



Exposition aux endotoxines : influence de l'alimentation et rôle dans le vieillissement cognitif

Perrine Andre

► To cite this version:

Perrine Andre. Exposition aux endotoxines : influence de l'alimentation et rôle dans le vieillissement cognitif. Médecine humaine et pathologie. Université de Bordeaux, 2020. Français. NNT : 2020BORD0177 . tel-03123144

HAL Id: tel-03123144

<https://theses.hal.science/tel-03123144>

Submitted on 27 Jan 2021

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

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

THÈSE PRÉSENTÉE POUR OBTENIR LE GRADE DE

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

ÉCOLE DOCTORALE SOCIÉTÉS, POLITIQUE, SANTÉ PUBLIQUE

SPÉCIALITÉ SANTÉ PUBLIQUE – OPTION ÉPIDÉMIOLOGIE

**EXPOSITION AUX ENDOTOXINES : INFLUENCE DE
L'ALIMENTATION ET RÔLE DANS LE VIEILLISSEMENT COGNITIF**

Par Perrine ANDRÉ

Sous la direction de Catherine FÉART

Soutenue le 9 novembre 2020

Membres du jury

M. David-Alexandre Tregoüet	DR, Inserm U1219, Bordeaux	Président
Mme. Fatemeh Nourhashemi	PUPH, Toulouse	Rapportrice
Mme. Marie-Caroline Michalski	DR, INRAE, Lyon	Rapportrice
M. Stéphane Walrand	PUPH, CRNH, Clermont-Ferrand	Examineur
M. Benjamin Allès	CR, EREN, Paris	Examineur

EXPOSITION AUX ENDOTOXINES : INFLUENCE DE L'ALIMENTATION ET RÔLE DANS LE VIEILLISSEMENT COGNITIF

Résumé. La forme sporadique de la maladie d'Alzheimer représente l'une des maladies neurodégénératives les plus répandues à travers le monde, demeurant toutefois incurable de nos jours ; les traitements pharmacologiques ne permettant que d'en atténuer les symptômes sans pour autant freiner la progression de la maladie. Dans un modèle « vie-entière » d'interaction entre prédisposition génétique et facteurs environnementaux, les endotoxines - des substances toxiques d'origine bactérienne à fort potentiel pro-inflammatoire - émergent en tant que facteurs préjudiciables dans le concept de vieillissement en bonne santé. L'alimentation, théoriquement capable d'agir à la fois sur la composition du microbiote intestinal (principal réservoir à endotoxines de l'organisme) et d'influencer le passage des endotoxines vers la circulation sanguine, représente une stratégie prometteuse dans la modulation de l'exposition aux endotoxines. Les objectifs de cette thèse ont été d'une part (i) d'évaluer l'association entre des profils alimentaires et un biomarqueur de l'exposition plasmatique aux endotoxines, et d'autre part (ii) d'évaluer l'association entre des biomarqueurs de l'exposition plasmatique aux endotoxines et le risque de maladie d'Alzheimer, au sein d'une population âgée. Compte-tenu de la nature multidimensionnelle de l'alimentation, deux approches complémentaires ont été utilisées pour définir l'exposition nutritionnelle. Le score d'adhérence au régime Méditerranéen (construit selon une approche confirmatoire *a priori*) ainsi que l'adhérence à un régime de type « prudent » (dérivé d'une approche exploratoire *a posteriori*) caractérisé principalement par une consommation riche en fruits et légumes et pauvre en biscuits, étaient inversement associés aux taux circulants d'acides gras 3-hydroxylés, un proxy de la quantification totale en endotoxines plasmatiques. À l'inverse, un régime de type « sud-ouest » caractérisé principalement par une consommation riche en alcool, viande, charcuterie et dans une moindre mesure en légumineuses et céréales était associé à des taux plus élevés d'acides gras 3-hydroxylés. Ces résultats suggéraient que l'alimentation pourrait être une piste prometteuse ciblant l'endotoxémie, et donc les processus inflammatoires en découlant, chez la personne âgée. Alors qu'aucune association n'a été mise en évidence entre les taux d'acides gras 3-hydroxylés à l'inclusion et le risque de survenue d'une maladie d'Alzheimer, des taux plasmatiques plus élevés de *Lipopolysaccharides-Binding Protein* (LBP) - protéine de transport des endotoxines - étaient associés à un sur-risque de maladie d'Alzheimer plus d'une décennie après. Étant donné que la LBP, essentielle dans l'initiation de la réponse immunitaire et inflammatoire aux endotoxines, est considérée comme un biomarqueur de l'activité biologique effective des endotoxines comparativement à la quantité totale en endotoxines circulantes, ces résultats suggéraient l'implication de l'endotoxémie dans la pathogenèse de la maladie d'Alzheimer.

Mots clés. Endotoxémie ; Lipopolysaccharides ; Démence ; Maladie d'Alzheimer ; Alimentation ; Profils alimentaires

Unité de recherche

Unité INSERM U1219 - Université de Bordeaux – ISPED
146 rue Léo Saignat 33076 Bordeaux, France

ENDOTOXIN EXPOSURE: DIET INFLUENCE AND ROLE IN COGNITIVE AGING

Abstract. The sporadic form of Alzheimer's disease is one of the most widespread neurodegenerative diseases worldwide, yet remains incurable today; pharmacological treatments only alleviate the symptoms without slowing down the disease progression. In a "life-course" model of interaction between genetic predisposition and environmental factors, endotoxins - toxic substances of bacterial origin with strong pro-inflammatory potential - emerge as detrimental factors in the concept of healthy aging. Diet, theoretically capable of acting both on the composition of the gut microbiota (the body's main endotoxin reservoir) and of influencing the passage of endotoxins into the bloodstream, represents a promising strategy in modulating endotoxin exposure. The objectives of this thesis were (i) to assess the association between dietary patterns and a biomarker of total plasma endotoxin exposure, and (ii) to assess the association between biomarkers of plasma endotoxin exposure and the risk of Alzheimer's disease, in an elderly population. Given the multidimensional nature of diet, two complementary approaches were used to assess dietary exposure. The adherence to the Mediterranean diet (based on a *a priori* confirmatory approach) as well as adherence to a "prudent" type diet (derived from a *a posteriori* exploratory approach) mainly characterized by a high consumption of fruits and vegetables and a low one in cookies, were inversely associated with circulating levels of 3-hydroxy fatty acids, a proxy of the total plasma endotoxins exposure. Conversely, a "south-west" diet mainly characterized by a high consumption of alcohol, meat, processed meat and to a lesser extent legumes and cereals was associated with higher levels of 3-hydroxy fatty acids. These results suggested that the diet could be a promising strategy to target endotoxemia and its consequence on inflammatory processes. While no association has been observed between the baseline levels of 3-hydroxy fatty acids and the risk of Alzheimer's disease, higher plasma levels of Lipopolysaccharides-Binding Protein (LBP) - an endotoxin transport protein - were associated with an increased risk of Alzheimer's disease more than a decade later. Given that LBP is considered as a biomarker of the current biological activity of endotoxins compared with the total amount of circulating endotoxins, and essential in the initiation of the immune and inflammatory response to endotoxins, these results suggested the involvement of endotoxemia in the pathogenesis of Alzheimer's disease.

Key words. Endotoxemia; Lipopolysaccharides; Dementia; Alzheimer's disease; Diet; Dietary profiles

Unité de recherche

Unité INSERM U1219 - Université de Bordeaux – ISPED
146 rue Léo Saignat 33076 Bordeaux, France

REMERCIEMENTS

Une montagne. Mais pas n'importe quelle montagne. Non. Le genre de montagne entourée d'un épais nuage opaque, nous empêchant d'en voir le sommet. Le genre de montagne empli de sinueux sentiers à l'horizon inconnu. Le genre de montagne qui nous ébahi par son incommensurable grandeur. Le genre de montagne qu'on ne gravit qu'une fois dans sa vie. Ce genre de montagne.

Ce genre de montagne que ma directrice de thèse m'a dessiné il y a de cela 3 ans comme métaphore du doctorat que j'allais entreprendre. Et quelle belle métaphore. De la base symbolisant le début de cette aventure en septembre 2017, jusqu'à son sommet, symbole de la ligne d'arrivée.

Et enfin, une montagne car j'ai une montagne de remerciements à faire.

À ma directrice de thèse, Catherine Féart

À l'instar d'un guide, tu as su m'orienter à travers chemins et après 3 belles années, ça y est, nous y sommes au sommet de cette montagne. Et aujourd'hui, si tu me le permets, j'aimerais ajouter un petit drapeau en son pic. De là-haut, on peut apercevoir tout le chemin que l'on a parcouru pour en arriver jusqu'ici. Un chemin qui, après coups, n'a pas toujours été le choix le plus simple ! Mais quelle belle aventure. Je ne te remercierai jamais assez pour ta confiance, ta bienveillance infaillible et ton partage d'expérience. Merci pour ton optimisme, pour ces réunions passionnantes et pour toutes ces incroyables expériences que j'ai pu vivre durant ces 3 années grâce à toi. Au-delà de tes qualités en tant que directrice de thèse, tu es une personne inspirante et rayonnante comme on en rencontre peu dans une vie. Tu sais tout le bien que je pense de toi. Ce fut un honneur d'être ta première doctorante.

Aux membres de mon jury de thèse,

Merci à vous, M. David-Alexandre Tregouët, Mme Fatemeh Nourhashemi, Mme Marie-Caroline Michalski, M. Benjamin Allès et M. Walrand pour l'enthousiasme dont vous avez fait preuve en acceptant d'évaluer ces travaux de thèse. Vos expertises complémentaires seront, j'en suis convaincue, à l'origine de discussions des plus intéressantes. C'est un honneur de défendre ma thèse face à vous.

À l'équipe pédagogique de l'ISPED

Mes sincères remerciements à toute l'équipe pédagogique de l'ISPED pour les enseignements de qualité dont j'ai pu bénéficier. Des outils qui m'ont été essentiels pour gravir cette montagne.

Et c'est avec je l'avoue un peu de nostalgie que je me retourne désormais en admirant tout le chemin parcouru jusqu'ici. Un chemin qui a été rempli de belles rencontres.

À l'équipe LEHA et autres collaborateurs du centre BPH

Tout d'abord, je souhaiterais remercier l'équipe LEHA et les autres collaborateurs du centre BPH : Cécile, Catherine F, Cécilia, Catherine H, Karine, Sylvie, Luc, Audrey, Mélanie, Bénédicte M, Marie-Hélène, Corinne, Jean-François Dartigues... Merci à vous pour votre accueil chaleureux, votre bienveillance et votre expertise. Il est rare d'être aussi vite, et aussi bien, intégrée dans une équipe.

À l'ensemble de mes collaborateurs

J'adresse mes infinis remerciements à l'ensemble des personnes avec qui j'ai eu l'honneur de collaborer pour mener à bien ces travaux de thèse mais également d'autres projets ancillaires. Plus particulièrement, Mme Fabienne Laugerette merci pour votre expertise précieuse et votre accueil au sein du laboratoire CarMeN. M. Jean-Paul Pais de Barros, merci pour votre disponibilité, votre expertise et votre intérêt dans mes recherches. Mme Martine Morzel, M. Éric Neyraud, M. Gordon Proctor, M. David Gomez-Cabrero, M. Fernando Rodriguez-Artalejo, Mme Esther Lopez-Garcia, Mme Esther Garcia-Esquinas, merci à vous pour cette belle collaboration, votre dynamisme, votre bienveillance et nos échanges toujours plus intéressants les uns que les autres.

Aux membres de mon comité de suivi de thèse

Pour votre regard expert et vos conseils précieux, merci à vous d'avoir accepté de faire partie de mon comité de suivi de thèse : M. Luc Letenneur, Mme Lucile Capurron et Mme Linda Wittkop.

Aux patients, famille de patients et aux personnes engagées dans la recherche

Je souhaiterais également dédier cette thèse aux patients et aux familles des patients atteints de la maladie d'Alzheimer, ainsi qu'à l'ensemble des personnes qui accorde chaque jour de leur temps dans le seul but de faire avancer la recherche.

Aux responsables pédagogiques et étudiants

Le partage scientifique étant probablement l'une des plus belles choses que je pouvais offrir durant ma thèse, je souhaiterais sincèrement remercier les responsables pédagogiques des parcours IADE, sages-femmes, M1 EAD de l'ISPED et DU « Méthodes statistiques en santé »

qui m'ont fait confiance en me permettant d'encadrer et de dispenser les cours d'épidémiologie et de statistiques à leurs étudiants tout au long de ces années. Merci également à l'ensemble des étudiants pour votre dynamisme et vos attentions touchantes tout au long des cours.

Au bureau Michou

J'aimerais ensuite tout particulièrement remercier le bureau Michou - et sa version élargie - où j'ai passé le plus clair de mon temps durant ces 3 dernières années. Un bureau qui pourrait s'apparenter à un refuge où se ressourcer, sur les sentiers sinueux de cette montagne. J'ai eu la chance d'y rencontrer bien plus que de simples collègues. Des personnes bienveillantes et attentionnées qui illuminent vos journées du matin au soir. On devrait tous avoir un petit bureau Michou dans sa vie. Merci à vous Bénédicte, Virginie N, Morgane, Aline, Hermine, Sophie, Maude, Soufiane, Leslie, Gwendoline, Camille, Corentin, Jocelyn, Virginie C, Quentin, Jérémie, Marine, Marie-Gabrielle... Ne changez rien, vous êtes exceptionnels tous autant que vous êtes. Par cette thèse, je succède à certains d'entre vous (qui ont d'ailleurs placé la barre très haute !), et c'est à mon tour avec beaucoup d'humilité et de bienveillance que je souhaite encourager ceux et celles qui vont me succéder dans cette aventure, avec une pensée toute particulière pour Morgane, et mes 2 co-doctorantes Hermine & Virginie C. À vous, futurs doctorants, je vous souhaite de trouver votre propre voie qui vous mènera au sommet, et bien plus loin encore. Ce n'est qu'un au revoir, bureau Michou !

À mes amis

Une énorme pensée à mes chers amis et Maîtres Buveurs toujours présents malgré l'éloignement géographique. Vous êtes la famille que j'ai choisie : Mathou, Hina, Sel, le Bozec, Salanon, p'tit Seb, Pq, Alizée, Caleca, Dzierzbicki, Charles, Alix, Élo, Caro, Fr, Freud, Flo, G-lo, Jo, Mayeul, Caro, Vincent, Margaux, Barri, Besson, Aymeric, Élodie, Aurèle, Astrid, Zielcke, Kéo, Lulu, Dodo, Marie-Laure, Jojo, Gégé, Mallow, Laury, Beber ... Merci de faire partie de ma vie depuis tant d'années.

À ma petite sœur

À toi ma petite sœur, mon yin et mon yang à la fois, à toutes nos chamailleries mais surtout à tout cet amour et cette bienveillance que je te porte.

À tous mes êtres proches

À mes grands-parents et à tous mes êtres proches dont certains sont partis trop tôt, je vous dédie cette thèse. La vie a peut-être le pouvoir de nous éloigner physiquement, mais ne pourra me priver de ce que vous m'avez donné et enseigné.

À mes parents

Et enfin, que serait une montagne sans ses puissantes bases. A vous, mes parents. De vrais piliers dans une vie. Une thèse entière ne suffirait pas pour vous dire à quel point vous comptez pour moi. Merci d'avoir fait de moi ce que je suis. Merci de m'avoir transmis vos valeurs, votre positivité sans faille, et tant de choses encore. Grâce à vous et votre soutien indéfectible, je serais capable d'en déplacer des centaines, des montagnes comme celle-là !

Table des matières

TABLE DES MATIERES

VALORISATION SCIENTIFIQUE

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES FIGURES

LISTE DES ANNEXES

LISTE DES ACRONYMES ET ABREVIATIONS

NOTATIONS

AVANT-PROPOS : INTRODUCTION GÉNÉRALE ET OBJECTIFS

CHAPITRE I. INTRODUCTION ET ÉTAT DES CONNAISSANCES 1

1.1. SYNDROME DEMENTIEL ET DECLIN COGNITIF LIE A L'ÂGE	1
1.1.1. ÉVOLUTION DU CONCEPT HISTORIQUE	1
1.1.2. HÉTÉROGÉNÉITÉ DU TABLEAU CLINIQUE	2
1.1.2.1. Diagnostic clinique du syndrome démentiel	2
1.1.2.2. Etiologies principales du syndrome démentiel	3
1.1.2.3. Diagnostic clinique de la maladie d'Alzheimer	4
1.1.3. SIGNES NEUROPATHOLOGIQUES DE LA MALADIE D'ALZHEIMER	5
1.1.4. PREVALENCE, INCIDENCE ET TENDANCES ÉVOLUTIVES	9
1.1.5. PRISE EN CHARGE ET TRAITEMENTS PHARMACOLOGIQUES	11
1.1.6. UN PROCESSUS MULTI-PATHOGENIQUE VIE-ENTIÈRE	13
1.1.6.1. Facteurs de risques non modifiables	13
1.1.6.2. Facteurs de risques modifiables	15
1.1.6.2.1. Facteurs cardio-vasculaires	15
1.1.6.2.2. Facteurs psycho-sociaux	16
1.1.6.2.3. Facteurs de mode de vie	17
1.1.6.2.4. Intérêt des études multi-domaines	20
1.1.7. SYSTÈME IMMUNITAIRE INNE ET COMPOSANTE INFLAMMATOIRE DANS LA MALADIE D'ALZHEIMER	21
1.1.7.1. Neuro-inflammation	23
1.1.7.2. Voies de communication entre le système nerveux central et la périphérie	26
1.1.7.3. Inflammation systémique	28
1.1.7.3.1. Association entre inflammation systémique et maladie d'Alzheimer	28
1.1.7.3.2. Hypothèse infectieuse dans la composante inflammatoire de la maladie d'Alzheimer	29
1.1.7.3.3. L'inflammation systémique comme dénominateur commun de nombreux facteurs de risque de la maladie d'Alzheimer	30
1.1.7.4. Prédisposition génétique associée aux composants du système immunitaire et à l'inflammation	31
1.1.7.5. Traitements anti-inflammatoires non stéroïdiens	32
 1.2. LES ENDOTOXINES : DES SUBSTANCES TOXIQUES UBIQUITAIRES	 35
1.2.1. DÉFINITION, STRUCTURE ET ORIGINE	35
1.2.2. LE MICROBIOTE INTESTINAL : RÉSERVOIR ENDOGÈNE D'ENDOTOXINES	36
1.2.3. ENDOTOXÉMIE	38
1.2.4. RÉPONSE IMMUNITAIRE ET PROCESSUS INFLAMMATOIRE EN RÉPONSE À L'ENDOTOXÉMIE	39
1.2.5. UN LARGE SPECTRE DE PATHOLOGIES ASSOCIÉES	44
1.2.6. RÔLE DANS LES TROUBLES COGNITIFS ET LA DÉMENCE	48

