male PD patients), we believe that this percentage analysis of telomere length would necessitate confirmation through large-scale studies.

Indeed, results herein could be influenced by intrinsic factors such as apoptosis which, according to Lev et al (21), play a role in the pathology of PD. Since apoptosis is involved in the removal of senescent cells and these cells have short telomeres, it is likely that apoptosis interferes with the overall average length of telomeres.

The presence of a correlation between TRF and age observed only in controls but not in PD patients is another interesting result of the present study. The slope of the relationship in the control group indicates an annual attrition of 47 bases per year which is comparable to that reported in other studies (7, 22). Conversely, the absence of telomere attrition with age among patients with PD could reflect telomere regulation by mechanisms other than age; i.e. the effects of PD

outweigh the influence of age. However, given the small size of the population of the present study, these results should be interpreted with due caution.

Despite the fact that oxidative stress has been proposed to play an important role in the pathogenesis of PD (12, 13, 23), no significant differences in markers of oxidative stress, namely plasma total GSH, protein carbonyls and SOD activity, were observed in the present study between PD patients and healthy controls. It is possible that the lack of such difference may be at least partially related to the fact that all patients were treated with l-dopa which may have anti-oxidant effects as previously proposed (24, 25).

In agreement with Serra et al. (26) and Younes-Mhenni et al. (27), we noted no significant changes in total glutathione levels in PD patients compared to controls. However, it should be kept in mind that one of the earliest biochemical changes seen in PD is a reduction in the levels of total glutathione, a key cellular antioxidant (28).

Alam et al. (29) suggested that oxidative protein damage, as measured by carbonyl assay in postmortem brain tissue from patients with PD and age-matched controls, is not a major contributor to the early stages of PD. Sudha et al. (30) also indicated no significant change in erythrocyte SOD activity of PD patients, although previous peripheral studies of SOD activity have been discordant. Indeed, an increase in peripheral blood SOD activity has been shown by some authors (27, 31), whereas others reported a significant decrease in SOD activity in the blood of PD patients compared to controls (32, 33). Moreover, in agreement with Ihara et al. (34), our analysis showed a negative correlation between SOD activity and age in PD patients, suggesting a decrease in anti-oxidant capacities with aging.

Thus, the present results indicate the presence of an imbalance between antioxidant defense (Plasma SOD activity) and production of oxidation (protein carbonyl levels) only in PD patients. The negative relationship between TRF length and protein carbonyls strongly suggests that this "imbalance" may play an important role in telomere attrition. This "clinical" result corroborates previous reported data from *in vitro* (35) and *in vivo* (3) studies indicating that oxidative stress is responsible for accelerated telomere attrition. This negative association between oxidative stress and TRF length was described in other chronic age-related diseases. Matthews and colleagues suggested that human atherosclerosis is characterized by senescence of vascular smooth muscle cells, accelerated by oxidative stress-induced DNA damage, inhibition of telomerase and marked telomere shortening (4). Moreover, we have recently shown that TFR is associated with oxidative stress as measured by plasma Nitrotyrosine levels in male with type 2 diabetes (19).

This study is not without limitations. Firstly, the present study population is relatively small. Secondly, although it has been suggested that TRF measurement in easily accessible tissues such as peripheral blood leukocytes could serve as a

surrogate parameter for relative telomere length in other tissues (36), oxidative stress markers in plasma may not reflect accumulated oxidative stress involved in the pathology of PD. Thirdly, large-scale, longitudinal cohorts are necessary to elucidate how telomere shortening is accelerated in an oxidative stress environment.

In conclusion, the present case-control study indicates that in Parkinson's disease, TRF length is shorter in presence of high oxidative stress as measured by carbonyl protein levels. The absence of telomere attrition with age among patients with PD could be explained by the fact that the effects of oxidative stress overwhelm the influence of age.

Acknowledgments: We thank Mr Pierre Pothier for his very pertinent comment on this paper and for linguistic corrections.

Financial disclosure: None of the authors had any financial interest or support for this paper.