1.2.7.1. Contribution des modèles d'inoculation d'endotoxines dans la compréhension de la pathologie de la démence	48
1.2.7.1.1. Modèles expérimentaux chez l'animal	48
1.2.7.1.2. Inoculation systémique d'endotoxines chez l'Homme	50
1.2.7.2. Expositions vie-entière aux endotoxines, troubles cognitifs et syndrome démentiel : études observationnelles	52
1.3. LA NUTRITION : UN FACTEUR CLE DANS L'EXPOSITION VIE-ENTIERE AUX ENDOTOXINES	55
1.3.1. DU MACRONUTRIMENT CANDIDAT	55
1.3.2. VERS UNE APPROCHE PAR PROFIL ALIMENTAIRE	58
CHAPITRE II. HYPOTHÈSES ET OBJECTIFS SPÉCIFIQUES DU PROJET DE THÈSE	61
CHAPITRE III. DONNÉES DISPONIBLES	64
3.1. LA COHORTE DES 3-CITES	64
3.1.1. OBJECTIF ET POPULATION	64
3.1.2. RECUEIL DE DONNEES	64
3.1.2.1. Données générales	64
3.1.2.2. Données cognitives, d'imagerie et de diagnostic de démence	66
3.1.2.3. Données nutritionnelles	69
3.2. PROJET ENIMA	72
3.2.1. SELECTION DE L'ECHANTILLON ET <i>DESIGN</i> D'ETUDE	72
3.2.2. DOSAGE DES MARQUEURS DE L'ENDOTOXEMIE ET DE L'INFLAMMATION	74
3.3. PROJET NUTENDEM	75
3.3.1. SELECTION DE L'ECHANTILLON D'ETUDE	75
3.3.2. DOSAGE DU MARQUEUR DE L'ENDOTOXEMIE	75
CHAPITRE IV. PROFILS ALIMENTAIRES ET ENDOTOXÉMIE	76
4.1. INTRODUCTION	76
4.2. METHODOLOGIE STATISTIQUE	76
4.2.1. IDENTIFICATION DES PROFILS ALIMENTAIRES <i>A PRIORI</i> ET <i>A POSTERIORI</i>	76
4.2.1.1. Le régime Méditerranéen <i>a priori</i>	77
4.2.1.2. Profils alimentaires <i>a posteriori</i>	79
4.2.2. MINI NUTRITIONAL ASSESSMENT	80
4.2.3. SYNDROME METABOLIQUE	82
4.2.4. METHODOLOGIE STATISTIQUE	82
4.2.4.1. Codage des covariables	82
4.2.4.2. Analyses statistiques	83
4.3. RESULTATS	84
4.3.1. CARACTERISTIQUES DESCRIPTIVES	84
4.3.1.1. Caractéristiques descriptives des participants	84
4.3.1.2. Caractéristiques descriptives des profils alimentaires	88
4.3.1.3. Caractéristiques descriptives des taux d'acides gras 3-hydroxylés	92
4.3.2. ASSOCIATION ENTRE PROFILS ALIMENTAIRES ET TAUX CIRCULANTS D'ACIDES GRAS 3-HYDROXYLES	94
4.3.3. ANALYSES DE SENSIBILITE	96
4.3.4. ANALYSES SECONDAIRES	96
4.3.4.1. Risque de malnutrition et taux circulants d'acides gras 3-hydroxylés	96
4.3.4.2. Syndrome métabolique et taux circulants d'acides gras 3-hydroxylés	96

4.4. DISCUSSION	97
CHAPITRE V. ENDOTOXÉMIE ET RISQUE DE DÉMENCE	101
5.1. INTRODUCTION	101
5.2. METHODOLOGIE ET RESULTATS DU PROJET ENIMA	101
5.2.1. METHODOLOGIE STATISTIQUE	102
5.2.1.1. Codage des covariables	102
5.2.1.2. Analyses statistiques	102
5.2.2. RESULTATS	104
5.2.2.1. Caractéristiques descriptives	104
5.2.2.2. Association entre biomarqueurs de l'exposition aux endotoxines et risque de maladie d'Alzheimer	106
5.2.2.3. Analyses de sensibilité	109
5.3. METHODOLOGIE ET RESULTATS DU PROJET NUTÈNDEM	111
5.3.1. METHODOLOGIE STATISTIQUE	111
5.3.1.1. Codage des covariables	111
5.3.1.2. Analyses statistiques	112
5.3.2. RESULTATS	113
5.3.2.1. Caractéristiques descriptives	113
5.3.2.2. Association entre biomarqueurs de l'exposition aux endotoxines et risque de démence ou de maladie d'Alzheimer	114
5.4. DISCUSSION	116
CHAPITRE VI. DISCUSSION GÉNÉRALE ET PERSPECTIVES	121
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	126
ANNEXES	162

Valorisation scientifique

Articles scientifiques et communications dans le cadre du projet de thèse

Articles publiés :

André P, Samieri C, Buisson C, Dartigues JF, Helmer C, Laugerette F, Féart C. Lipopolysaccharide-Binding Protein, Soluble CD14, and the Long-Term Risk of Alzheimer's Disease: A Nested Case-Control Pilot Study of Older Community Dwellers from the Three-City Cohort. *J Alzheimers Dis.* 2019;71(3):751-761. DOI : 0.3233/JAD-190295.

André P, Laugerette F, Féart C. Metabolic Endotoxemia: A Potential Underlying Mechanism of the Relationship between Dietary Fat Intake and Risk for Cognitive Impairments in Humans? *Nutrients.* 2019 Aug 13;11(8):1887. DOI : 10.3390/nu11081887.

Article en cours de soumission :

André P, Pais de Barros JP, Samieri C, Merle B, Helmer C, Delcourt C, Féart C. Mediterranean diet and prudent diet are both associated with low circulating esterified 3-hydroxy fatty acids, a proxy of lipopolysaccharide (LPS) burden, among older adults. (soumis à *The American Journal of Clinical Nutrition*).

Communications orales :

André P, Samieri C, Buisson C, Pierre V, Helmer C, Laugerette F, Féart C. Plasma endotoxemia, inflammation and long-term risk of Alzheimer's disease among elderly community-dwellers. *International Life Science Institute. Nutrition for the ageing brain: Moving towards clinical applications*. 30-31 août 2018. Madrid (Espagne).

André P, Samieri C, Buisson C, Pierre V, Helmer C, Laugerette F, Féart C. Rôle de l'endotoxémie dans la maladie d'Alzheimer. *Séminaire de recherche : approches et expertises croisées dans l'étude du vieillissement. Bordeaux Population Health Center*. 24 janvier 2019. Bordeaux (France).

André P, Bergheim I, Weber D, Brandt A, Helmer C, Féart C. Lipopolysaccharide (LPS)-Binding Protein, marqueur de l'activation immunitaire en réponse aux LPS, et syndrome métabolique chez la personne âgée. *Journées Francophones de la Nutrition*. 27-29 novembre 2019. Rennes (France).

Communications affichées :

André P, Samieri C, Buisson C, Pierre V, Helmer C, Laugerette F, Féart C. Plasma endotoxemia, inflammation and long-term risk of Alzheimer's disease among elderly community-dwellers. *Alzheimer's Association International Conference*. 26-30 juillet 2019. Los Angeles (États-Unis).

André P, Pais de Barros JP, Merle B, Helmer C, Delcourt C, Féart C. Mediterranean and *a posteriori* Prudent diets are associated with low circulating 3-hydroxy fatty acids, a proxy of Lipopolysaccharide (LPS) burden. *ESPEN Congress on Clinical Nutrition and Metabolism*. 19-21 septembre 2020. Congrès Virtuel.

Communication récompensée par un prix :

André P, Samieri C, Buisson C, Pierre V, Helmer C, Laugerette F, Féart C. Plasma endotoxemia, inflammation and long-term risk of Alzheimer's disease among elderly community-dwellers. *Mind Mood Microbes*. 17-18 janvier 2019. Amsterdam (Pays-Bas) (*prix du meilleur poster*).

Partage scientifique :

Co-responsable avec Morgane Linard de la mise en place de réunions mensuelles sur la thématique ‘Infection, Inflammation et Démence’ (2ID) regroupant des épidémiologistes, cliniciens, virologues et biologistes. *Club 2ID Infection, Inflammation et Démence*. Réunions mensuelles de 2019 à 2020. Bordeaux (France).

Participation à un comité éditorial d’analyse critique d’articles scientifiques dans le domaine de la démence, au profit des cliniciens. *Biblio Démence*. Réunions mensuelles de 2017 à 2020. Bordeaux (France).

Articles scientifiques et communications en dehors du projet de thèse

Articles publiés :

G Proctor, **André P**, Lopez-Garcia E, Gomez-Cabrero D, Neyraud E, Féart C, Rodriguez-Artalejo F, Garcia Esquinas E, Morzel M. The SALAMANDER project: SALivAry bioMarkers of mediterraneanAN Diet associated with long-tERm protection against type 2 diabetes. *British Nutrition Foundation Nutrition Bulletin*, 42, 369-374. 2017.

Butcher L, Pérès K, **André P**, Morris R, Walter S, Dartigues JF, Rodriguez-Mañas L, Féart C, Erusalimsky J, FRAILOMIC consortium. Association between plasma CCL11 (eotaxin-1) and cognitive status in older adults: Differences between rural and urban dwellers. *Exp Gerontol*. 2018;113:173-179. DOI: 10.1016/j.exger.2018.10.004.

André P, Proctor G, Driollet B, Garcia-Esquinas E, Lopez-Garcia E, Gomez-Cabrero D, Neyraud E, Rodriguez-Artalejo F, Morzel M, Féart C. The role of overweight on the association between Mediterranean diet and risk of type 2 diabetes mellitus: a mediation analysis among 21 585 UK Biobank participants. *Int J Epidemiol*. 2020. DOI : 10.1093/ije/dyaa103.

Article en préparation :

Chambon C, Neyraud E, Sayd T, Bros P, Di Biagio R, Hyvrier F, Féart C, **André P**, Rodriguez-Artalejo F, Lopez-Garcia E, Garcia-Esquinas E, Gomez-Cabrero D, Proctor G, Morzel M. Salivary protein markers of dietary intakes in diabetic and non-diabetic elderly community-dwellers from two European cohorts. (en préparation).

Communications orales :

André P, Proctor G, Rodriguez Artalejo F, Lopez-Garcia E, Gomez-Cabrero D, Neyraud E, García-Esquinas E, Morzel M, Féart C. Adhérence au régime Méditerranéen, indice de masse corporelle et risque de diabète de type 2 : Résultats de l'étude UK Biobank. *Société Francophone du Diabète*. 26-29 mars 2019. Marseille (France).

Communications affichées :

André P, Proctor G, Rodriguez-Artalejo F, Lopez-Garcia E, Gomez-Cabrero D, Neyraud E, Bros P, Garcia-Esquinas E, Morzel M, Féart C. Adherence to a Mediterranean diet, body mass index and risk of type 2 diabetes mellitus : results from the UK Biobank. *EGEA VIII Nutrition et santé : de la science à la pratique*. 7-9 novembre 2018. Lyon (France).

André P, Proctor G, Rodriguez Artalejo F, Lopez-Garcia E, Gomez-Cabrero D, Neyraud E, García-Esquinas E, Morzel M, Féart C. Mediation analysis to understand the role of overweight on the relationship between Mediterranean diet and risk of type 2 diabetes mellitus: evidence from 21 612 UK Biobank participants. *ICTRHN International Congress of Translational Research in Human Nutrition*. 20-21 juin 2019. Clermont-Ferrand (France).

Réalisation de vidéo diffusée lors de congrès :

André P, Proctor GB, Rodriguez Artalejo F, Lopez-Garcia E, Gomez-Cabrero D, Neyraud E, García-Esquinas E, Morzel M, Féart C et avec l'aide de l'équipe médiatisation de l'université de Bordeaux. The SALAMANDER project. *5th international conference of Joint Programming Initiative 'A Healthy Diet for a Healthy Life'*. 30 février 2019. Bruxelles (Belgique).

Liste des tableaux

Tableau 1. Recodage des données alimentaires qualitatives issues du fréquentiel alimentaire dispensés au suivi à 2 ans (S1) dans l'étude 3C-Bordeaux en données quantitatives..... 70

Tableau 2. Description des 20 catégories d'aliments constitutifs du fréquentiel alimentaire dispensés au suivi à 2 ans (S1) dans l'étude 3C-Bordeaux. 71

Tableau 3. Attribution des points du score Méditerranéen selon les portions des différents groupes alimentaires caractéristiques de ce régime. 78

Tableau 4. Attribution des points pour les items de A à F (première partie) de la version adaptée du questionnaire MNA dans 3C-Bordeaux. 81

Tableau 5. Caractéristiques à l'inclusion des participants du projet NutEnDem (n= 698)..... 86

Tableau 6. Consommation moyenne pour chaque groupe d'aliment issu du questionnaire de fréquence alimentaire, en portion par semaine ou nombre de verre d'alcool, selon les terciles de profil Méditerranéen (n= 698)..... 88

Tableau 7. Structure des profils alimentaires identifiés a posteriori par analyse en composante principale selon les 20 groupes d'aliments du questionnaire de fréquence alimentaire (n = 698). 89

Tableau 8. Consommation moyenne pour chaque groupe d'aliment issu du questionnaire de fréquence alimentaire, en portion par semaine ou nombre de verre d'alcool, selon les terciles de profils alimentaires identifiés a posteriori par analyse en composante principale (n= 698)..... 91

Tableau 9. Taux plasmatiques moyens d'acides gras 3-hydroxylés selon le sexe et selon les terciles de profils alimentaires (n= 698)..... 93

Tableau 10. Associations multivariées entre profils alimentaires et taux plasmatiques d'acides gras 3-hydroxylés (n= 698). 95

Tableau 11. Caractéristiques à l'inclusion des participants selon le statut de maladie d'Alzheimer sur 12 ans de suivi, étude cas-témoin nichée dans la cohorte 3C-Bordeaux (n= 636). 105

Tableau 12. Taux plasmatiques d'acides gras 3-hydroxylés (AG 3-OH), Lipopolysaccharides-Binding Protein (LBP), forme soluble du Cluster of Differentiation-14 (sCD14) et d'Interleukin-6 (IL-6) selon le statut de maladie d'Alzheimer sur 12 ans de suivi, étude cas-témoin nichée dans la cohorte 3C-Bordeaux (n= 636). 106

Tableau 13. Associations multivariées entre les taux plasmatiques d'acides gras 3-hydroxylés (AG 3-OH), de Lipopolysaccharides-Binding Protein (LBP), de la forme soluble du Cluster of Differentiation-14 (sCD14), de l'Interleukine-6 (IL-6) et le risque de développer une maladie d'Alzheimer sur 12 ans de suivi, étude cas-témoin nichée dans la cohorte 3C-Bordeaux (n= 636).
..... 108

Tableau 14. Associations multivariées entre les taux plasmatiques de Lipopolysaccharides-Binding Protein (LBP), considérés en terciles, et le risque de développer une maladie d'Alzheimer sur 12 ans de suivi, étude cas-témoin nichée dans la cohorte 3C-Bordeaux (n= 636).
..... 110

Tableau 15. Distribution des cas incidents de démence toutes étiologies confondues (n total = 698) et de maladie d'Alzheimer (n total= 674) selon la médiane d'AG 3-OH..... 113

Tableau 16. Associations multivariées entre les taux d'acides gras 3-hydroxylés et le risque de maladie d'Alzheimer ou de démence toutes étiologies confondues sur 17 ans de suivi. 115

Liste des figures

Figure 1. Illustration des plaques amyloïdes et des dégénérescences neurofibrillaires au niveau neuronal dans la pathologie d'Alzheimer.....	6
Figure 2. Coupes frontales d'un cerveau sain et d'un cerveau atteint de maladie d'Alzheimer observés par autopsie	6
Figure 3. Modèle d'évolution dynamique des biomarqueurs de la cascade pathologique de la maladie d'Alzheimer.	8
Figure 4. Taux de prévalence standardisés sur l'âge pour la maladie d'Alzheimer et les autres démences à travers le monde, par sexe en 2016.....	9
Figure 5. Vue d'ensemble schématique des gènes liés à la maladie d'Alzheimer.	14
Figure 6. Modèle de cercle vicieux reliant le stress oxydatif, l'inflammation et la neurodégénérescence dans la maladie d'Alzheimer.	25
Figure 7. Représentation schématique de la barrière hémato-encéphalique.	26
Figure 8. Représentation schématique de la structure moléculaire du lipopolysaccharide.....	35
Figure 9. Représentation schématique simplifiée de la cascade de signalisation en réponse aux endotoxines d'origine intestinale.	40
Figure 10. Vue d'ensemble des effets spécifiques aux organes résultant de l'injection intraveineuse de LPS de l'ordre de 2-4 ng/kg chez l'Homme.	47
Figure 11. L'administration de LPS augmente significativement l'activation microgliale, mesurée par IRM PET-[11C]PBR28, par rapport à la référence anatomique (rangée du haut). 51	
Figure 12. Représentation schématique des données du centre Bordelais de la cohorte des Trois-Cités utilisées dans le cadre des travaux de thèse.	66
Figure 13. Représentation des tests neuropsychologiques du Mini Mental State Examination (A), Benton Visuel Retention Test (B), Isaacs' Set Test (C) et Trail Making Test (D et E) dispensés dans la cohorte des Trois-Cités.	68
Figure 14. Radar Graphs superposés des profils alimentaires a posteriori de type « prudent » (en vert) et « sud-ouest » (en rouge) selon les factor loadings des 20 groupes alimentaires du FFQ.	90

Liste des annexes

Annexe 1. Critères diagnostiques de la démence de type Alzheimer du DSM-IV-TR (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 4th edition, Text Revision), American Psychiatric Association 2000..... 162

Annexe 2. Critères diagnostiques de la maladie d'Alzheimer, NINCDS-ADRDA (National Institute for the Neurological and Communication Disorders and Stroke - Alzheimer's Disease and Related Diseases Association), McKhann 1984..... 163

Annexe 3. Metabolic endotoxemia: a potential underlying mechanism of the relationship between dietary fat intake and risk for cognitive impairments in humans? 164

Annexe 4. Évaluation de l'état nutritionnel par le Mini Nutritional Assessment (MNA)..... 188

Annexe 5. Profils alimentaires, réalisés séparément chez les hommes et chez les femmes, et taux circulants d'acides gras 3-hydroxylés (AG 3-OH)..... 189

Annexe 6. Mediterranean diet and prudent diet are both associated with low circulating esterified 3-hydroxy fatty acids, a proxy of lipopolysaccharide (LPS) burden, among older adults..... 196

Annexe 7. Lipopolysaccharide-Binding Protein, soluble CD14 and the long-term risk of Alzheimer's disease: a nested case-control pilot study of older community dwellers from the 3-City cohort..... 221

Liste des acronymes et abréviations

3C : Trois-Cités

A β : Amyloïde-bêta

ACP : Analyse en Composantes Principales

ADARDA : *Alzheimer's Disease and Related Diseases Association*

AG : Acides Gras

AGPI : Acides Gras Polyinsaturés

AGMI : Acides Gras Monoinsaturés

AGPI- ω 3 : Acides Gras Polyinsaturés Oméga-3

AGPI- ω 6 : Acides Gras Polyinsaturés Oméga-6

AGS : Acides Gras Saturés

AINS : Anti-Inflammatoires Non Stéroïdiens

ALIENOR : Antioxydants, Lipides Essentiels, Nutrition et maladies Oculaires

ANC : Apports Nutritionnels Conseillés

ApoE- ϵ 4 : Allèle ϵ 4 du gène de l'Apolipoprotéine E

APP : *Amyloid Precursor Protein*

ATC : *Anatomical Therapeutic Chemical classification system*

AVC : Accident Vasculaire Cérébral

BHE : Barrière Hémato-Encéphalique

BPI : *Bactericidal Permeability-Increasing protein*

BVRT : *Benton Visual Retention Test*

CD14 : *Cluster of Differentiation-14*

CD33 : *Cluster of Differentiation-33*

CES-D : *Center for Epidemiological Studies-Depression*

CLU : Clusterine

COX : Cyclo-oxygénase

CR1 : *Complement Receptor 1*

CRP : *C-Reactive Protein*

DAMP : *Damage-Associated Molecular Pattern*

DASH : *Dietary Approaches to Stop Hypertension*

DHA : Acide docosahéxaénoïque

DSM-IV-TR : *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 4th edition, Text Revision*

DT2 : Diabète de Type 2

ELISA : *Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay*

EPA : Acide eicosapentaénoïque

FFQ : *Food Frequency Questionnaire*

HDL : *High Density Lipoprotein*

IC 95% : Intervalle de Confiance à 95%

IL-1 β : *Interleukin 1 beta precursor*

IL-6 : *Interleukin 6*

IMC : Indice de Masse Corporelle

IRM : Imagerie à Résonance Magnétique

IST : *Isaacs' Set Test*

LAL : *Limulus Amebocyte Lysate*

LC : Chromatographie en phase liquide

LC-MS/MS : *Liquid Chromatography coupled to tandem Mass Spectrometry*

LCR : Liquide Céphalo-Rachidien

LDL : *Low Density Lipoprotein*

LBP : *Lipopolysaccharides-Binding Protein*

LPS : *Lipopolysaccharides*

MA : Maladie d'Alzheimer

MAP : *Mitogen-Activated Protein kinase*

MCI : *Mild Cognitive Impairment* (troubles cognitifs légers)

MIND : *Mediterranean-DASH Intervention for Neurodegenerative Delay*

MMSE : *Mini Mental State Examination*

MD2 : *Myeloid Differentiation protein 2*

MS : Spectrométrie de Masse

NCEP ATP III : *National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III*

NF- κ B : *Nuclear Factor-kappa B*

NINCDS : *National Institute for the Neurological and Communication Disorders and Stroke*

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

PAMP : *Pathogen-Associated Molecular Pattern*

PET : *Positron Emission Tomography*

PLTP : *Phospholipid Transfer Protein*

PNNS : Plan National Nutrition Santé

PRR : *Pattern-Recognition Receptors*

PS1 : *Presenilin 1*

PS2 : *Presenilin 2*

ROS : *Reactive Oxygen Species* (espèces réactives de l'oxygène)

RC : Rapport de Cotes

RR : Risque Relatif

SD : *Standard Deviation* (écart-type)

SIRS : Syndrome de Réponse Inflammatoire Systémique

SNC : Système Nerveux Central

SOCS : *Suppressor Of Cytokine Signaling*

TAU : *Tubulin Associated Unit*

TEP : Tomographie par Emission de Positons

TLR4 : *Toll-Like Receptor 4*

TMT : *Trail Making Test*

TNF α : *Tumor Necrosis Factor α*

VIH : Virus de l'Immunodéficience Humaine

VLDL : *Very Low Density Lipoprotein* (lipoprotéine à très faible densité)

Notations

c.-à-d. c'est-à-dire

ex. exemple

n effectif

AVANT-PROPOS : INTRODUCTION GÉNÉRALE ET OBJECTIFS

Plus de 703 millions, soit une personne sur onze. Il s'agit du nombre de personnes âgées de 65 ans et plus à travers le monde en 2019. D'après les projections tendanciennes ce chiffre est amené à considérablement s'accroître, atteignant plus d'une personne sur six à l'horizon 2050. Ce vieillissement démographique majeur tire principalement son origine de l'amélioration des conditions de vie, des progrès scientifiques ou encore de la transition du front des maladies infectieuses vers celui des maladies cardiovasculaires puis du grand-âge, notamment dans les pays en voie de développement. En France, au cours des six dernières décennies, l'espérance de vie s'est allongée d'environ 13 ans pour les hommes et 12 ans pour les femmes, avec une espérance de vie moyenne de 83 ans ; 5 ans de plus que ce que Jean Bourgeois-Pichat - ancien démographe Français et directeur de l'INED ¹ - estimait, il y a plus d'un demi-siècle, être la limite biologique infranchissable.

Une évolution démographique qui mène toutefois inmanquablement à l'accroissement concomitant de pathologies associées au vieillissement. Principale maladie neurodégénérative liée à l'âge, la démence affecterait plus de 50 millions de personnes à travers le monde et une nouvelle personne serait diagnostiquée toutes les 3 secondes environ. Sous l'influence du vieillissement de la population générale, et sans modifications majeures des stratégies préventives ou thérapeutiques, la prévalence de la démence est amenée à tripler à l'horizon 2050 (1).

Pour autant, le vieillissement est-il *a priori* pathologique ? Bien que la question reste encore en suspens, on distingue généralement le processus du vieillissement en soi, la sénescence, considéré comme inéluctable et que l'on qualifie de « normal », du vieillissement pathologique caractérisé par l'occurrence de maladies et l'altération des facultés physiques et psychiques avec des retentissements plus ou moins invalidants dans la vie quotidienne. Dans un contexte où l'Homme sera amené à passer de plus en plus de temps à un âge avancé, le concept de *healthy aging* ou vieillissement en bonne santé devient ainsi un véritable enjeu de santé publique. Un concept défini par le Bureau régional de l'OMS pour l'Europe (2) comme étant un processus qui « permet aux personnes de réaliser leur potentiel de bien-être physique, social et mental tout au long de leur vie et de participer à la société, tout en leur fournissant une protection, une sécurité et des soins adéquats quand elles ont besoin d'aide ».

¹ Institut National d'Études Démographiques

La qualité du vieillissement, et notamment du vieillissement cérébral, étant influencée tout au long de la vie par la coexistence et l'interaction entre la prédisposition génétique et les facteurs environnementaux, l'amélioration de la compréhension des processus sous-jacents de la maladie s'avère essentielle afin de proposer, à terme, des recommandations efficaces dans un modèle d'exposition « vie-entière ». Bien que la finalité soit de guérir, voire reverser, les effets préjudiciables de la démence, toute stratégie visant à limiter ou prévenir la progression de la maladie pourrait avoir un impact non négligeable pour la personne elle-même mais aussi pour son entourage et la société.

Basés sur une approche épidémiologique, ces travaux de thèse s'inscrivent dans cet enjeu majeur de santé publique, en contribuant à approfondir les connaissances de l'influence de l'alimentation dans l'exposition aux endotoxines, et du rôle de ces dernières dans le cadre du vieillissement cognitif pathologique de la maladie d'Alzheimer.

CHAPITRE I. INTRODUCTION ET ÉTAT DES CONNAISSANCES

1.1. Syndrome démentiel et déclin cognitif lié à l'âge

1.1.1. Évolution du concept historique

Le terme de démence, dont l'étymologie dérive du latin *demens* signifiant « perte de l'esprit », était jadis utilisé pour désigner littéralement les individus empreints d'aliénation mentale ; un terme qui restera synonyme de folie jusqu'à la fin du XVIII^{ème} siècle.

L'époque de la psychiatrie naissante, au début du XIX^{ème} siècle, est notamment marquée par Etienne Esquirol (1772-1840) qui, approfondissant la classification nosographique de son prédécesseur Philippe Pinel (1745-1826), distingua l'idiotie de la démence :

« L'homme en démence est privé des biens dont il jouissait autrefois ; c'est un riche devenu pauvre : l'idiot a toujours été dans l'infortune et la misère. L'état de l'homme en démence peut varier, celui de l'idiot reste le même [...] » (1838).

Avec cette définition de la démence, décrite comme un phénomène acquis altérant progressivement les facultés intellectuelles et distinct de toutes psychoses fonctionnelles, Etienne Esquirol posa ainsi les prémices de ce qui est aujourd'hui considéré comme une véritable entité clinique.

Il faudra attendre 1906 pour que la maladie éponyme, forme majoritaire de démence, soit cliniquement identifiée pour la première fois par le Dr. Aloïs Alzheimer (1864-1915). Lors de la 37^{ème} conférence des psychiatres à Tübingen, il évoqua le cas de sa patiente, Auguste D. (1850-1906), admise à l'hôpital psychiatrique suite à une dégradation sévère de ses facultés cognitives et la présence de confusion mentale, d'hallucinations et d'inaptitude psychosociale. L'examen histologique *post-mortem* du cerveau de sa patiente, alors âgée de 56 ans, révéla les caractéristiques anatomopathologiques de la maladie : une importante atrophie cérébrale et l'accumulation de deux types d'anomalies du tissu cérébral, à savoir la présence de plaques amyloïdes et de dégénérescences neurofibrillaires. Le Dr. Aloïs Alzheimer décrira alors la maladie comme étant une « maladie particulière du cortex cérébral ».

A la même époque, plusieurs cas de maladie d'Alzheimer furent décrits par une multitude de neuropathologistes, dont certains cas étaient rapportés chez des patients plus âgés remettant en considération la maladie d'Alzheimer comme une entité spécifique de la période présénile.

C'est seulement à la fin du XX^{ème} siècle qu'une distinction sera faite sur le caractère héréditaire (forme précoce, apparaissant avant 65 ans) ou sporadique (forme tardive, apparaissant après 65 ans) de la maladie.

Dès lors, avec l'avancée scientifique et l'homogénéisation du concept, la définition du syndrome démentiel évolua peu à peu au fil du temps jusqu'à prendre son sens médical actuel, permettant ainsi d'en identifier les critères de diagnostic clinique.

1.1.2. Hétérogénéité du tableau clinique

1.1.2.1. Diagnostic clinique du syndrome démentiel

Le diagnostic clinique du syndrome démentiel repose sur des critères dont les plus couramment utilisés sont ceux du DSM-IV-TR (*Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 4th edition, Text Revision*) publié en 2000 (3) (Annexe 1).

Ces critères sont basés sur l'apparition de déficits neuropsychologiques multiples :

- (i) l'altération de la mémoire et
- (ii) l'altération d'au moins une des quatre fonctions cognitives suivantes : les fonctions exécutives, l'aphasie, l'agnosie et l'apraxie.

Les défaillances de la **mémoire** comptent parmi les signes éminents de la forme typique de la maladie d'Alzheimer, impactant progressivement l'assimilation d'informations nouvelles (mémoire antérograde) et récentes puis, selon la sévérité de la maladie, la mémoire plus ancienne jusqu'à effacer des pans entiers de la mémoire passée (mémoire rétrograde).

Les **fonctions exécutives** correspondent aux capacités d'adaptation à une situation nouvelle. Ces fonctions font notamment appel aux habiletés de logique, à l'élaboration de stratégie, à la planification de tâches et aux aptitudes de raisonnement.

L'**aphasie** représente la perte des capacités de compréhension ou d'expression, menant à l'utilisation de circonlocutions, de répétitions ou encore à la difficulté de nommer les objets les plus usuels. Avec l'évolution de la maladie, ces troubles de la communication peuvent s'aggraver, isolant progressivement les personnes dans un langage non verbal.

« J'essaie de lire le livre que je tiens entre les mains, mais les mots refusent de former des phrases » ²

² Bernlef J., Chimères, Editions Calmann-Lévy 1988, p. 24

L'**agnosie** est définie comme étant un trouble de la reconnaissance des objets ou des visages, résultant d'une incapacité du cerveau à traiter les informations malgré des fonctions sensorielles intactes. En d'autres termes, le malade ne peut donner de signification à ce qu'il perçoit.

Enfin, l'**apraxie** est l'incapacité à coordonner volontairement ses mouvements malgré des fonctions motrices intactes. Selon la sévérité de l'atteinte cognitive, l'apraxie peut impacter les gestes quotidiens les plus complexes, comme la conduite d'une voiture, jusqu'aux plus simples, tels que porter une fourchette à sa bouche.

Ces critères diagnostique du DSM-IV-TR stipulent également que l'altération de ces déficits cognitifs doit :

- (iii) représenter un déclin significatif par rapport à un niveau antérieur et
- (iv) être suffisamment sévère pour interférer avec l'indépendance dans les activités de la vie quotidienne de la personne.
- (v) Enfin, lorsque d'autres maladies ou affections pouvant expliquer ces déficits cognitifs ont été écartées, le diagnostic de démence est établi.

1.1.2.2. Etiologies principales du syndrome démentiel

Le syndrome démentiel constitue le noyau sémiologique commun aux différentes démences dont les causes possibles sont multiples. En l'absence de biomarqueurs spécifiques de la maladie, l'identification de l'étiologie de la démence repose sur un diagnostic probabiliste, visant à en déduire la forme la plus probable.

Sur le plan étiologique, on distingue classiquement deux types de démence : les démences d'origine neurodégénérative (ex. maladie d'Alzheimer, démence à corps de Lewy et démence fronto-temporale) et les démences d'origine non-neurodégénérative, survenant principalement à la suite de lésions cérébrales d'origine vasculaire (ex. démence vasculaire). La coexistence de lésions de type Alzheimer et de lésions cérébrovasculaires, dénommée démence mixte, serait également fréquente bien qu'il soit difficile de déterminer si la convergence de ces lésions résulte d'une dépendance des deux processus ou si elle est liée à l'émergence de lésions vasculaires liée au vieillissement cérébral normal (4,5).

La principale étiologie de la démence est la maladie d'Alzheimer, représentant de 50 à 75% de l'ensemble des cas de démence, suivi ensuite de la démence vasculaire (20 à 30%), de la démence fronto-temporale (5 à 10%) puis de la démence à corps de Lewy (< 5%) (6).

Du fait d'une large hétérogénéité des manifestations cliniques du syndrome démentiel, rendant le diagnostic étiologique difficile à établir sur la seule base de critères cliniques, ces estimations de fréquence des différentes étiologies sont à prendre avec précaution. A cet effet, il a été estimé que près de 15 à 20% des diagnostics *pré-mortem* de maladie d'Alzheimer n'étaient pas

confirmés par l'examen histopathologique des tissus cérébraux réalisé à l'autopsie, tandis que des lésions cérébrales caractéristiques de la maladie d'Alzheimer étaient présentes chez près de 40% des démences non-Alzheimer (7).

En France, on estime que seule une personne sur deux atteinte de démence serait aujourd'hui identifiée, avec un délai moyen d'environ 24 mois entre l'apparition des premiers signes cliniques et l'établissement du diagnostic de démence (7).

1.1.2.3. Diagnostic clinique de la maladie d'Alzheimer

Il existe une forme héréditaire de la maladie d'Alzheimer, dite également familiale ou à transmission autosomique dominante, causée majoritairement par des mutations génétiques sur le gène de la protéine précurseur amyloïde (APP), le gène *Presenilin 1* (PS1) ou le gène *Presenilin 2* (PS2) (8,9). Cette forme héréditaire, dont les manifestations cliniques apparaissent précocement avant 65 ans, représenterait environ 5% des cas de maladie d'Alzheimer (10).

La forme sporadique de la maladie d'Alzheimer résulterait quant à elle d'un déséquilibre entre processus pathologiques et mécanismes de compensation induits par l'interaction de facteurs génétiques et environnementaux tout au long de la vie. Cette forme sporadique de la maladie d'Alzheimer, d'apparition généralement plus tardive après 65 ans, représenterait la majorité des cas de démence.

En 1984, le *National Institute for the Neurological and Communication Disorders and Stroke* (NINCDS) et l'*Alzheimer's Disease and Related Diseases Association* (ADRDA) ont collectivement publiés les critères de diagnostic de la maladie d'Alzheimer (11) (Annexe 2).

Présupposant la présence d'un syndrome démentiel, ces critères NINCDS-ADRDA permettent d'établir un diagnostic clinique de maladie d'Alzheimer « probable » (tableau clinique typique sans confirmation histopathologique) ou « possible » (tableau clinique atypique, sans autre diagnostic apparent, sans confirmation histopathologique) ; le diagnostic définitif nécessitant une confirmation histopathologique *post-mortem*.

En 2011, ces critères NINCDS-ADRDA ont été révisés par *The National Institute on Aging* et l'*Alzheimer's Association* (critères NIA-AA) et reconnaissent désormais trois stades de progression : un stade préclinique asymptomatique, un stade intermédiaire prodromal symptomatique, également appelé troubles cognitifs légers (MCI, *Mild Cognitive Impairment*) et un stade avancé et symptomatique de la démence où les troubles cognitifs sont suffisamment sévères pour impacter les activités de la vie quotidienne (12,13).

Alors que l'altération de la mémoire antérograde et rétrograde représente l'une des expressions cliniques prédominantes de la démence de type Alzheimer, ces critères NIA-AA reconnaissent désormais l'existence d'expressions non-mnésiques de la maladie dérivant de troubles du

langage et de l'altération des capacités visuo-spatiales et exécutives, renforçant par ailleurs l'hétérogénéité du tableau clinique.

Enfin, le recours aux biomarqueurs, permettant de mesurer *in vivo* les caractéristiques anatomopathologiques de la maladie, est désormais reconnu. Initialement destinés à des fins de recherche, les biomarqueurs pourraient ouvrir de nouvelles perspectives dans le raisonnement diagnostique de la maladie d'Alzheimer.

1.1.3. Signes neuropathologiques de la maladie d'Alzheimer

Au niveau neuropathologique, la maladie d'Alzheimer est caractérisée par deux types de lésions cérébrales, dont l'intensité et la répartition topographique sont relativement spécifiques : les plaques amyloïdes et les dégénérescences neurofibrillaires.

Les plaques amyloïdes, anciennement appelées plaques séniles, dérivent de l'accumulation extracellulaire anormale de protéines amyloïde- β .

Dans les conditions physiologiques normales, la protéine amyloïde- β qui est libérée par clivage séquentiel de son précurseur, la protéine APP (*Amyloid Precursor Protein*), va se dégrader progressivement dans l'organisme. L'amyloïde- β , tout comme l'APP, est un composé naturellement retrouvé dans le système nerveux central bien que sa fonction reste encore mal élucidée de nos jours. Dans le cadre de la maladie d'Alzheimer, la protéine amyloïde- β est retrouvée agrégée sous formes de fibrilles insolubles, formant ainsi des plaques amyloïdes dans le milieu environnant des neurones (Figure 1) ; un phénomène que l'on sait aujourd'hui résulter d'un déséquilibre entre une clairance insuffisante et une production excessive. Ces dépôts, dans un premier temps diffus, vont ensuite se généraliser provoquant à terme une neuro-toxicité et un dysfonctionnement des connexions entre les neurones, partiellement médiés par une réaction inflammatoire.

Les dégénérescences neurofibrillaires résultent de l'enchevêtrement intracellulaire de protéine Tau (*Tubulin Associated Unit*) anormalement hyperphosphorylée, cette fois-ci à l'intérieur même du neurone.