References

1. Harley CB: Telomere loss: mitotic clock or genetic time bomb? *Mutat Res* 256: 271-282, 1991
2. Aviv A: Telomeres and human aging: facts and fables. *Sci Aging Knowledge Environ* 2004: pe43, 2004
3. Cattani V, Mercier N, Gardner JP, et al.: Chronic oxidative stress induces a tissue-specific reduction in telomere length in CAST/Ei mice. *Free Radic Biol Med* 44: 1592-1598, 2008
4. Matthews C, Gorenne I, Scott S, et al.: Vascular smooth muscle cells undergo telomere-based senescence in human atherosclerosis: effects of telomerase and oxidative stress. *Circ Res* 99: 156-164, 2006
5. von Zglinicki T: Oxidative stress shortens telomeres. *Trends Biochem Sci* 27: 339-344, 2002
6. Chang E and Harley CB: Telomere length and replicative aging in human vascular tissues. *Proc Natl Acad Sci U S A* 92: 11190-11194, 1995
7. Benetos A, Gardner JP, Zureik M, et al.: Short telomeres are associated with increased carotid atherosclerosis in hypertensive subjects. *Hypertension* 43: 182-185, 2004
8. Benetos A, Okuda K, Lajemi M, et al.: Telomere length as an indicator of biological aging: the gender effect and relation with pulse pressure and pulse wave velocity. *Hypertension* 37: 381-385, 2001
9. Jeanclos E, Schork NJ, Kyvik KO, Kimura M, Skurnick JH and Aviv A: Telomere length inversely correlates with pulse pressure and is highly familial. *Hypertension* 36: 195-200, 2000
10. Panossian LA, Porter VR, Valenzuela HF, et al.: Telomere shortening in T cells correlates with Alzheimer's disease status. *Neurobiol Aging* 24: 77-84, 2003
11. Samani NJ, Boulton R, Butler R, Thompson JR and Goodall AH: Telomere shortening in atherosclerosis. *Lancet* 358: 472-473, 2001
12. Dexter DT, Holley AE, Flitter WD, et al.: Increased levels of lipid hydroperoxides in the parkinsonian substantia nigra: an HPLC and ESR study. *Mov Disord* 9: 92-97, 1994
13. Jenner P and Olanow CW: Oxidative stress and the pathogenesis of Parkinson's disease. *Neurology* 47: S161-170, 1996
14. Wang H, Chen H, Gao X, et al.: Telomere length and risk of Parkinson's disease. *Mov Disord* 23: 302-305, 2008
15. Guan JZ, Maeda T, Sugano M, et al.: A percentage analysis of the telomere length in Parkinson's disease patients. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 63: 467-473, 2008
16. Dragonas C, Bertsch T, Sieber CC and Brosche T: Plasmalogens as a marker of elevated systemic oxidative stress in Parkinson's disease. *Clin Chem Lab Med* 47: 894-897, 2009
17. Ershler WB: The value of the SENIEUR protocol: distinction between "ideal aging" and clinical reality. *Mech Ageing Dev* 122: 134-136, 2001
18. Miller SA, Dykes DD and Polesky HF: A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res* 16: 1215, 1988
19. Tentolouris N, Nzietchueng R, Cattani V, et al.: White blood cells telomere length is shorter in males with type 2 diabetes and microalbuminuria. *Diabetes Care* 30: 2909-2915, 2007
20. Martin-Ruiz C, Dickinson HO, Keys B, Rowan E, Kenny RA and Von Zglinicki T: Telomere length predicts poststroke mortality, dementia, and cognitive decline. *Ann Neurol* 60: 174-180, 2006
21. Lev N, Melamed E and Offen D: Apoptosis and Parkinson's disease. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 27: 245-250, 2003
22. Nawrot TS, Staessen JA, Gardner JP and Aviv A: Telomere length and possible link to X chromosome. *Lancet* 363: 507-510, 2004
23. Barnham KJ, Masters CL and Bush AI: Neurodegenerative diseases and oxidative stress. *Nat Rev Drug Discov* 3: 205-214, 2004
24. Prigione A, Begni B, Galbussera A, et al.: Oxidative stress in peripheral blood mononuclear cells from patients with Parkinson's disease: negative correlation with levodopa dosage. *Neurobiol Dis* 23: 36-43, 2006
25. Prigione A, Isaias IU, Galbussera A, et al.: Increased oxidative stress in lymphocytes from untreated Parkinson's disease patients. *Parkinsonism Relat Disord* 15: 327-328, 2009
26. Serra JA, Dominguez RO, de Lustig ES, et al.: Parkinson's disease is associated with oxidative stress: comparison of peripheral antioxidant profiles in living Parkinson's, Alzheimer's and vascular dementia patients. *J Neural Transm* 108: 1135-1148, 2001
27. Younes-Mhenni S, Frih-Ayed M, Kerkeni A, Bost M and Chazot G: Peripheral blood markers of oxidative stress in Parkinson's disease. *Eur Neurol* 58: 78-83, 2007
28. Martin HL and Teismann P: Glutathione—a review on its role and significance in Parkinson's disease. *FASEB J* 23: 3263-3272, 2009
29. Alam ZI, Daniel SE, Lees AJ, Marsden DC, Jenner P and Halliwell B: A generalised increase in protein carbonyls in the brain in Parkinson's but not incidental Lewy body disease. *J Neurochem* 69: 1326-1329, 1997
30. Sudha K, Rao AV, Rao S and Rao A: Free radical toxicity and antioxidants in Parkinson's disease. *Neurol India* 51: 60-62, 2003
31. Kocaturk PA, Akbostanci MC, Tan F and Kavas GO: Superoxide dismutase activity and zinc and copper concentrations in Parkinson's disease. *Pathophysiology* 7: 63-67, 2000
32. Abraham S, Soundararajan CC, Vivekanandhan S and Behari M: Erythrocyte antioxidant enzymes in Parkinson's disease. *Indian J Med Res* 121: 111-115, 2005
33. Bostantjopoulou S, Kyriazis G, Katsarou Z, Kiosseoglou G, Kazis A and Mentenopoulos G: Superoxide dismutase activity in early and advanced Parkinson's disease. *Funct Neurol* 12: 63-68, 1997
34. Ihara Y, Chuda M, Kuroda S and Hayabara T: Hydroxyl radical and superoxide dismutase in blood of patients with Parkinson's disease: relationship to clinical data. *J Neurol Sci* 170: 90-95, 1999
35. Kurz DJ, Decary S, Hong Y, Trivier E, Akhmedov A and Erusalimsky JD: Chronic oxidative stress compromises telomere integrity and accelerates the onset of senescence in human endothelial cells. *J Cell Sci* 117: 2417-2426, 2004
36. De Meyer T, Rietzschel ER, De Buyzere ML, Van Criekinge W and Bekeart S: Studying telomeres in a longitudinal population based study. *Front Biosci* 13: 2960-2970, 2008