Concrètement, les neurones sont composés de dendrites par lesquels ils intègrent l'ensemble des influx nerveux, d'un corps cellulaire (ou soma) permettant le traitement de l'information et d'un axone par lequel l'influx nerveux va être transmis à une autre cellule. Ce système neuronal est constitué de microtubules, des composants essentiels du cytosquelette cellulaire participant à l'organisation spatiale et au transport intracellulaire de vésicules, eux-mêmes stabilisés par la protéine Tau. Dans la maladie d'Alzheimer, une hyperphosphorylation (*c.-à-d.*, une fixation de groupe phosphate jusqu'à 3 ou 4 fois plus élevée que la normale) de la protéine Tau est observée. Cette hyperphosphorylation entraîne l'enchevêtrement de la protéine Tau sous forme de filaments et sa dissociation des microtubules (Figure 1). En l'absence de stabilisation, le cytosquelette du neurone se désorganise en une dégénérescence neurofibrillaire, pouvant provoquer à terme la mort neuronale.

NEURONE SAIN

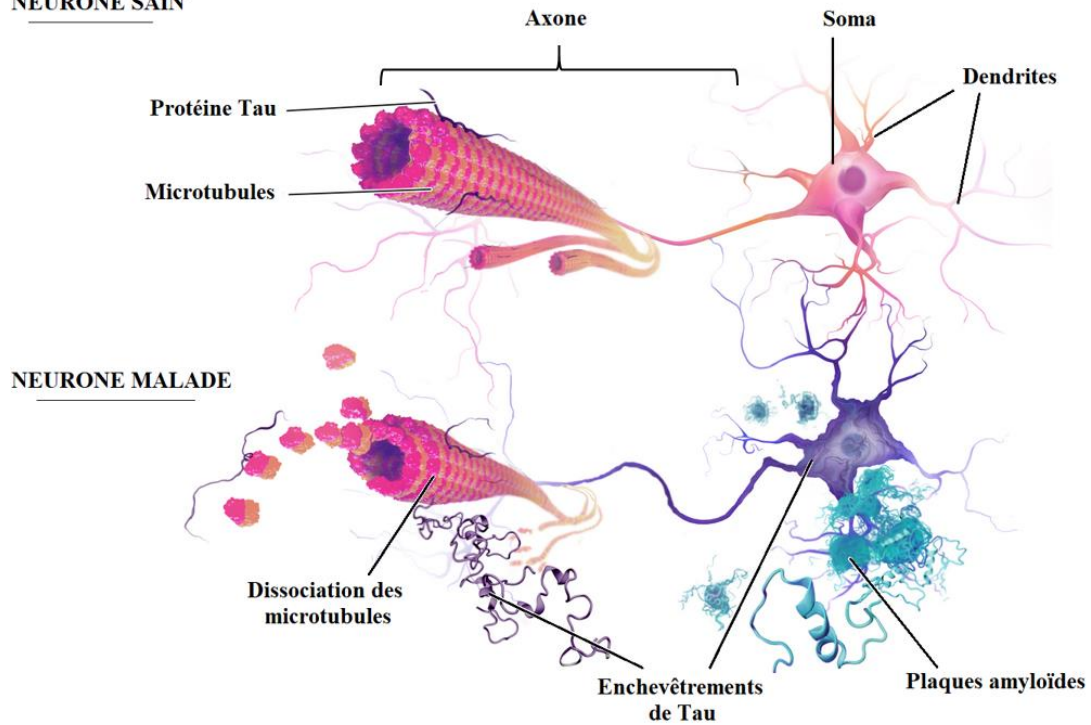


Figure 1. Illustration des plaques amyloïdes et des dégénérescences neurofibrillaires au niveau neuronal dans la pathologie d'Alzheimer.

Une atrophie cérébrale notamment localisée au niveau des lobes frontaux et temporaux, aspécifique de la maladie mais traduisant la dégénérescence des synapses et la mort neuronale, peut également s'observer dans la maladie d'Alzheimer (Figure 2).

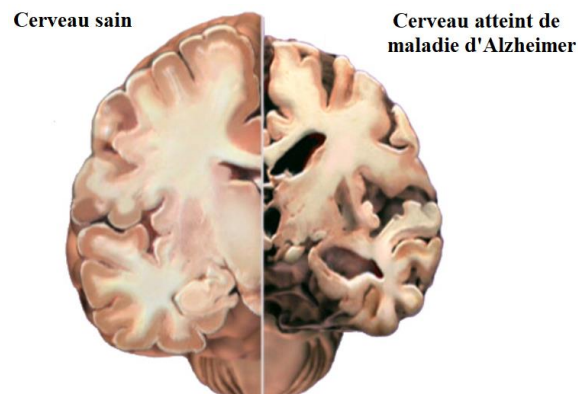


Figure 2. Coupes frontales d'un cerveau sain et d'un cerveau atteint de maladie d'Alzheimer observés par autopsie

Image tirée et adaptée de ©2020 Alzheimer's Association. www.alz.org. Tous droits réservés. Illustration par Stacy Jannis.

Ces lésions neuropathologiques progressent de façon insidieuse dans le cerveau et pourraient débuter des années, si ce n'est des décennies, avant l'apparition des premiers symptômes cliniques de la maladie (14). La sévérité et la progression de ces lésions, reflet des changements neuropathologiques traditionnellement reconnus pour définir la maladie d'Alzheimer, peuvent être appréciées grâce à l'utilisation de biomarqueurs. Parmi ceux-ci, on peut citer :

- l'imagerie structurelle (ex. IRM) permettant de mettre en évidence une atrophie cérébrale, notamment du lobe temporal médian ou de plus petites structures telles que l'hippocampe dont la fonction est essentielle dans la mémoire.
- l'imagerie fonctionnelle (ex. tomographie par émission de positons (TEP)) permettant de mesurer le métabolisme glucidique au niveau cérébral, reflet de l'activité cérébrale. La TEP peut également être utilisée de façon concomitante avec des ligands radio-marqués pour analyser quantitativement les lésions amyloïdes (TEP-amyloïde) ou l'activation microgliale.
- l'analyse du liquide céphalo-rachidien, relativement peu utilisée du fait du caractère invasif de la ponction lombaire, permettant le dosage de biomarqueurs des lésions cérébrales amyloïde et Tau (ex. protéine amyloïde- β ou protéine Tau hyperphosphorylée) ou de mort neuronale (ex. protéine Tau totale).

Bien que l'origine et la séquence temporelle des altérations observées dans la maladie restent non élucidés, l'hypothèse de la cascade amyloïde a représenté pendant longtemps la vision prédominante de l'étiologie de la maladie d'Alzheimer (15,16). Cette doctrine postule que l'accumulation de fibrilles amyloïdes serait, selon une séquence d'évènement encore non élucidée, l'évènement initiateur de la maladie d'Alzheimer. Les processus d'altérations des protéines Tau, de dégénérescence et de mort neuronale ou encore de déficits cognitifs seraient alors considérés comme résultant d'une succession de réactions, notamment inflammatoires, dues à l'accumulation de plaques amyloïdes. En ce sens, Jack et collaborateurs (14) ont proposé un modèle hypothétique de l'évolution des biomarqueurs au cours du développement de la maladie d'Alzheimer (Figure 3).

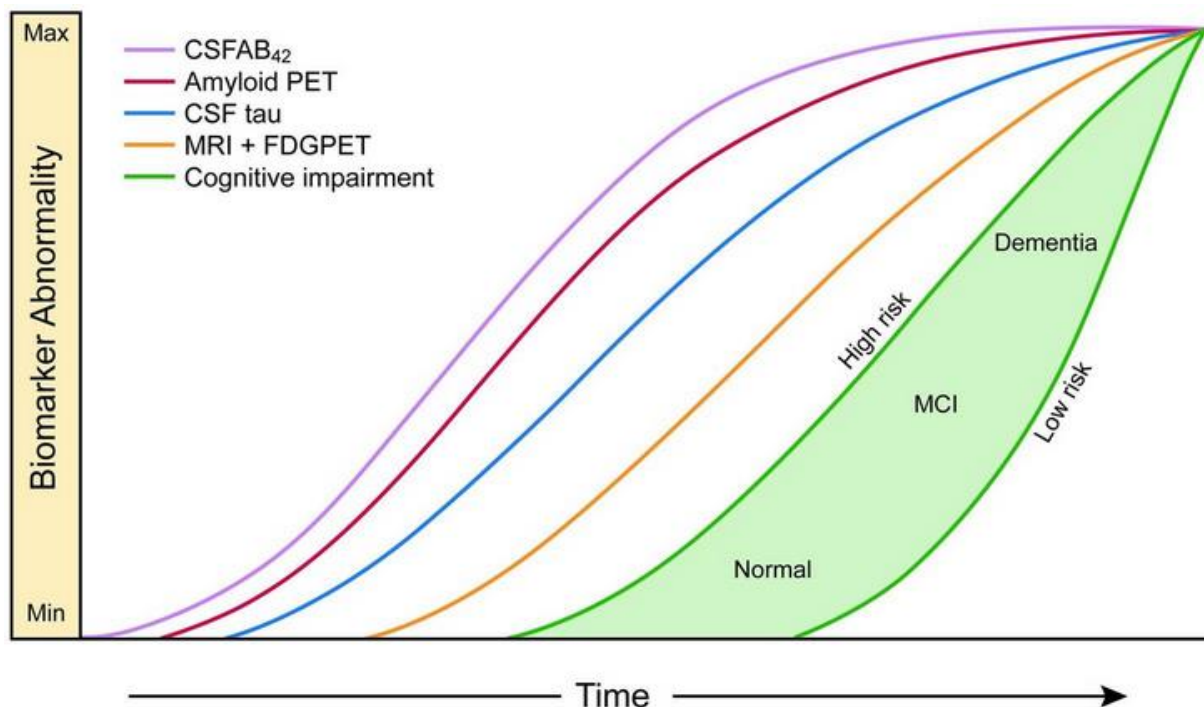


Figure 3. Modèle d'évolution dynamique des biomarqueurs de la cascade pathologique de la maladie d'Alzheimer.

Image tirée et adaptée de Jack et collaborateurs (14). Dans ce modèle, la pathologie amyloïde (mesurée dans le liquide céphalorachidien (violet) ou par neuroimagerie (rouge)) précède le développement de la pathologie Tau (mesurée dans le liquide céphalorachidien (bleu)) et la neurodégénérescence (mesurée par neuroimagerie structurale et fonctionnelle (orange)) ; les troubles cognitifs apparaissant plus tardivement dans le processus pathologique (illustré dans la zone verte opposant les profils à haut risque et à faible risque, mettant en évidence que deux patients avec le même profils de biomarqueurs à un temps donné peuvent avoir des troubles cognitifs différents). Biomarker abnormality Anomalie du biomarqueur ; MRI Imagerie par Résonance Magnétique ; Cognitive Impairment Déficits cognitifs ; CSF Liquide céphalorachidien ; High risk Risque élevé ; Low risk Risque faible ; Dementia Démence ; MCI troubles neurocognitifs légers.

Or, cette hypothèse de cascade amyloïde est aujourd'hui largement débattue (16,17). Fondée sur la physiopathologie des formes héréditaires de la maladie d'Alzheimer, dont les gènes identifiés sont tous les trois impliqués dans le métabolisme de l'amyloïde- β , le caractère causal de la protéinopathie amyloïde n'est cependant pas avéré dans la forme sporadique de la maladie. Par ailleurs, l'hypothèse de la cascade amyloïde ne peut à elle seule expliquer pleinement les dommages neuronaux observés dans la maladie d'Alzheimer. Plusieurs hypothèses étiologiques suggèrent l'implication de mécanismes synergiques ou qui interviendraient en amont des protéinopathies amyloïde- β et Tau, mais dont la séquence causale n'est pas élucidée. Parmi celles-ci, on peut par exemple citer l'hypothèse vasculaire, de la réserve cérébrale/cognitive ou encore de l'activation du système immunitaire et de l'inflammation (18–20) ; cette dernière hypothèse sera notamment abordée dans le chapitre 1.1.7.

1.1.4. Prévalence, incidence et tendances évolutives

Prévalence et incidence

En 2018, la prévalence mondiale du syndrome démentiel, c'est-à-dire le nombre (ou le taux) de personnes atteintes de démence dans la population à un instant donné, est estimée à plus de 50 millions de personnes, représentant environ 5% de la population (21). En France, on estime que près de 1,2 million de personnes seraient atteintes de démence, toutes causes confondues (22–24).

La prévalence du syndrome démentiel augmente inéluctablement avec l'âge, et doublerait en moyenne tous les 5 ans après 65 ans, les femmes étant davantage touchées que les hommes (Figure 4). Dans les âges très avancés, les taux de prévalence sont plus hétérogènes.

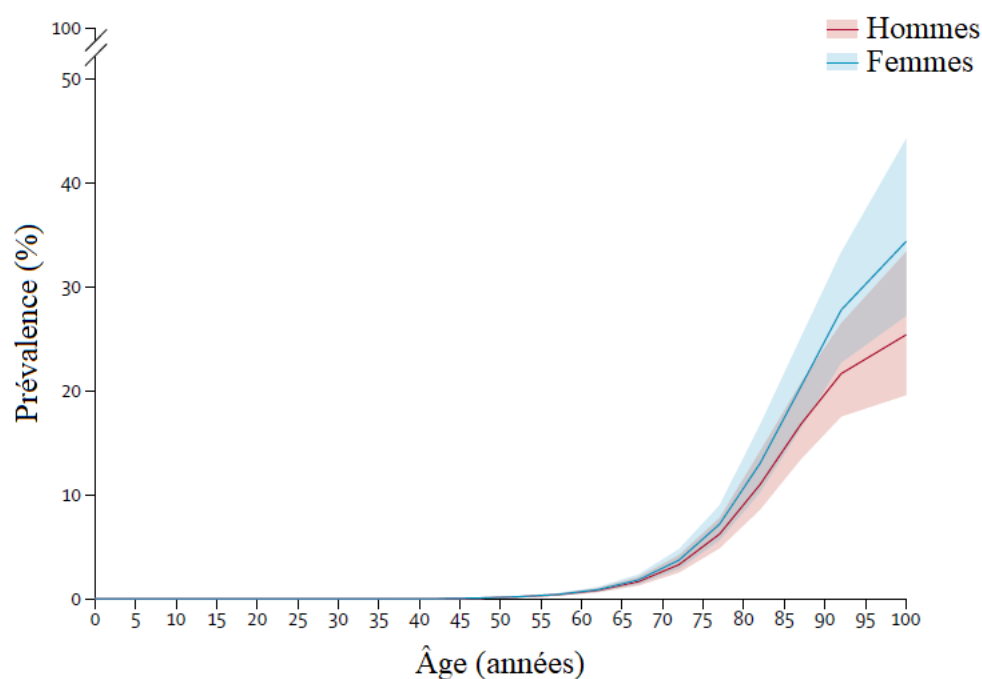


Figure 4. Taux de prévalence standardisés sur l'âge pour la maladie d'Alzheimer et les autres démences à travers le monde, par sexe en 2016.

Prévalence exprimée en pourcentage de la population à risque. Les tracés ombragés représentent les intervalles de confiance à 95%. Figure tirée et adaptée de GBD 2016 dementia collaborators (25).

En termes d'incidence, c'est-à-dire de vitesse d'apparition de la maladie, la démence affecterait chaque année près de 10 millions de personnes dans le monde, soit environ une nouvelle personne toutes les 3 secondes (22–24). En France, l'incidence de la démence est estimée à 225 000 nouveaux cas chaque année (23,26).

Projections tendancielles

D'après un rapport mondial sur le vieillissement de la population (27), on estime qu'en 2050 une personne sur six dans le monde aura plus de 65 ans (16%) contre une sur onze en 2019 (9%). Sans évolution concrète des stratégies préventives ou thérapeutiques, les projections tendancielles estiment que la prévalence du syndrome démentiel devrait être amenée à tripler d'ici à 2050, atteignant plus de 152 millions de personnes dans le monde. Sous l'influence du vieillissement croissant de la population, la démence pourrait ainsi tendre vers un véritable caractère épidémique.

Ces estimations restent toutefois à interpréter avec précaution. En effet, bien que l'inflation des taux de prévalence et d'incidence subsiste dans certains pays comme la Chine ou le Japon (28,29), de récentes études ont révélé des tendances à la baisse aux Etats-Unis et en Europe au cours des dernières décennies (30,31). Ces bénéfices résulteraient en partie d'une meilleure prise en charge des facteurs de risque de la démence (*ex.* hypertension à l'âge adulte, diabète, statut tabagique (32)), suggérant l'importance des stratégies de prévention dans la maladie d'Alzheimer. Cependant, l'imminence de la vague pandémique d'obésité et de diabète, tous deux considérés comme des facteurs de risque importants de démence, pourrait contrecarrer ces bénéfices dans les prochaines décennies.

Espérance de vie

Du fait d'une variabilité importante, la rapidité d'évolution de la maladie reste difficilement prévisible à l'échelle individuelle (33). On estime cependant qu'une personne atteinte de maladie d'Alzheimer passera en moyenne près de 40% de son nombre total d'années restants à vivre dans le stade le plus sévère (34). Au-delà de la qualité de vie, l'espérance de vie en elle-même est également affectée. La survie après diagnostic de la forme sporadique de la maladie serait d'environ 4 à 7 ans, soit une espérance de vie réduite d'environ 4 ans comparée à la population générale (35–37).

Coûts liés à la démence

En 2015, le coût sociétal annuel de la démence était de 818 milliards de dollars (US), une augmentation de 35% par rapport à 2010 (38). D'après les estimations, le coût global de la démence a franchi le seuil des 1000 milliards de dollars (US) en 2018, représentant 1,1% du produit intérieur brut mondial, et est amené à doubler d'ici 2030.

Ces coûts économiques peuvent être divisés en trois catégories :

- (i) les coûts sociaux directs englobant les services formels tels que les soins professionnels à domicile, l'approvisionnement et le transport alimentaires ainsi que les résidences et institutions spécifiques (40,1 % des coûts totaux),
- (ii) les coûts informels liés aux aidants, bien que plus difficiles à estimer, tels que l'aide aux activités de la vie quotidienne (ex. toilette, courses, préparation des repas) ou encore la gestion et la prévention des symptômes et chutes (40,4 % des coûts totaux)
- (iii) les coûts médicaux directs comprenant les visites médicales, les médicaments et les soins hospitaliers (19,5 % des coûts totaux) (38).

Ce déséquilibre entre les coûts médicaux directs et les coûts sociaux et informels peut en partie s'expliquer par l'absence de traitement curatif.

1.1.5. Prise en charge et traitements pharmacologiques

De nos jours, la maladie d'Alzheimer, tout comme les autres formes de démence, demeure incurable ; les traitements pharmacologiques ne permettant que d'en atténuer temporairement les symptômes sans toutefois freiner la progression de la maladie.

Ces traitements peuvent se diviser en deux familles :

- les inhibiteurs de la cholinestérase, incluant *Donepezil*, *Rivastigmine* et *Galantamine*. Ces médicaments permettent de retarder la dégradation d'un neurotransmetteur, l'acétylcholine, dont la concentration diminue dans la maladie d'Alzheimer. Ce neurotransmetteur est notamment impliqué dans le maintien des capacités de mémoire, d'apprentissage ou de raisonnement.
- les antagonistes du récepteur N-Méthyl-D-Aspartate (NMDA) tels que la *Mémantine*, dont l'objectif est de limiter l'excitotoxicité du neurotransmetteur glutamate, en bloquant son action par fixation concurrentielle à son récepteur NMDA. Bien que le glutamate ait un rôle majeur dans la plasticité synaptique au cours de l'apprentissage et de la mémoire, il est retrouvé en excès dans la maladie d'Alzheimer où il devient neurotoxique en raison d'une stimulation continue de ses récepteurs.