IAGG Institutional Care of Older Adults Conference

4 – 5 May, 2011 HONG KONG



INTERNATIONAL ASSOCIATION OF GERONTOLOGY AND GERIATRICS
SHATIN HOSPITAL, HOSPITAL AUTHORITY, HONG KONG
S. H. HO. CENTRE FOR GERONTOLOGY & GERIATRICS, THE CHINESE UNIVERSITY OF HONG KONG

www.cuhk.edu.hk/med/shhceg

Annexe II : Echelle de Mac Nair

	Jamais	Rarement	Parfois	Souvent	Très souvent
	0	1	2	3	4
■ Quand je suis interrompu(e) dans une lecture, j'ai du mal à retrouver où j'en suis	☐	☐	☐	☐	☐
■ Quand je fais des courses, j'ai besoin d'une liste écrite	☐	☐	☐	☐	☐
■ J'oublie des engagements, de me rendre à des rendez-vous, des réunions	☐	☐	☐	☐	☐
■ J'oublie de rappeler quand on m'a téléphoné	☐	☐	☐	☐	☐
■ J'ai du mal à mettre une clef dans une serrure	☐	☐	☐	☐	☐
■ J'oublie en cours de route des courses que j'avais projeté de faire	☐	☐	☐	☐	☐
■ J'ai des difficultés pour me rappeler le nom des gens que je connais	☐	☐	☐	☐	☐
■ J'ai des difficultés pour me concentrer sur un travail ou une occupation	☐	☐	☐	☐	☐
■ J'ai des difficultés à raconter une émission que je viens de voir à la télévision	☐	☐	☐	☐	☐
■ J'ai des difficultés à exprimer clairement ce que je voudrais dire	☐	☐	☐	☐	☐
■ Il m'arrive de ne pas reconnaître des gens que je connais	☐	☐	☐	☐	☐
■ Il m'arrive d'avoir un mot sur le bout de la langue et de ne pas pouvoir le sortir	☐	☐	☐	☐	☐
■ J'ai des difficultés à comprendre ce que je lis	☐	☐	☐	☐	☐
■ J'oublie le nom des gens juste après qu'ils m'aient été présentés	☐	☐	☐	☐	☐
■ Je perds le fil de mes idées lorsque j'écoute quelqu'un d'autre	☐	☐	☐	☐	☐
■ J'ai des difficultés à boutonner mes vêtements ou à tirer une fermeture éclair	☐	☐	☐	☐	☐
■ J'oublie quel jour de la semaine nous sommes	☐	☐	☐	☐	☐
■ Je fais des erreurs en écrivant ou en faisant des calculs	☐	☐	☐	☐	☐
■ Il m'est difficile de fixer mon esprit sur quelque chose	☐	☐	☐	☐	☐
■ J'ai du mal à coudre, à raccommoder, à faire des paquets, à effectuer des petites réparations	☐	☐	☐	☐	☐
■ J'ai du mal à fixer mon esprit sur ce que je lis	☐	☐	☐	☐	☐
■ J'oublie immédiatement ce que les gens viennent de dire	☐	☐	☐	☐	☐
■ J'oublie de payer des notes, de déposer des chèques, d'affranchir ou poster le courrier	☐	☐	☐	☐	☐
■ J'ai par moment l'impression d'avoir la tête vide	☐	☐	☐	☐	☐

■ J'oublie quel jour du mois nous sommes	☐	☐	☐	☐	☐
J'ai des difficultés à utiliser des outils, des ciseaux, un tire-bouchon, un ouvre-boîtes	☐	☐	☐	☐	☐

Ne pas remplir	Jamais	Rarement	Parfois	Souvent	Très souvent
Réservé au Médecin	0	1	2	3	4
Total de la colonne	/ _ / _ / x 0	/ _ / _ / x 1	/ _ / _ / x 2	/ _ / _ / x 3	/ _ / _ / x 4
	= 0	=	=	=	=
Score Total	(>15)	/ _ / _ / _ /			

Annexe III: Echelle de dépression GDS 30 items

Instructions : Encerclez la réponse exprimant le mieux comment vous vous sentiez au cours de la semaine passée.

1. Êtes-vous fondamentalement satisfait(e) de la vie que vous menez ?	oui	non
2. Avez-vous abandonné un grand nombre d'activités et d'intérêts ?	oui	non
3. Est-ce que vous sentez un vide dans votre vie ?	oui	non
4. Vous ennuyez-vous souvent ?	oui	non
5. Êtes-vous optimiste quand vous pensez à l'avenir ?	oui	non
6. Êtes-vous préoccupé(e) par des pensées dont vous n'arrivez pas à vous défaire ?	oui	non
7. Avez-vous la plupart du temps un bon moral ?	oui	non
8. Craignez-vous qu'il vous arrive quelque chose de grave ?	oui	non
9. Êtes-vous heureux/heureuse la plupart du temps ?	oui	non
10. Eprenevez-vous souvent un sentiment d'impuissance ?	oui	non
11. Vous arrive t-il souvent de ne pas tenir en place, de vous impatienter ?	oui	non
12. Préférez-vous rester chez vous au lieu de sortir pour faire de nouvelles activités ?	oui	non
13. Êtes-vous souvent inquiet(e) au sujet de l'avenir ?	oui	non
14. Avez-vous l'impression d'avoir plus de problèmes de mémoire que la majorité des gens ?	oui	non
15. Pensez-vous qu'il est merveilleux de vivre à l'époque actuelle ?	oui	non
16. Vous sentez-vous souvent triste et déprimé(e) ?	oui	non
17. Vous sentez-vous plutôt inutile dans votre état actuel ?	oui	non
18. Le passé vous préoccupe-t-il beaucoup ?	oui	non
19. Trouvez-vous la vie très excitante ?	oui	non
20. Avez-vous de la difficulté à entreprendre de nouveaux projets ?	oui	non
21. Vous sentez-vous plein(e) d'énergie ?	oui	non
22. Avez-vous l'impression que votre situation est désespérée ?	oui	non
23. Pensez-vous que la plupart des gens vivent mieux que vous ?	oui	non
24. Vous mettez-vous souvent en colère pour des riens ?	oui	non
25. Avez-vous souvent envie de pleurer ?	oui	non
26. Avez-vous de la difficulté à vous concentrer ?	oui	non
27. Êtes-vous heureux/heureuse de vous lever le matin ?	oui	non
28. Préférez-vous éviter les rencontres sociales ?	oui	non
29. Prenez-vous facilement des décisions ?	oui	non
30. Vos pensées sont-elles aussi claires que par le passé ?	oui	non

Score : | _ | _ | /30

Compter 1 si la réponse est non aux questions 1, 5, 7, 9, 15, 19, 21, 27, 29, 30 et oui aux autres.

Annexe IV : MMSE de Folstein (Version consensuelle du GRECO)

Mini Mental State Examination (MMSE) (Version consensuelle du GRECO)

Orientation

/ 10

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.