Bien qu'incurable, l'établissement rapide du diagnostic de maladie d'Alzheimer s'avèrerait toutefois essentiel dans la mesure où ces traitements se révéleraient d'autant plus efficaces que leur administration serait précoce. Cependant, leur efficacité thérapeutique aurait tendance à diminuer au cours du temps (39). Pouvant induire des effets secondaires variés non négligeables (ex. nausée, vomissement, troubles du sommeil, perte d'appétit ou encore état confusionnel),

ces médicaments ne peuvent être prescrits que par un gériatre, un neurologue ou un psychiatre, et nécessitent une surveillance de leur tolérance. Initialement pris en charge à hauteur de 15% par la Sécurité Sociale en France, ces médicaments ont cependant été déremboursés en 2018 par le ministère de la santé sur les recommandations de la Haute Autorité de Santé, en raison d'un « intérêt médical insuffisant pour justifier leur prise en charge » (40) ; un déremboursement pouvant être à l'origine d'une rupture du lien thérapeutique entre les patients et leurs médecins ou de l'aggravation précipitée des troubles liés à la maladie lors d'un arrêt de la prise médicamenteuse inhérent au coût financier engendré.

Pour autant, la recherche de nouveaux composés thérapeutiques dans la maladie d'Alzheimer ne cesse de se poursuivre. Néanmoins, sur plus d'une décennie de tests de traitements pharmacologiques, soit un total de 244 composés testés au travers de 413 essais cliniques (dont 124 essais de phase I, 206 essais de phase II et 83 essais de phase III), le taux de succès des interventions était estimé à moins de 1% (41). Depuis 2004, seule la *Mémantine*, décrite ci-dessus, a été approuvée.

L'échec récent des médicaments qui ciblent l'amyloïde- β pourrait résulter en partie d'une fenêtre temporelle d'action trop tardive dans le processus pathologique pour en modifier le cours clinique (42). A cet effet, la recherche orientée sur la prévention du déclin cognitif et les stades prodromaux voire précliniques de la maladie est en pleine expansion, rendue possible grâce au développement de biomarqueurs. De larges essais cliniques prometteurs ont ainsi vu le jour ces dernières années, consistant à administrer des anticorps monoclonaux à des volontaires présentant un PET-amyloïde positif (43–45). L'objectif étant de déterminer l'évolution pathologique, comparé à un groupe placebo. Actuellement en cours, si ces essais s'avèrent négatifs, ils pourraient marquer les limites du recours aux monothérapies et l'intérêt de tendre vers des thérapies ciblant simultanément plusieurs mécanismes tels que l'amyloïde, tau ou encore la neuro-inflammation et la nécessité d'améliorer la compréhension des composants non-amyloïdes dans la pathogenèse de la maladie d'Alzheimer.

En complément des traitements pharmacologiques spécifiques aux déficits cognitifs, la prescription de psychotropes et de neuroleptiques peut également être envisagée dans les stades sévères de la démence afin de palier à la survenue de troubles psycho-comportementaux (ex. symptomatologie dépressive, troubles du sommeil, hallucination, agitation).

En effet, au-delà de l'évolution des troubles cognitifs, la survenue de troubles psycho-comportementaux et d'incapacité dans les activités de la vie quotidienne représente un impact considérable à la fois pour le patient lui-même mais également pour ses proches aidants (46). Dans ce contexte, un diagnostic précoce permet d'anticiper ces complications, qui viennent inmanquablement émailler l'évolution de la maladie, et d'évaluer le besoin d'aide à domicile ou d'institutionnalisation. L'objectif étant de maintenir autant que possible l'intégrité physique et morale du patient, de favoriser les capacités d'interaction et de communication, et de garantir une qualité de vie suffisante aux patients mais également à leurs proches. Bien que trop souvent négligé, l'impact de la démence représente une charge lourde pour l'entourage du patient, qui

d'une part se voit perdre insidieusement son identité de conjoint ou d'enfant, mais se doit également de revêtir le lourd rôle de co-thérapeute.

1.1.6. Un processus multi-pathogénique vie-entière

Les pharmacothérapies actuelles n'offrant qu'un bénéfice symptomatique modeste et transitoire, il est dès lors primordial de se tourner vers des stratégies préventives afin de retarder voire d'éviter le développement du processus pathologique de la démence. A cet effet, plusieurs facteurs de risque de la maladie d'Alzheimer ont été identifiés, dont certains d'entre eux sont évitables.

1.1.6.1. Facteurs de risques non modifiables

Âge

L'âge, et l'immunosénescence qui l'accompagne, représente le principal facteur de risque de la maladie d'Alzheimer et des autres formes de démences ; la prévalence de la démence augmentant de façon exponentielle avec l'âge, affectant environ 2 à 3% des personnes âgées de 65 à 69 ans et jusqu'à 30% des personnes de 80 ans et plus (47–50).

Sexe

Le sexe impacterait de manière différentielle sur la prévalence, les manifestations cliniques, l'évolution et le pronostic de la maladie (51). Bien que la différence tend à s'amenuiser dans les pays développés, les femmes sont davantage touchées par la maladie d'Alzheimer que les hommes et compteraient pour environ deux tiers des cas (52). Toutefois l'espérance de vie après le diagnostic clinique serait plus faible chez les hommes (53).

Facteurs génétiques

Certaines caractéristiques génétiques peuvent prédisposer le développement de la maladie d'Alzheimer. Au-delà des facteurs génétiques de la forme héréditaire de la maladie d'Alzheimer (*c.-à-d.*, les mutations sur les gènes PSEN1, PSEN2 et APP), l'hérédité de l'allèle $\epsilon 4$ codant pour l'apolipoprotéine E (ApoE, impliquée dans le métabolisme des lipoprotéines) augmenterait la susceptibilité de développer notamment la forme sporadique de la maladie d'un facteur 2-3 à plus de 5, respectivement selon le caractère hétérozygote (*c.-à-d.*, présence d'un seul allèle ApoE- $\epsilon 4$) ou homozygote (*c.-à-d.*, présence des deux allèles ApoE- $\epsilon 4$) du gène (53–56).

Bien que retrouvés à plus large échelle dans la population, contrairement aux gènes impliqués dans la forme héréditaire de la maladie d'Alzheimer dont la prévalence est rare (57), la présence de l'ApoE-ε4 n'est ni nécessaire ni suffisante pour provoquer la maladie.

Par ailleurs, des études GWAS (*Genome Wide Association Studies*) ont récemment identifié plus d'une vingtaine de loci génétiques associés au risque de développer une maladie d'Alzheimer, impliqués dans différentes voies telles que l'activation du système immunitaire et les réponses inflammatoires, le métabolisme du cholestérol et des lipides ainsi que dans le recyclage des vésicules endosomales (Figure 5) (58).

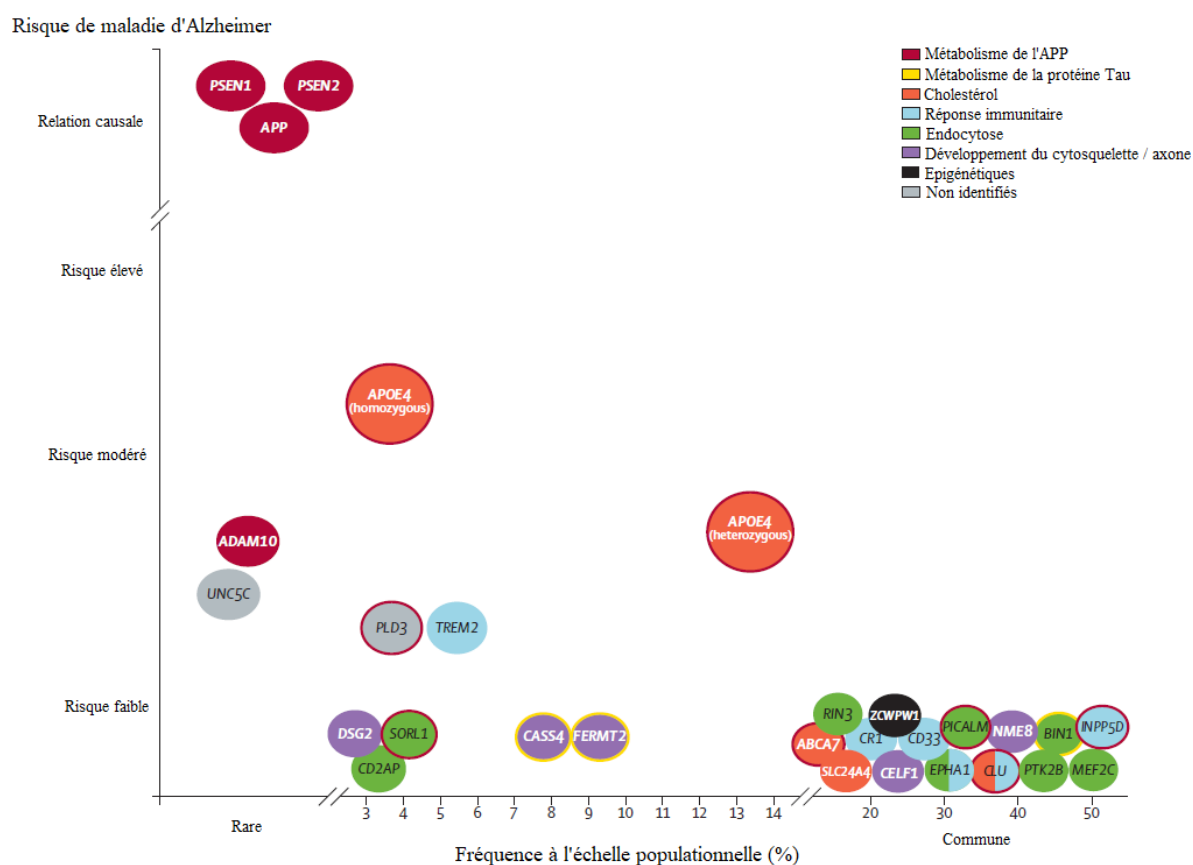


Figure 5. Vue d'ensemble schématique des gènes liés à la maladie d'Alzheimer.

Figure tirée et adaptée de Scheltens P et coll. (58).

Néanmoins, l'âge, le sexe ou la prédisposition génétique étant des facteurs de risques intrinsèques - non modifiables – ils ne présentent pas d'opportunité d'actions.

1.1.6.2. Facteurs de risques modifiables

Alors que les projections tendanciennes supputent une augmentation de la prévalence de la maladie dans les prochaines décennies, l'identification de facteurs de risques modifiables apparaît alors comme une stratégie de santé publique prioritaire afin de retarder l'apparition de la maladie ou d'en limiter la progression.

A cet effet, de nombreux facteurs de risque environnementaux, présentant une opportunité d'action, ont été mis en évidence. Il a notamment été suggéré que près d'un tiers des cas de maladie d'Alzheimer à travers le monde pourrait être attribuable à sept facteurs de risque modifiables, incluant des facteurs cardiovasculaires (diabète, obésité en milieu de vie et hypertension), des facteurs de mode de vie (sédentarité et statut tabagique) et des facteurs psycho-sociaux (niveau d'éducation et symptomatologie dépressive) (32,59).

1.1.6.2.1. Facteurs cardio-vasculaires

Diabète

Véritable pandémie dans le domaine des maladies non-contagieuses, le diabète affecterait près d'une personne sur 11 à travers le monde, dont seulement la moitié serait diagnostiquée. De nombreuses études épidémiologiques suggèrent que le diabète serait fortement associé à la survenue de troubles cognitifs et de démence, avec un risque de développer une maladie d'Alzheimer de 50 à 60% plus élevée chez les personnes souffrant d'un diabète de type 2 comparativement à des personnes présentant une normo-glycémie (32,60,61). De nombreux médiateurs pourraient sous-tendre cette physiopathologie incluant des mécanismes vasculaires et inflammatoires ou l'altération des voies du glucose, de l'insuline et de l'amyloïde (62). Toutefois, la part respective de chacun de ces mécanismes n'est pas clairement identifiée.

Obésité

L'obésité à l'âge adulte, généralement caractérisée par un profil cardiométabolique défavorable (ex. état inflammatoire, hypertension, hyperglycémie ou encore hypercholestérolémie), serait associée à un risque d'environ 1,6 fois supérieur de survenue d'une démence (32,63–65). Il est par ailleurs largement établi que cette association varie avec l'âge. Chez les personnes âgées, l'obésité apparaîtrait comme protectrice tandis qu'une faible masse corporelle serait associée à un sur-risque de démence d'un facteur 2,5 (66) ; une relation pouvant potentiellement

s'expliquée par une perte de poids généralement observée dans les phases précoces de la maladie d'Alzheimer et s'accroissant à l'approche du diagnostic (67). En effet, près de 50 à 60% des patients souffrant de maladie d'Alzheimer présenteraient une modification du comportement alimentaire (68) et de 18 à 80% un état nutritionnel insatisfaisant (69).

Pression artérielle

L'hypertension notamment à l'âge adulte, communément définie par une tension artérielle systolique ≥ 140 mmHg et diastolique ≥ 90 mmHg, serait associée à un sur-risque d'un facteur 1,2 de développer une démence (32,70,71), notamment par sa contribution délétère aux mécanismes vasculaires du syndrome démentiel (ex. microlésions de la substance blanche, infarctus lacunaires, sténose ou occlusion carotidienne) (72). Au-delà d'un diagnostic unique d'hypertension, une large amplitude de variation de la pression sanguine au cours du temps semblerait également impacter significativement la survenue d'une démence (73).

Dyslipidémie

La dyslipidémie est définie comme étant un dysfonctionnement de la régulation des taux de lipides sanguins incluant le cholestérol total et ses sous-fractions HDL (*High Density Lipoprotein* ou « bon cholestérol ») et LDL (*Low Density Lipoprotein* ou « mauvais cholestérol »), ainsi que les triglycérides. La dyslipidémie contribue à l'apparition d'athérosclérose (c.-à-d., au dépôt lipidique dans les artères sanguines) et à ses complications telles que l'ischémie cérébrale. Des taux faibles de HDL et des taux élevés de LDL ou triglycérides ont été associés au déclin cognitif et au risque de développer une démence, avec toutefois des résultats parfois contradictoires entre les études (74–78). Par ailleurs, les taux plasmatiques de cholestérol total et de LDL augmenteraient avec l'âge, tandis que les taux de HDL diminueraient (79) ; la présence du variant génétique ApoE- $\epsilon 4$ pouvant par ailleurs altérer la régulation du cholestérol notamment au niveau des cellules cérébrales (80).

1.1.6.2.2. Facteurs psycho-sociaux

Niveau d'éducation

Le niveau d'éducation est étroitement lié à la santé, notamment cérébrale. Largement utilisé comme proxy de la réserve cérébrale/cognitive, un haut niveau d'éducation serait associé à un plus faible risque de développer une démence. Une récente méta-analyse suggérerait par ailleurs un effet dose-réponse, avec un risque diminué de 7% pour chaque année supplémentaire d'éducation (81). Au-delà d'encourager des comportements plus sains et de favoriser des contextes de vie moins risqués, un haut niveau d'éducation serait également associé à une plus

grande capacité de réserve cérébrale/cognitive permettant de compenser, jusqu'à un certain seuil, l'accumulation des lésions neurodégénératives et de maintenir des fonctions cognitives efficaces à plus long terme (82).

Dépression

La dépression majeure est associée à un risque accru de démence toutes causes confondues (d'un facteur 1,9), de maladie d'Alzheimer (d'un facteur 1,7) et de démence vasculaire (d'un facteur 2,5) (83) ; un risque qui semblerait exacerbé chez l'homme (84). Bien que la survenue d'une dépression fasse partie du tableau symptomatique de la maladie d'Alzheimer (85), des preuves soutiennent des changements neurobiologiques similaires entre les deux entités, en particulier des modifications de la substance blanche (*c.-à-d.*, la région du système nerveux composée des axones neuronaux), suggérant que la dépression pourrait intervenir en amont en tant que facteur de risque de démence (86). Toutefois, ces relations entre dépression et démence sont complexes et la nécessité d'études longitudinales s'avère essentielle pour bien décrire l'histoire naturelle de la dépression.

1.1.6.2.3. Facteurs de mode de vie

Statut tabagique

La morbidité liée au tabagisme s'étendrait au-delà des maladies cardiovasculaires, des accidents vasculaires cérébraux (AVC) ou des cancers, impactant la survenue d'anomalies neurobiologiques et neurocognitives non attribuables à ces conditions médicales (*ex.* atrophie cérébrale, altération de la vitesse d'apprentissage et de la mémoire) (87,88). Une revue systématique a notamment mis en évidence que les fumeurs étaient davantage susceptibles de présenter en fin de vie un déclin cognitif et une démence comparés aux non-fumeurs (89). Par ailleurs, l'arrêt du tabac depuis plusieurs années permettrait vraisemblablement de réduire le risque des anciens fumeurs à un niveau comparable aux non-fumeurs (89–92). Le tabagisme pourrait être impliqué dans la pathogenèse de la démence de par sa capacité à favoriser des mécanismes inflammatoires et de stress oxydant cérébraux (93,94). À noter cependant que dans plusieurs études de type cas-témoins, le statut tabagique apparaît comme protecteur du risque de démence ou de maladie d'Alzheimer ; une association qui serait expliquée par un risque compétitif par le décès (95). En effet, les personnes fumeuses sont davantage susceptibles de décéder prématurément, potentiellement avant de développer une démence comparativement aux témoins non-fumeurs ; un risque compétitif par le décès qui ne se limite d'ailleurs pas seulement à ce seul facteur de risque.

Alcool

La consommation excessive d'alcool est associée à des modifications structurales au niveau du cerveau, à la survenue de troubles cognitifs et à un risque accru de démence toutes causes confondues (96,97). Toutefois, il semblerait que l'association entre consommation d'alcool et risque de démence ne soit pas linéaire mais apparaîtrait davantage sous forme de « parabole inversée » (courbe en J) (96,97). Une récente méta-analyse a notamment rapporté qu'une consommation légère à modérée (*c.-à-d.*, $\leq 12,5$ g/j d'alcool soit environ un verre ou moins d'alcool par jour) serait associée à un moindre risque de démence, tandis qu'une consommation excessive (*c.-à-d.*, ≥ 38 g/j soit environ trois verres ou plus d'alcool par jour) augmenterait le risque de démence d'environ 10%, par rapport à une abstinence (97). Toutefois, tous les alcools ne semblent pas conférer cet effet protecteur qui serait principalement attribué au vin, probablement du fait de sa teneur riche en polyphénols (98) lui conférant des propriétés neuroprotectrices et anti-inflammatoires. Il convient cependant de noter que la causalité entre une consommation d'alcool légère à modérée et un effet protecteur sur le risque de démence n'ayant pas pu être établie (99), il n'existe aucun consensus actuel sur la recommandation de consommation d'alcool, quel qu'il soit, dans le cadre du syndrome démentiel.