Quelle est la date complète d'aujourd'hui ? _____

Si la réponse est incorrecte ou incomplète, posez les questions restées sans réponse, dans l'ordre suivant :

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 trouvons.

6. Quel est le nom de l'hôpital où nous sommes ?*
7. Dans quelle ville se trouve-t-il ?
8. Quel est le nom du département dans lequel est située cette ville ?**
9. Dans quelle province ou région est située ce département ?
10. A quel étage sommes-nous ?

☐
☐
☐
☐
☐

Apprentissage

/ 3

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

- | | | | | |
|------------|----|--------|----|----------|
| 11. Cigare | | Citron | | Fauteuil |
| 12. Fleur | ou | Clé | ou | Tulipe |
| 13. Porte | | Ballon | | Canard |

☐
☐
☐

Répéter les 3 mots.

Attention et calcul

/ 5

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 pour ceux qui ont obtenu le maximum de points, demander :

Voulez-vous épeler le mot MONDE à l'envers ?**

Rappel

/ 3

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

- | | | | | |
|------------|----|--------|----|----------|
| 11. Cigare | | Citron | | Fauteuil |
| 12. Fleur | ou | Clé | ou | Tulipe |
| 13. Porte | | Ballon | | Canard |

☐
☐
☐

Langage

/ 8

Montrer un crayon.

22. Quel est le nom de cet objet ?*

Montrer votre montre.

23. Quel est le nom de cet objet ?**

24. Ecoutez bien et répétez après moi : « PAS DE MAIS, DE SI, NI DE ET »***

☐
☐
☐

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

25. Prenez cette feuille de papier avec votre main droite,

26. Pliez-la en deux,

27. Et jetez-la par terre. »****

☐
☐
☐

Tendre au sujet une feuille de papier sur laquelle est écrit en gros caractère : « FERMEZ LES YEUX » et dire au sujet :

28. « Faites ce qui est écrit ».

☐

Tendre au sujet une feuille de papier et un stylo, en disant :

29. « Voulez-vous m'écrire une phrase, ce que vous voulez, mais une phrase entière. »*****

☐

Praxies constructives

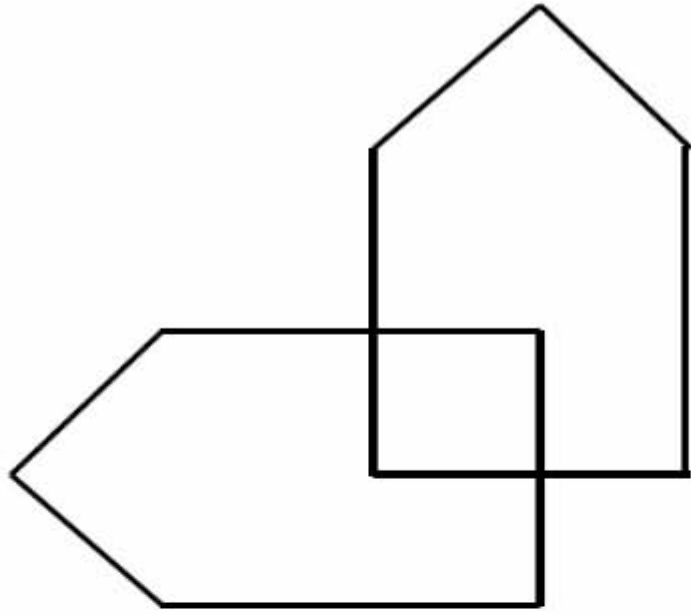
/ 1

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

☐

Score total : .../30

« FERMEZ LES YEUX »



Annexe V : Test de rétention visuelle de Benton :

FORME :

FORME :

Dessin	Rép.	Note	Erreurs			
1						
2						
3						
4						
5						
6						
7						
8						
9						
10						
Dessins corrects (TOTAL)			Nombre d'erreurs			
CATEGORIES D'ERREUR						
Omission	Déform.	Persév.	Rotation			
Déplac.	Dimen.	Gauche	Droite			

Dessin	Rép.	Note	Erreurs			
1						
2						
3						
4						
5						
6						
7						
8						
9						
10						
Dessins corrects (TOTAL)			Nombre d'erreurs			
CATEGORIES D'ERREUR						
Omission	Déform.	Persév.	Rotation			
Déplac.	Dimen.	Gauche	Droite			

OBSERVATIONS :

INTERPRETATION :