Activité physique

Plusieurs méta-analyses d'études observationnelles ont rapporté qu'une activité physique régulière serait associée à un risque plus faible de déclin cognitif et de démence (100,101). L'activité physique régulière est généralement associée à un mode de vie sain (*ex.* alimentation saine, statut tabagique non-fumeur et faible consommation d'alcool), un profil cardiométabolique favorable (*ex.* statut pro-inflammatoire faible et moindre hypertension, hyperglycémie et dyslipidémie) et une amélioration du flux sanguin cérébral (102,103) ; une pléthore de médiateurs potentiels qui pourrait contribuer indirectement à minorer le risque de démence. Toutefois, du fait d'un niveau de preuve insuffisant, les études actuelles ne permettent pas de formuler précisément des recommandations spécifiques concernant le type, la fréquence, l'intensité ou la durée de l'activité physique pouvant procurer des effets bénéfiques contre la maladie d'Alzheimer (91,104). Néanmoins, dans un contexte plus global de bien-être et de santé, les recommandations générales de promotion de la santé préconisent la pratique hebdomadaire d'au moins 150 minutes d'activité physique d'intensité modérée (correspondant approximativement à 75 minutes d'activité physique d'intensité soutenue) chez les personnes âgées de 65 ans et plus.

Alimentation

De par ses propriétés pléiotropiques lui conférant la capacité d'agir sur de multiples composantes du vieillissement cérébral (*ex.* apports en macro et micronutriments indispensables aux besoins structuraux et fonctionnels, régulation des processus inflammatoires), l'alimentation suscite un intérêt croissant dans la prévention de la démence qu'elle soit d'origine dégénérative ou vasculaire. Par ailleurs, l'alimentation apparaît comme

un dénominateur commun de nombreux facteurs de risque de démence préalablement cités tels que l'obésité, le diabète de type 2, l'hypertension ou encore la dyslipidémie.

A l'échelle des nutriments, de nombreux arguments physiopathologiques ou dérivés d'études observationnelles ont été rapportés en faveur d'un rôle protecteur des acides gras polyinsaturés de type oméga 3 (AGPI- ω 3), des vitamines B et D ainsi que des antioxydants de type caroténoïdes, polyphénols, vitamines C et E dans le vieillissement cérébral (105,106). Toutefois, la plupart des essais de complémentation ont rapporté des résultats décevants probablement liés à une large hétérogénéité entre les études en termes de sélection de la population ou de type de complémentation, à une durée d'intervention relativement faible rendant peu probable la mise en évidence d'un bénéfice cognitif ou même à l'existence au préalable d'un déficit effectif ou non chez les participants (106).

Majoritairement apportés par la consommation de poissons et crustacés ainsi que par les huiles végétales (apport de précurseurs des AGPI- ω 3), les AGPI- ω 3 possèderaient des propriétés anti-inflammatoires et seraient impliqués dans les mécanismes de plasticité synaptique et de neurogenèse (107). Les vitamines B (notamment B6, B12 et folates) sont apportées par des sources alimentaires variées de sorte qu'elles ne peuvent se substituer les unes aux autres : céréales complètes, foie et oléagineux pour la vitamine B6, produits exclusivement d'origine animale (abats, viande et poisson) pour la vitamine B12 et légumes verts, foie et légumineuses pour les folates. Elles réguleraient notamment l'hyperhomocystéinémie (un facteur de risque cardio-vasculaire avéré favorisant l'athérosclérose et associé à la survenue de troubles cognitifs et de démence). La vitamine D est principalement synthétisée suite à une exposition solaire ($\approx$ 80%), la consommation de poisson, d'œufs et de produits laitiers ne contribuant qu'à hauteur de 20% des apports. La vitamine D serait notamment impliquée dans la survie neuronale, la transmission synaptique, *via* son rôle de régulation de l'expression génique de plusieurs neurotransmetteurs, et dans la modulation des médiateurs inflammatoires impliqués dans la réponse immunitaire (108,109). Les principales sources de composés antioxydants (*ex.* caroténoïdes, polyphénols, vitamines C et E) dans l'alimentation sont les fruits, les légumes, les huiles végétales, les oléagineux ou le vin rouge. Les polyphénols représentent les antioxydants les plus abondants de l'alimentation d'origine végétale, avec un apport pouvant atteindre 1g par jour, soit près de 10 fois l'apport en vitamine C. Les polyphénols participeraient à la neuro-protection, la réduction de la charge amyloïde cérébrale et favoriseraient les capacités de mémoire et d'apprentissage (110). La vitamine C serait quant à elle impliquée dans la modulation de l'état inflammatoire, la neuro-modulation et la transmission synaptique (111). La vitamine E, possèderait également des propriétés anti-inflammatoires, jouant un rôle dans la régulation du stress oxydant (112). Enfin, les antioxydants de type caroténoïdes sont des pigments végétaux naturels, précurseurs de la vitamine A, possédant des propriétés anti-inflammatoires et anti-apoptotiques (113).

En raison des interactions complexes existant entre ces différents nutriments, la recherche s'est orientée vers l'étude des profils alimentaires, considérant l'alimentation comme un ensemble indissociable. L'un des profils alimentaires les plus étudiés dans la prévention des maladies chroniques est le régime Méditerranéen, caractérisé par (i) une consommation riche en aliments

d'origine végétale (ex. fruits, légumes, légumineuses et céréales) et en huile d'olive, (ii) une consommation modérée de poissons et crustacés, (iii) une consommation faible à modérée de produits laitiers, volailles et œufs, (iv) une faible consommation de produits carnés et de pâtisseries et (v) une consommation modérée de vin, principalement lors des repas. L'adhérence au régime Méditerranéen est notamment associée à un statut cardio-vasculaire, inflammatoire et oxydatif favorable ; autant de facteurs qui pourraient sous-tendre les effets bénéfiques d'une diète Méditerranéenne dans le vieillissement cognitif et le risque de démence en contribuant à limiter la charge lésionnelle cérébrale (114–119). D'autres régimes alimentaires, modélisés d'après des objectifs plus spécifiques, suscitent également un intérêt croissant comme le régime DASH (*Dietary Approaches to Stop Hypertension*) développé pour la prévention et le traitement de l'hypertension (120,121). Visant à privilégier une consommation alimentaire saine et variée notamment riche en fruits et légumes, et faible en sodium et en matières grasses saturées, une meilleure adhérence au régime DASH (c.-à-d., tercile supérieur comparé au tercile inférieur) a été associée à une diminution de 39% du risque de démence sur un suivi moyen de 4,5 ans (122). Le régime MIND (*Mediterranean-DASH Intervention for Neurodegenerative Delay*) combinant les effets prometteurs des régimes Méditerranéen et DASH dans la préservation des fonctions cérébrales et mettant l'accent sur la consommation de produits d'origine végétale ainsi que les baies et les légumes verts à feuilles, serait d'autant plus efficace dans la prévention de la maladie d'Alzheimer : les second et troisième terciles de score d'adhérence au régime MIND étant respectivement associés à une diminution de 35% et 53% du risque de maladie d'Alzheimer, tandis que seuls les troisièmes terciles du régime Méditerranéen (54%) et du régime DASH (39%) étaient significativement associés à un moindre risque de maladie d'Alzheimer (122). Toutefois, le caractère émergent du régime MIND et la faible quantité de données actuellement disponibles ne permettent pas d'en tirer des conclusions définitives.

A noter cependant que malgré l'abondance d'arguments biologiquement plausibles, la question de la causalité de la nutrition dans la maladie d'Alzheimer reste débattue (123,124), notamment appuyée par une susceptibilité accrue de malnutrition ou de perte d'appétit s'observant dans les phases précliniques et s'accroissant avec l'évolution de la pathologie.

1.1.6.2.4. Intérêt des études multi-domaines

Alors que la part de risque attribuable est susceptible d'être faible lorsque ces facteurs environnementaux sont pris isolément, leurs effets combinés au cours du temps pourraient être considérables comme le soulignent plusieurs études ayant étudié conjointement ces facteurs dans une stratégie préventive multi-domaine. A cet effet les individus présentant un mode de vie sain à l'âge adulte (c.-à-d., associant des comportements bénéfiques de santé cardio-vasculaires sur le plan du statut tabagique, de la consommation d'alcool, de l'activité physique et de l'alimentation) présentaient un risque de démence diminué de 64% en fin de vie (125). Par ailleurs, l'amélioration d'un point sur un indicateur plus global considérant 7 composantes

(c.-à-d., 1 point attribué pour chaque composante bénéfique parmi le statut tabagique (non-fumeur), l'indice de masse corporelle (IMC, entre 18,5 et 25 kg/m²), l'activité physique (régulière et adaptée), l'alimentation (notamment la consommation quotidienne de fruits et légumes), l'hypertension (pression artérielle systolique < 120 mmHg et diastolique < 80 mmHg, sans traitements), la cholestérolémie (< 200 mg/dL sans traitements) et la glycémie (< 100 mg/dL à jeun)) était associée à un risque diminué d'environ 10 à 20% démence toutes causes, de maladie d'Alzheimer et de déclin cognitif (123,126–128). Fait intéressant, les effets bénéfiques sembleraient consistants, qu'ils soient évalués à l'âge adulte ou chez la personne âgée, soulignant ainsi l'intérêt de contrôler ces facteurs même à un âge avancé. Par ailleurs, de récents travaux ont mis en évidence que l'adoption d'un mode de vie sain (défini comme un statut non-fumeur, une consommation modérée d'alcool, une alimentation équilibrée et la pratique d'une activité physique régulière) permettrait d'annihiler le risque de démence inhérent à une prédisposition génétique (129).

1.1.7. Système immunitaire inné et composante inflammatoire dans la maladie d'Alzheimer

Dans ce modèle « vie-entière » d'interaction entre prédisposition génétique et facteurs environnementaux, l'activation du système immunitaire inné et la composante inflammatoire associée émergent, bien qu'encore largement sous-estimées, en tant que voies pathologiques dans la maladie d'Alzheimer.

Le système immunitaire représente l'ensemble des mécanismes de défense de l'organisme, défini selon deux types d'immunité :

- l'immunité innée (naturelle) caractérisée par une réponse immédiatement fonctionnelle mais non-spécifique, notamment face à un agent pathogène. Garant de l'intégrité de l'organisme, l'inflammation correspond à la réaction stéréotypée universelle de défense de l'organisme, déclenchée suite à l'activation du système immunitaire inné.
- l'immunité adaptative (acquise) dont la réponse est spécifique et adaptée face à un antigène particulier. Plus tardive, l'immunité adaptative présente une capacité de mémorisation de l'antigène permettant l'induction d'une réponse plus rapide et plus efficace lors d'une exposition ultérieure à l'antigène. C'est notamment sur cette propriété du système immunitaire que sont fondés les vaccins.

L'immunité innée constitue la première ligne de défense de l'organisme vis-à-vis des agents stressants, et notamment infectieux, de notre environnement (130). La capacité de reconnaissance de ces agents stressants par les cellules immunitaires du soi (*c.-à-d.*, propre à l'organisme) provient de leurs récepteurs PRRs (*Pattern-Recognition Receptors*) permettant de détecter les motifs moléculaires associés aux micro-organismes pathogènes (PAMPs, *Pathogen-Associated Molecular Pattern*) ou résultant de dommages cellulaires (DAMPs, *Damage-Associated Molecular Pattern*).

Suite à la reconnaissance de ces motifs par les cellules immunitaires, ces dernières vont déclencher une réaction inflammatoire caractérisée par la libération de nombreuses molécules telles que des cytokines pro-inflammatoires (*ex.* IL-6, TNF α , IL-1 β), des chimiokines (*ex.* CCL2, CCL5, CXCL1), des messagers secondaires (*ex.* prostaglandines ou oxyde nitrique) ou encore des radicaux libres (agents oxydants). Bien que possédant un fort potentiel cytotoxique ubiquitaire, la sécrétion de ces molécules est essentielle au recrutement des moyens de défense de l'organisme permettant ainsi d'éliminer l'agent stressant et par conséquent de résorber la réponse inflammatoire *via* la production secondaire de molécules anti-inflammatoires (*ex.* IL-10, TGF β , protéines d'inhibition de la signalisation des cytokines (SOCS, *Suppressor Of Cytokine Signaling protein*)) (131).

Toutefois, de par son caractère non-spécifique, le mode d'action de l'inflammation est peu discriminant entre l'agent stressant et les cellules saines environnantes, entraînant des atteintes collatérales dommageables lorsque l'inflammation, non résorbée, se pérennise (132).

L'allure chronique d'un état inflammatoire peut relever soit de l'exposition récurrente voire indéfectible à l'agent stressant, soit de l'incapacité ou de la défaillance du système immunitaire à éliminer l'agent stressant. L'exposition récurrente à un agent stressant (*ex.* endotoxines bactériennes, décrites dans le chapitre 1.2) peut résulter de facteurs environnementaux tels que l'occurrence d'infections bactériennes non prises en charge. D'autre part, avec le vieillissement, une diminution progressive des capacités de l'organisme à lutter contre les agents stressants s'installe, caractérisée par l'augmentation concomitante de marqueurs pro-inflammatoires (133). Ce phénomène d'inflammation chronique à bas bruit, appelé « inflamm'aging », s'oppose ainsi à l'inflammation aiguë de par son absence d'évolution vers la rémission totale et de sa tendance à entraîner progressivement une destruction tissulaire, source de séquelles irréversibles au sein de l'organisme (133).

Qualifiée par certains scientifiques de « Dr Jekyll et Mr Hyde » (134,135), l'inflammation est donc un mécanisme à double tranchant, exerçant des effets tant protecteurs que préjudiciables. En outre, les preuves s'accumulent suggérant que l'inflammation chronique contribuerait à la neurodégénérescence et la pathogenèse de nombreux troubles neurologiques incluant la maladie d'Alzheimer, la maladie de Parkinson ou encore la sclérose latérale amyotrophique (136,137). Plus particulièrement, ces dernières décennies, l'importance de l'inflammation dans l'étiologie de la maladie d'Alzheimer a considérablement évoluée au point de faire naître le terme spécifique d' « hypothèse inflammatoire de la maladie d'Alzheimer » (138).

Sans prétendre à l'exhaustivité, les sous-chapitres suivants mettent en exergue l'intérêt émergeant des processus inflammatoires - et notamment de leur versant pathologique - dans le cadre de la maladie d'Alzheimer. Les forces motrices de l'hypothèse inflammatoire dans la maladie d'Alzheimer seront abordées au travers de quatre concepts, décrits ci-dessous : la neuro-inflammation, l'inflammation systémique, l'apport de la génétique et les traitements anti-inflammatoires.

1.1.7.1. Neuro-inflammation

Le système nerveux central (SNC) possède son propre système de défense dont la capacité immunitaire est majoritairement médiée par la microglie.

Apparentées aux macrophages, les cellules de la microglie sont considérées comme les cellules immunocompétentes du SNC, représentant approximativement 10% de l'ensemble des cellules cérébrales (139). Dans les conditions physiologiques normales, les cellules microgliales sont retrouvées sous forme quiescente ; un terme néanmoins réducteur dans le sens où elles assurent en permanence un rôle de sentinelle, sondant l'ensemble du parenchyme cérébral à la recherche d'éventuelles anomalies (*c.-à-d.*, la présence de motifs PAMPs ou DAMPs) (140). On estime que l'intégralité du volume cérébral serait sondé par les cellules microgliales toutes les 4 à 5 heures (140). Dans leur phénotype quiescent, caractérisé par la production de facteurs anti-inflammatoires et neurotrophiques (141), le rôle des cellules microgliales est d'éliminer les métabolites et les débris cellulaires en excès et de favoriser la réparation tissulaire (140).

Dans des conditions pathologiques (*c.-à-d.*, suite à la reconnaissance de motifs PAMPs ou DAMPs), les cellules microgliales initient la réponse immunitaire innée et adoptent un phénotype morphologique activé caractérisé notamment par une capacité de phagocytose (*c.-à-d.*, d'internalisation et de dégradation de substances étrangères) et la sécrétion massive de médiateurs inflammatoires à l'origine de la réponse neuro-inflammatoire (*ex.* cytokines, chimiokines, radicaux libres, oxyde nitrique, protéines du complément). A noter que dans la maladie d'Alzheimer, le phénotype habituellement quiescent des cellules microgliales s'apparenterait davantage à un phénotype intermédiaire, dit partiellement activé ou amorcé, conférant une convergence accrue vers un phénotype entièrement activé ainsi qu'une réaction inflammatoire exacerbée en réponse à un agent stressant (142,143).

Les caractéristiques typiques de la neuro-inflammation (*c.-à-d.*, activation microgliale et abondance de médiateurs pro-inflammatoires tels que l'IL-6, le TNF α et l'IL-1 β) sont fréquemment décrites au niveau des tissus cérébraux de patients atteints de maladie d'Alzheimer ou de troubles cognitifs légers comparés à des individus cognitivement sains de même âge (144–150). Entre autres, la cytokine pro-inflammatoire IL-1 β serait surexprimée jusqu'à un facteur 3 dans le cerveau des patients atteints de maladie d'Alzheimer par rapport aux sujets témoins, notamment au niveau de la microglie (144,151), et serait associée à la formation de plaques amyloïdes, la phosphorylation de la protéine Tau et l'enchevêtrement neurofibrillaire (152).

Parallèlement, des études menées en *post-mortem* ont révélé que la microglie activée colocalise avec les plaques amyloïdes et les dégénérescences neurofibrillaires dans la maladie d'Alzheimer (151,153–157), suggérant un lien entre la neuro-inflammation et les pathologies amyloïde et Tau.

Cependant, ce lien semble complexe. À l'instar de l'inflammation, la neuro-inflammation ne serait que transitoirement bénéfique dans la maladie d'Alzheimer : elle participerait précocement à la clairance et l'élimination des plaques amyloïdes par mécanisme de phagocytose par les cellules microgliales (158,159) et les astrocytes (cellules gliales les plus abondantes du SNC, impliquées dans la régulation de la neurotransmission ainsi que dans le soutien et la protection neuronale) (160) et participerait également à la mobilisation de précurseurs neuronaux impliqués dans la réparation, la remyélinisation ou la régénérescence axonale (161).

Toutefois, la pérennisation de la neuro-inflammation entrainerait l'apparition d'effets délétères pouvant exacerber la progression de la pathologie Alzheimer et conduire à un risque de décès prématuré (162–167). En effet, des preuves issues de modèles *in vivo* et *in vitro* rapportent que l'effet neurotoxique d'une exposition soutenue aux facteurs pro-inflammatoires serait à l'origine d'une altération de l'homéostasie métabolique (*c.-à-d.*, du maintien de l'équilibre du milieu intérieur), de dysfonctionnements neuronaux, de perte synaptique et de mort neuronale pouvant sous-tendre la pathologie d'Alzheimer (168–171). Cet environnement neurotoxique altérerait également les capacités de phagocytose des cellules microgliales, en régulant à la baisse leurs récepteurs de phagocytose, conduisant à une clairance insuffisante des peptides amyloïde- β (172). Une étude a également rapporté que les astrocytes du cortex entorhinal des patients atteints de maladie d'Alzheimer accumulaient les peptides amyloïde- β , et que cette accumulation serait corrélée positivement à la progression de la pathologie (173).

Par ailleurs, la microglie activée, de par la production de cytokines pro-inflammatoires, d'oxyde nitrique et de radicaux libres, faciliterait la synthèse d'APP, son clivage amyloïdogénique en peptide amyloïde- β et l'agrégation de ces derniers sous forme de plaques amyloïdes (174,175). La microglie activée serait aussi impliquée dans l'hyperphosphorylation de Tau conduisant à l'enchevêtrement neurofibrillaire (176).

Fait intéressant, d'un point de vue mécanistique les peptides amyloïde- β et les protéines Tau apparaissent capables d'induire l'activation des cellules microgliales et donc la production de médiateurs pro-inflammatoires (177), suggérant que les pathologies amyloïde et Tau contribueraient au maintien du processus de neuro-inflammation.

On assiste donc ici à un véritable cercle vicieux au sein duquel les relations entre neuro-inflammation et développement des lésions neuropathologiques associées à la maladie d'Alzheimer se stimuleraient réciproquement au cours du temps (Figure 6).

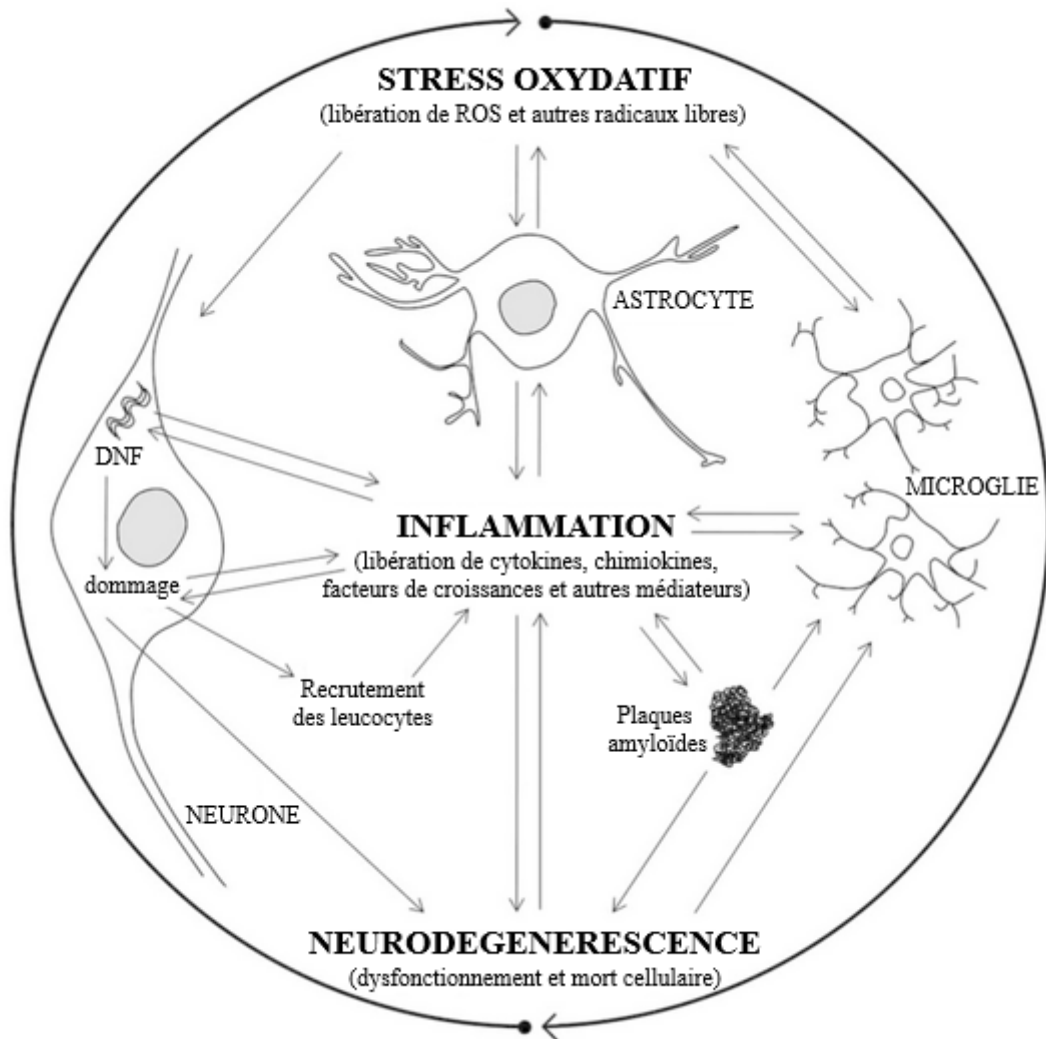


Figure 6. Modèle de cercle vicieux reliant le stress oxydatif, l'inflammation et la neurodégénérescence dans la maladie d'Alzheimer.

Image tirée et adaptée de Gamba P et coll. (178). Abréviation : DNF dégénérescences neurofibrillaires

1.1.7.2. Voies de communication entre le système nerveux central et la périphérie

Le SNC a longtemps été considéré comme un site privilégié sur le plan immunologique car isolé du reste de l'organisme par la barrière hémato-encéphalique (BHE).

La BHE, ou barrière hémato-méningée, est une barrière physiologique séparant la circulation sanguine du liquide céphalo-rachidien (LCR), fluide dans lequel baigne le cerveau et la moelle épinière. Constituée de cellules endothéliales scellées entre-elles par des jonctions serrées, et entourée de péricytes en contact avec les pieds astrocytaires (Figure 7), la BHE constitue un filtre hautement sélectif protégeant le SNC de nombreuses substances nocives (*ex.* agents pathogènes, toxines) tout en permettant le passage de nutriments essentiels au fonctionnement du cerveau et l'élimination des déchets (179).

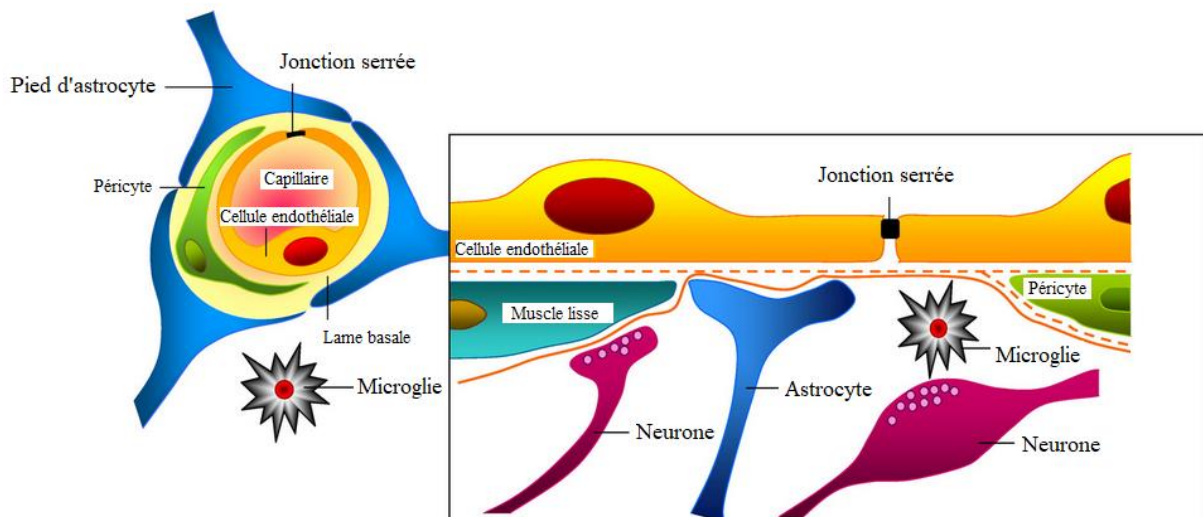


Figure 7. Représentation schématique de la barrière hémato-encéphalique.

Figure tirée et adaptée de www.petiteshistoiresdebiologie.wordpress.com

Ce concept historique d'indépendance entre le système nerveux central et la périphérie a laissé un héritage qui a conduit à considérer la recherche sur l'inflammation du SNC de manière isolée de son homologue systémique, se produisant à l'extérieur du SNC. Un concept réducteur si l'on tient compte du fait que l'Homme est continuellement exposé à une multitude d'agents stressants capables de déclencher une inflammation systémique, dont les conséquences peuvent impacter le SNC.

En effet, à la suite d'une infection systémique d'origine bactérienne ou virale une réponse centrale caractérisée par une constellation de symptômes cliniques est déclenchée, définie sous le terme de *sickness behavior* ou « comportement de maladie » (180). Le *sickness behavior* est

un ensemble coordonné de changements de comportements adaptatifs permettant à l'organisme de faire face à une infection, incluant généralement de la fièvre, une sensation de malaise, un état léthargique, une perte d'appétit, un état dépressif, de la somnolence, une tachycardie ou encore une diminution des facultés de concentration.

Bien que la grande majorité des médiateurs pro-inflammatoires soit physiquement incapable de traverser la BHE du fait de leur poids moléculaire élevé, plusieurs voies de communication alternatives, humorales ou neuronales, ont été identifiées, permettant la transmission d'une signalisation de la périphérie vers le SNC (181). Parmi les mécanismes identifiés on peut citer :

- la voie des organes circumventriculaires. Il s'agit de régions situées autour des ventricules cérébraux où la BHE, ne comportant pas de jonctions serrées, est perméable à la diffusion passive directe de médiateurs inflammatoires d'origine systémique et la propagation de la réponse inflammatoire à travers le parenchyme cérébral (182,183).

- la voie des prostaglandines. En présence de BHE intacte, les cytokines pro-inflammatoires d'origine systémique s'avèrent capables de stimuler directement l'endothélium vasculaire cérébral, induisant la synthèse de messagers secondaires tels que les prostaglandines et l'oxyde nitrique, qui à leur tour peuvent activer la microglie et l'axe du stress hypothalamo-hypophyso-surrénalien (184,185).

- l'entrée directe de cellules immunocompétentes de la périphérie vers le parenchyme cérébral, et en particulier la migration des progéniteurs des cellules du système immunitaire favorisant la prolifération de la microglie dans le SNC (186).

- la voie du transport actif des cytokines, permettant le passage des cytokines à travers la BHE par un système de transporteurs (187–189). Toutefois, il convient de noter que ce mécanisme de transport, en raison de sa lenteur et de son caractère saturable, semble difficilement conciliable avec la réponse rapide du SNC en réponse à une inflammation systémique.

- la voie du nerf vague. Les médiateurs pro-inflammatoires peuvent agir indirectement sur l'hypothalamus *via* le nerf vague, principal composant du système nerveux parasympathique, dont les afférences se projettent au niveau du noyau du tractus solitaire, qui coordonne les réflexes végétatifs (190).

Par ces voies de communication, qui ne s'excluent pas mutuellement, l'inflammation systémique serait ainsi capable d'induire une activation microgliale et astrocytaire favorisant l'hyperphosphorylation de la protéine Tau, l'oligomérisation des peptides amyloïdes- β et l'activation du complément ; autant de mécanismes pouvant sous-tendre la pathologie de la maladie d'Alzheimer (191).

Par ailleurs, l'intégrité de la BHE ne semble pas immuable, et deviendrait davantage perméable aux molécules d'origine systémique au cours du vieillissement. L'inflamm'aging pourrait, par sa capacité à affaiblir la résistance des jonctions serrées des cellules épithéliales, expliquer en partie l'altération de l'intégrité de la BHE liée à l'avancée en âge (192). D'autre part, une méta-analyse a rapporté une altération exacerbée de la BHE chez les patients atteints de maladie d'Alzheimer ou de démence vasculaire comparés à des individus cognitivement sains (192,193). Cette perte d'intégrité de la BHE semblerait apparaître précocement dans la pathologie (194,195), précédant l'atrophie hippocampique (193), la survenue de troubles cognitifs (196) et s'intensifierait à mesure que la maladie progresse (192,197).

Ainsi, certains individus pourraient être davantage vulnérables aux phénomènes inflammatoires systémiques ; un facteur de susceptibilité qui pourrait bien contribuer, voire prédisposer, au développement de la maladie d'Alzheimer.

1.1.7.3. Inflammation systémique

1.1.7.3.1. Association entre inflammation systémique et maladie d'Alzheimer

Au-delà des mécanismes neuro-inflammatoires de la maladie d'Alzheimer abordés précédemment, de nombreuses études épidémiologiques ont mis en évidence une association entre des taux sériques ou plasmatiques de médiateurs pro-inflammatoires et la maladie d'Alzheimer. Notamment, une méta-analyse portant sur 14 études épidémiologiques (198) a rapporté des concentrations circulantes significativement plus élevées d'IL-6, de TNF- α , d'IL-1 β , de TGF- β , d'IL-12 ou encore d'IL-18 chez des patients présentant une maladie d'Alzheimer comparativement à des sujets témoins. Des niveaux de CRP (*C-Reactive Protein*) plus élevés (*c.-à-d.*, > 3,3 mg/L correspondant au quartile supérieur de distribution) ont été associés à la présence de troubles cognitifs légers (dont le taux de conversion annuelle vers le stade de démence est estimé entre 5 et 10% (199)) par rapport à des témoins cognitivement sains (200). A l'instar de la CRP, des niveaux plus élevés de TNF α et d'IL-6 circulants ont été rapportés chez des patients atteints de maladie d'Alzheimer et de troubles cognitifs légers (198,201–203).

A l'appui d'un rôle majeur de l'inflammation dans la pathogenèse de la maladie d'Alzheimer, plusieurs études ont examiné le lien entre les niveaux circulants de biomarqueurs pro-inflammatoires et la survenue d'une maladie d'Alzheimer au travers d'études longitudinales, sans pour autant établir de consensus sur leur part respective dans la prédiction de la pathologie Alzheimer. Notamment, les taux circulants de CRP et d'IL-6 se sont révélés être associés à un sur-risque de démence et de maladie d'Alzheimer (204–206). Une étude récente a révélé que les personnes ayant des niveaux circulants plus élevés de CRP à l'âge adulte (*c.-à-d.*, > 4,69 mg/L correspondant au quartile supérieur de distribution) présentaient un déclin cognitif 11,6% plus prononcé dans les deux décennies suivantes comparativement au quartile inférieur de distribution ($\leq 1,04$ mg/L) (207). Dans une autre étude, des taux plasmatiques élevés de CRP à l'âge adulte (*c.-à-d.*, > 1,0 mg/L correspondant au quartile supérieur) étaient associés à un sur-

risque, d'un facteur 3, de maladie d'Alzheimer jusqu'à 25 ans plus tard (208). Par ailleurs, une fois le diagnostic de maladie d'Alzheimer posé, un taux élevé de TNF α (c.-à-d., quartile supérieur de la distribution correspondant à un taux sérique > 2,4 pg/mL) était associé à un sur-risque multiplié par 4 de déclin cognitif à 6 mois, contrairement aux sujets présentant de faibles taux de TNF α qui n'ont montré aucun signe de déclin cognitif durant les 6 mois (209). De plus, des sujets âgés cognitivement sains présentant une production cellulaire plus importante d'IL-1 β ou de TNF α (c.-à-d., dans les terciles intermédiaires ou supérieurs par rapport au tercile inférieur) avaient un risque accru multiplié par près de 3 de développer une maladie d'Alzheimer dans les années qui suivaient (210).

Toutefois, les preuves directes d'un lien causal entre inflammation systémique et maladie d'Alzheimer restent limitées avec des résultats parfois contradictoires (211) ; certaines études ne mettant en évidence aucune différence dans la concentration de médiateurs pro-inflammatoires (211,212) voire même des taux réduits de TNF α chez les patients présentant une pathologie Alzheimer comparés à des sujets témoins (213).

1.1.7.3.2. Hypothèse infectieuse dans la composante inflammatoire de la maladie d'Alzheimer

L'inflammation étant un mécanisme fondamental de défense contre les agents pathogènes invasifs, l'hypothèse infectieuse dans la maladie d'Alzheimer stipule que les changements neuropathologiques observés dans la maladie d'Alzheimer pourraient être le reflet clinique d'infections cérébrales ou périphériques (214). L'accent sur le rôle des maladies infectieuses a permis de mettre en évidence que la voie inflammatoire dans la maladie d'Alzheimer serait partiellement médiée par l'occurrence d'infections bactériennes, virales ou encore fongiques chroniques (214,215).

La présence d'une ou plusieurs infections toutes causes confondues sur une période de suivi de 5 ans multiplierait par 1,4 le risque de développer une maladie d'Alzheimer ; un risque qui augmenterait par ailleurs avec l'âge (216).

L'une des hypothèses est basée sur le concept de la dissémination systémique de médiateurs pro-inflammatoires tels que la CRP, l'IL-6 et le TNF α dans le cadre d'infections localisées comme observé dans le cas de la parodontite (c.-à-d., l'infection du parodonte, tissu de soutien des dents) (217). La parodontite chronique étant une affection immuno-inflammatoire périphérique répandue, il a été proposé qu'elle jouerait un rôle significatif en tant que facteur de risque potentiel dans le développement de la maladie d'Alzheimer et le déclin cognitif associé (218–220).

De même, *Helicobacter pylori*, une bactérie fréquemment retrouvée au niveau intestinal, a été identifiée comme un facteur de risque possible de maladie d'Alzheimer (221–223), bien que l'ensemble des études ne soient pas concordantes (224).

Une étude d'association portant sur 128 patients atteints de maladie d'Alzheimer et 135 témoins a observé que la charge infectieuse (évaluée par le titrage des anticorps dirigés contre des pathogènes infectieux communs incluant des virus (cytomégalovirus et virus de l'Herpès simplex de type 1) et des bactéries (*Borrelia burgdorferi*, *Chlamydomphila pneumoniae* et *Helicobacter pylori*)) serait associée à une probabilité multipliée par 4 de présenter une maladie d'Alzheimer (225).

Enfin, le sepsis, désignant une réponse inflammatoire généralisée faisant suite à une infection grave de l'organisme causée par des agents infectieux (226), serait également associé à l'augmentation de l'expression cytokinique au niveau cérébral (227) et l'activation microgliale (228).

Il convient néanmoins d'interpréter ces résultats avec prudence, compte-tenu de la relation de causalité inverse qui peut exister entre la présence d'infection et la maladie d'Alzheimer. En effet la maladie, caractérisée par une dépendance progressive et une perte de l'état de conscience de soi, confère une susceptibilité accrue au développement d'infections (209).

1.1.7.3.3. L'inflammation systémique comme dénominateur commun de nombreux facteurs de risque de la maladie d'Alzheimer

A l'appui de l'hypothèse selon laquelle l'inflammation systémique pourrait avoir un caractère causal dans le développement de la maladie d'Alzheimer, un certain nombre de facteurs de risque intrinsèques et environnementaux connus dans le développement de la maladie partagent un phénotype pro-inflammatoire systémique commun.

L'âge, principal facteur de risque de maladie d'Alzheimer, est notamment associé au phénomène d'inflamm'aging ; une régulation à la hausse de la réponse inflammatoire systémique résultant d'un déséquilibre de la balance entre facteurs pro- et anti-inflammatoires en faveur d'un état inflammatoire chronique de bas grade (229). Le vieillissement s'accompagne également d'une augmentation généralisée des dommages oxydatifs, probablement en raison d'un affaiblissement des défenses anti-oxydantes de l'organisme (230).