Annexe VI : Test de fluence verbale

Lettre P

[illegible]

Score 1min : ____ Score 2min : ____

Lettre R

[illegible]

Score 1 min : ____ Score 2 min : ____

Annexe VII : Test de Grober et Buschke (G&B) ou RL/RI16

Version A

RL/RI-16 : version de base

Catégorie	Item	RIM	Rappel 1		Rappel 2		Rappel 3		Rappel différé	
			RL1	RI1	RL2	RI2	RL3	RI3	RLD	RID
poisson	hareng									
vêtement	gilet									
jeu	domino									
fleur	jonquille									
profession	dentiste									
fruit	groseille									
métal	cuivre									
inst.mus.	harpe									
oiseau	mésange									
arbre	tilleul									
sport	judo									
légume	céleri									
danse	valse									
maladie	rougeole									
meuble	tabouret									
science	géographie									
Rép. correctes										
Score total (RL + RI)										
Faux										
Doubles										

RL/RI-16 : version parallèle

Catégorie	Item	RIM	Rappel 1		Rappel 2		Rappel 3		Rappel différé	
			RL1	RI1	RL2	RI2	RL3	RI3	RLD	RID
poisson	sardine									
vêtement	bonnet									
jeu	puzzle									
fleur	muguet									
profession	plombier									
fruit	abricot									
métal	aluminium									
inst.mus.	clarinette									
oiseau	corbeau									
arbre	platane									
sport	équitation									
légume	épinard									
danse	tango									
maladie	angine									
meuble	divan									
science	mathématiques									
Rep. correctes										
Score total (RL + RI)										
Faux										
Doubles										

Annexe VIII : Echelle d'évaluation des praxies

Praxies mélokinétiques

OUI NON

- Pianotage (G, D, bilatéral)

☐	☐
--------------------------	--------------------------

Praxies réflexives

- Former un V avec les deux mains
- Former 2 anneaux séparés
- Former 2 anneaux entrecroisés

☐	☐
☐	☐
☐	☐

Praxies idéatoires

- Repasser du linge
- Enfoncer un clou
- Se brosser les dents
- Se peigner les cheveux

☐	☐
☐	☐
☐	☐
☐	☐

Praxies idéomotrices

- signe d'adieu
- signe d'approche
- salut militaire
- signe de croix

☐	☐
☐	☐
☐	☐
☐	☐

Praxies bucco-faciales

- ouvrir la bouche
- se mordre les lèvres
- tirer la langue
- siffler
- claquer la langue

☐	☐
☐	☐
☐	☐
☐	☐
☐	☐

Score :/17

Annexe IX : Echelle d'autonomie de Katz pour les activités de base de la vie quotidienne ADL

Activités	État
Toilette (lavabo, bain ou douche)	1 besoin d'aucune aide. 0,5 besoin d'aide pour une seule partie du corps (dos, jambes ou pieds). 0 besoin d'aide pour la toilette de plusieurs parties du corps, ou toilette impossible.
Habillage (prend ses vêtements dans l'armoire ou les tiroirs, sous-vêtements et vêtements d'extérieur compris ; utilise boutons et fermeture éclair)	1 besoin d'aucune aide. 0,5 besoin d'une aide uniquement pour lacer ses chaussures, boutonner, fermer une fermeture éclair. 0 besoin d'aide pour prendre ses vêtements ou s'habiller, ou reste partiellement ou complètement déshabillé(e).
Aller aux W.-C. (pour uriner ou déféquer, s'essuyer et se rhabiller)	1 besoin d'aucune aide (aide possible pour se rendre aux W.-C. : canne, fauteuil roulant...) 0,5 besoin d'une aide. 0 ne va pas aux W.-C.
Locomotion	1 besoin d'aucune aide pour entrer et sortir du lit, s'asseoir ou se lever d'une chaise (peut utiliser un support comme une canne ou un déambulateur). 0,5 besoin d'une aide. 0 ne quitte pas le lit.
Continence	1 contrôle complet des urines et des selles. 0,5 accidents occasionnels. 0 incontinence totale, nécessité de sondage ou de surveillance permanente.
Alimentation	1 besoin d'aucune aide. 0,5 besoin d'aide pour couper la viande ou beurrer le pain. 0 besoin d'aide complète ou alimentation artificielle.

Réf. KATZ S et al. (1963). **Studies of illness in the aged : the index of ADL, a standardized measure of biological and psychosocial function**, Journal of American Medical Association, n°185, p. 914-919.