D'autre part, un état inflammatoire chronique de bas grade peut être favorisé par une alimentation déséquilibrée (*c.-à-d.*, riche en graisses saturées, pauvre en fruits et légumes ou en fibres) (231), une dysbiose du microbiote intestinal (232) ou encore la sédentarité (233). Ce dénominateur inflammatoire commun est par ailleurs fréquemment observé dans diverses maladies et complications qui leurs sont associées telles que l'obésité (234), le diabète (235), la dépression (236) ou encore les maladies cardio-vasculaires (237), tous considérés comme des facteurs de risque de démence.

Globalement, ces résultats fournissent un aperçu de la relation temporelle entre l'inflammation systémique et la survenue de la maladie d'Alzheimer, suggérant que l'inflammation systémique

survenant des décennies avant l'âge typique d'apparition de la maladie d'Alzheimer pourrait favoriser la progression des processus neurodégénératifs et précipiter le stade symptomatique clinique. Étant donné que l'inflammation systémique est une caractéristique importante du vieillissement, qu'il soit naturel ou pathologique, une meilleure caractérisation des phénomènes inflammatoires dans la neurodégénérescence et la maladie d'Alzheimer pourrait avoir des répercussions considérables dans la mise en place de stratégies préventives ou thérapeutiques, touchant une population cible en pleine expansion.

1.1.7.4. Prédiposition génétique associée aux composants du système immunitaire et à l'inflammation

Alors que l'inflammation est largement reconnue comme faisait partie intégrante du processus de neurodégénérescence dans la maladie d'Alzheimer, les données génétiques suggèrent un rôle encore plus précoce des mécanismes immunitaires et inflammatoires dans le développement de la maladie.

La stratégie la plus couramment utilisée dans l'identification de gènes candidats dans une maladie, et notamment dans la maladie d'Alzheimer, est l'étude d'association à l'échelle du génome (GWAS), dans laquelle jusqu'à plusieurs millions de polymorphismes nucléotidiques sont simultanément testés en association avec différents *outcomes* comme le risque de maladie, les mesures d'imagerie cérébrale ou encore les paramètres neuropathologiques (238).

Jusque récemment, le seul facteur de risque génétique établi de manière sans équivoque dans le développement de la forme sporadique de la maladie d'Alzheimer était ApoE-ε4. Au-delà de son rôle majeur dans le métabolisme du cholestérol, il a été rapporté que le variant ApoE-ε4 serait également impliqué dans le déclenchement d'une cascade inflammatoire qui affaiblirait la BHE et la rendrait plus perméable aux molécules périphériques (239,240). Depuis, d'autres facteurs de susceptibilité génétique ont été identifiés dans la survenue de la forme sporadique de la maladie d'Alzheimer, dont nombre d'entre eux sont impliqués dans l'activation du système immunitaire inné et l'inflammation (ex. TREM2, CD33) (Figure 5, légende bleue) (58,241–243). Fait intéressant, ces gènes seraient impliqués dans la régulation à la fois des aspects centraux et périphériques du fonctionnement immunitaire. À noter qu'aucune corrélation de ce type n'a été rapportée entre les gènes codant pour l'APP, PSEN1 ou PSEN2 et l'incidence de la forme sporadique de la maladie (244).

Parmi ces autres facteurs de susceptibilité identifiés, certaines variantes hétérozygotes du polymorphisme génétique de TREM2 (*Triggering Receptor Expressed on Myeloid cells 2*), un récepteur membranaire exprimé par les cellules microgliales ayant pour rôle la stimulation de la phagocytose et la répression de la production cytokinique, seraient plus fréquemment observées chez les patients atteints de maladie d'Alzheimer. La présence du variant hétérozygote TREM2 serait notamment associée à un risque multiplié par 3 de développer une maladie d'Alzheimer (245,246), et serait également impliqué dans d'autres maladies neurodégénératives telles que la maladie de Parkinson, la démence fronto-temporale ou encore

la sclérose latérale amyotrophique (247), renforçant l'hypothèse d'un lien causal entre les composants du système immunitaire inné et les maladies neurodégénératives.

Le gène CD33 (*Cluster of Differentiation-33*) est un gène codant pour une protéine transmembranaire appartenant à la famille des récepteurs immunitaires notamment exprimé à la surface des cellules myéloïdes (incluant les cellules microgliales). CD33 s'est avéré être retrouvé en abondance dans le cerveau de patients atteints de maladie d'Alzheimer, et dont la quantité corrélait avec la charge amyloïde et la sévérité de la maladie (248,249). Par ailleurs, CD33 altérerait la clairance des peptides amyloïde- β médiée par la microglie (249).

La Clusterine (CLU), également connue sous le nom d'apolipoprotéine J, est une glycoprotéine impliquée dans la lyse cellulaire médiée par le complément, le transport lipidique et l'apoptose (c.-à-d., le processus de mort cellulaire programmée). Originellement décrite en raison de sa capacité à induire l'agrégation cellulaire, la CLU serait capable d'interagir avec les peptides amyloïde- β , jouant un rôle majeur dans l'agrégation et la toxicité de l'amyloïde- β (250). Par ailleurs, une concentration plus élevée de CLU dans le plasma et le LCR de patients atteints de maladie d'Alzheimer a été rapportée, comparativement à des sujets témoins, associée à l'atrophie du cortex entorhinal et la progression clinique de la maladie (250–252).

Également, seuls ou en association avec l'ApoE- ϵ 4, des polymorphismes génétiques dans la région régulatrice de gènes codant pour des médiateurs pro-inflammatoires prédisposeraient au développement de la maladie d'Alzheimer. Ces polymorphismes incluent notamment des cytokines pro-inflammatoire telles que l'IL-6 et l'IL-1 ou encore le TNF α (253–257). D'autres facteurs de risque génétiques associés aux composants de l'immunité, non décrits dans ce sous-chapitre tels que CR1, HLA-DRB5/DRB1, INPP5D ou encore MEF2C ont également été impliqués dans le développement de la maladie d'Alzheimer (250).

L'identification de voies multi-génétiques dans le cadre de la maladie d'Alzheimer soutiendrait ainsi l'hypothèse d'un caractère causal du système immunitaire et de la réponse inflammatoire associée dans le cadre de la maladie d'Alzheimer. Le risque génétique pourrait ainsi refléter l'incapacité de certains individus à développer une réponse immunitaire adéquate contre les infections, favorisant, en interaction avec les facteurs environnementaux tout au long de la vie, le développement de la maladie d'Alzheimer.

1.1.7.5. Traitements anti-inflammatoires non stéroïdiens

L'hypothèse que la prise d'anti-inflammatoires non-stéroïdiens (AINS) sur le long terme pourrait retarder la survenue d'un diagnostic de maladie d'Alzheimer tire son origine d'une part des mécanismes inflammatoires associés à la maladie d'Alzheimer (tels que décrits ci-dessus) et d'autre part de l'incidence de maladie d'Alzheimer considérablement réduite, d'environ 40%, chez les personnes souffrant de polyarthrite rhumatoïde (258). La polyarthrite rhumatoïde,

forme la plus courante de polyarthrite inflammatoire, se manifeste par une inflammation persistante des articulations. Alors qu'aucune preuve d'association causale n'a pu être mise en évidence entre la polyarthrite rhumatoïde et la maladie d'Alzheimer, il a été suggéré que l'effet bénéfique pourrait partiellement s'expliquer par la prise d'AINS généralement très soutenue chez les patients (258).

Les AINS sont les agents anti-inflammatoires les plus couramment utilisés dont certains sont disponibles sans ordonnance (ex. aspirine, ibuprofène). Bien que plusieurs actions distinctes aient été décrites, le mécanisme d'action principal des AINS repose sur l'inhibition de l'activité de la cyclo-oxygénase (COX). La COX est une enzyme, exprimée sous deux formes (COX-1 et COX-2), intervenant au sommet d'une cascade de signalisation aboutissant à la formation de substances impliquées notamment dans l'inflammation systémique et centrale. D'autres mécanismes d'actions plus spécifiques des AINS incluent l'inhibition de l'agrégation des fibrilles amyloïdes- β , par affinité de liaison (259).

Selon les données épidémiologiques issues de plusieurs méta-analyses (260–265), la prise d'AINS réduirait le risque de développer une démence ou une maladie d'Alzheimer d'approximativement 30% comparé à la non-consommation d'AINS, et l'effet bénéfique serait d'autant plus important lorsque l'exposition perdure sur plusieurs années (261,266).

Toutefois, l'utilisation d'AINS dans la maladie d'Alzheimer reste controversée, notamment car les conclusions de nombreuses études épidémiologiques rapportant l'apparition tardive de la maladie d'Alzheimer chez les utilisateurs d'AINS n'ont pas été corroborées dans les essais cliniques (267,268). Une explication spéculative proviendrait du fait que la majorité de ces essais cliniques ciblent les phases précoces de la maladie d'Alzheimer, une période où l'inflammation semble essentielle dans l'initiation de la clairance de l'amyloïde- β et la mise en place des stratégies de défense de l'organisme (241).

A l'heure actuelle, bien qu'une accumulation de preuves semble montrer un intérêt de la prise régulière d'AINS il n'existe aucun consensus que ce soit en termes de durée, de dosage ou de fenêtre temporelle, pour l'utilisation des AINS en tant que stratégie préventive ou thérapeutique dans la maladie d'Alzheimer. En outre, toute prise de médicaments peut conduire à l'apparition d'effets secondaires potentiellement néfastes (ex. intolérance digestive, nausée, saignements ou encore hypertension) (268), dont la balance bénéfique-risque n'est pas clairement établie dans le cadre des AINS et de la maladie d'Alzheimer.

Pour conclure sur ces sous-chapitres, il devient désormais évident que l'inflammation ne peut plus être considérée comme un simple épiphénomène de la maladie d'Alzheimer. Alors que les études génétiques ont fourni des preuves convaincantes d'un rôle étiologique de la fonction immunitaire dans la maladie d'Alzheimer, les résultats de la recherche épidémiologique et translationnelle suggèrent que l'inflammation centrale et systémique est capable de favoriser, si ce n'est déclencher, une pathologie neurodégénérative de type Alzheimer. Bien que la connaissance du rôle de l'inflammation systémique dans le développement et la progression de la maladie d'Alzheimer n'en soit encore qu'à ses balbutiements, il existe des preuves croissantes et convaincantes que l'inflammation du SNC et l'inflammation systémique ne peuvent être considérées isolément. L'état inflammatoire, reflet de l'interaction entre facteurs endogènes, exogènes et de prédisposition génétique, pourrait ainsi représenter une stratégie prometteuse dans l'identification de nouvelles approches préventives, thérapeutiques, voire même diagnostiques de la maladie d'Alzheimer.

Toutefois, les facteurs responsables de l'initiation ou du maintien des phénomènes d'inflammation chronique de bas grade restent peu élucidés dans le cadre de la maladie d'Alzheimer. L'un des modèles les plus largement répandus dans l'étude de l'inflammation repose sur l'exposition aux endotoxines bactériennes, un motif typique de PAMPs décrit ci-dessous.

1.2. Les endotoxines : des substances toxiques ubiquitaires

1.2.1. Définition, structure et origine

Les lipopolysaccharides (LPS, ou couramment appelés endotoxines) sont des composants majeurs de la membrane externe des bactéries dites à Gram-négatif ³. Ils figurent parmi les substances biologiques les plus toxiques que l'on connaisse, activant la forme primitive de défense de l'organisme qu'est l'immunité innée.

On dénombrerait pas moins de trois millions de molécules LPS par bactérie, recouvrant ainsi jusqu'à 75% de la surface bactérienne (269).

Les LPS sont des complexes macromoléculaires, constitués de trois éléments : (i) le lipide A, une ancre hydrophobe ayant la particularité de contenir des acides gras hydroxylés, (ii) un noyau oligosaccharide (core) et (iii) un polysaccharide distal (ou antigène O) (Figure 8).

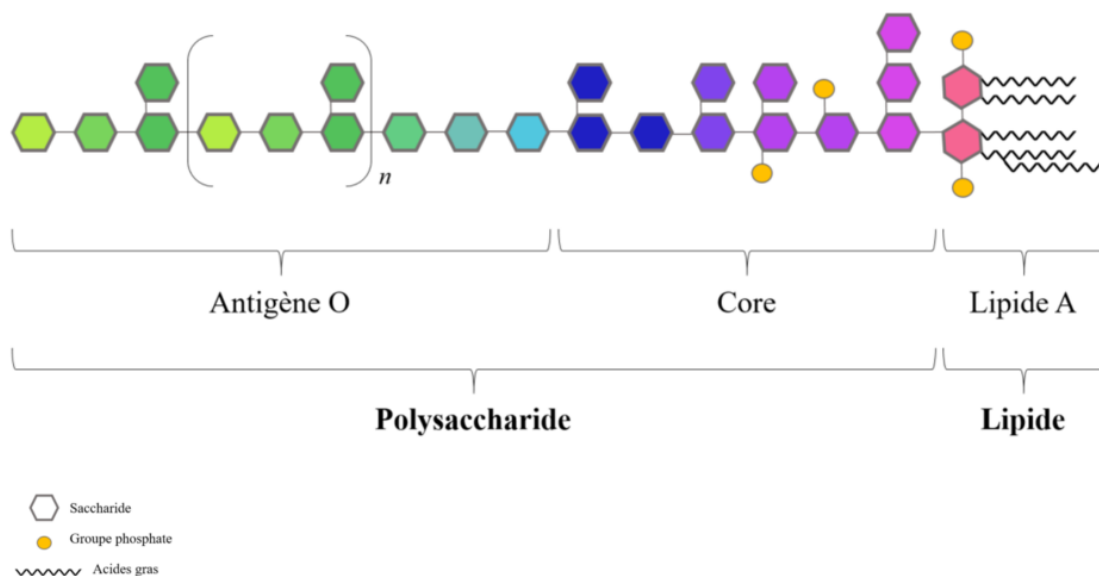


Figure 8. Représentation schématique de la structure moléculaire du lipopolysaccharide.

³ La coloration de Gram doit son nom au bactériologiste Hans Christian Gram qui mit au point cette méthode de classification des bactéries en 1884. Fréquemment utilisée, elle permet de différencier les bactéries selon la composition de leur paroi.

Le lipide A est responsable de l'activité immunologique (*c.-à-d.*, de la nature toxique) des LPS, tandis que la partie polysaccharidique est responsable de la spécificité antigénique (269,270). Ces deux éléments moléculaires peuvent varier en fonction de la souche ou de l'espèce bactérienne. Par conséquent, il existe une multitude de molécules LPS dont l'activité biologique diffère du fait de leur diversité structurelle, expliquant le caractère plus ou moins virulent des bactéries.

Omniprésentes dans notre environnement, les bactéries sont capables de coloniser tous les types de biotopes, faisant d'elles et de leurs LPS des contaminants ubiquitaires. Chez l'homme, ces bactéries se retrouvent dans de nombreuses parties de l'organisme incluant les voies gastro-intestinales, la peau, les muqueuses ou encore la salive ; le microbiote intestinal étant l'un des écosystèmes les plus denses jamais étudiés.

1.2.2. Le microbiote intestinal : réservoir endogène d'endotoxines

Le microbiote intestinal (anciennement appelé flore intestinale) représente l'ensemble des micro-organismes du tractus gastro-intestinal, dont la principale composante est d'origine bactérienne.

D'après les estimations, plus de dix mille milliards de bactéries colonisent le microbiote intestinal humain. Par comparaison, cela équivaut approximativement à 1,3 fois plus de cellules bactériennes que de cellules eucaryotes nous composant en tant qu'humain (271).

La répartition des bactéries dans le tractus digestif suit un gradient de concentration de proximal en distal ; la densité bactérienne la plus élevée se situant au niveau du côlon. Avec une taille plus faible que celle d'une cellule eucaryote (*c.-à-d.*, de 1 à 10 µm pour une bactérie et de 10 à 100 µm pour une cellule eucaryote), la biomasse totale du microbiote intestinal est estimée à environ 1,5 kg par individu.

Sur le plan phylogénétique, on estime que trois phyla bactériens (*c.-à-d.*, lignées d'espèces issues d'une même souche) composent la majorité de la composante bactérienne du microbiote intestinal : le phylum des *Firmicutes* (60 à 80%), des *Bacteroidetes* (20 à 30%) et des *Actinobacteria* (< 10%) (272,273). Toutefois, la composition du microbiote intestinal, en terme de quantité mais aussi de qualité, est propre à chaque individu (272,274).

En dehors des bactéries, d'autres micro-organismes tels que les champignons, archées et virus composent également le microbiote intestinal, bien que leurs fonctions restent mal caractérisées.

L'hôte humain et le microbiote sont un exemple parfait de symbiose (*c.-à-d.*, de coopération biologique, durable et réciproquement profitable entre les deux organismes). Bien que la composition microbienne diffère d'un individu à l'autre, des propriétés communes sont partagées. Le recours à des animaux axéniques (*c.-à-d.*, dépourvus de microbiote intestinal) a

notamment permis de mettre en évidence l'implication de ce microbiote dans diverses fonctions physiologiques d'ordre métabolique, trophique ou protectrice.

Fonctions métaboliques

Une des fonctions majeures du microbiote intestinal est d'assurer la digestion de substrats et de résidus alimentaires complexes non digestibles par l'organisme seul, incluant notamment les fibres alimentaires contenues dans les céréales, les fruits et les légumes. De ces processus de digestion et de fermentation résultent la production de gaz et de nombreux métabolites dont les acides gras à chaîne courte (AGCC) servant de substrats énergétiques à la fois pour le microbiote mais également pour l'hôte (275,276).

D'autre part, le microbiote intestinal participe à la synthèse de certaines vitamines (*ex.* vitamines K, B12, B8), favorise l'absorption de nutriments et joue un rôle non négligeable dans le métabolisme des stérols (*ex.* cholestérol, acides biliaires) (277–279).

Fonctions trophiques

Le microbiote intestinal participe à l'intégrité et la maturation de la muqueuse du tube digestif. En particulier, son effet trophique réside dans sa capacité à stimuler la prolifération et la différenciation des cellules épithéliales, la production de mucus ou encore la vascularisation (280).

Fonctions protectrices

Les bactéries commensales, de par leur présence, stimulent le système immunitaire de l'hôte et préviennent l'invasion et la colonisation d'opportunistes pathogènes dans le tractus digestif par des phénomènes de compétition et par la production de substances bactéricides (281–283).

Considéré comme un véritable organe à part entière, le microbiote intestinal est un écosystème complexe dont l'équilibre apparaît essentiel au maintien de diverses fonctions de l'organisme. Bien que relativement stable au cours du temps, la richesse et la diversité du microbiote peuvent être influencées par de nombreux facteurs exogènes et endogènes.

Parmi ceux-ci, l'alimentation représente l'un des facteurs environnementaux majeurs susceptibles d'influencer l'équilibre de l'écosystème microbien (284,285). Une équipe de chercheurs internationaux impliqués dans le projet MetaHit (*Metagenomics of the Human Intestinal Tract*, lancé en 2008 (286)) a notamment identifié trois signatures de composition bactérienne distinctes, appelées entérotypes, notamment associées aux habitudes alimentaires sur le long terme. La présence d'un entérotype de type 1 (caractérisé par l'abondance de

Bacteroidetes) étant associée à un régime riche en lipides et en protéines d'origine animale, tandis qu'un régime riche en glucides favoriserait un entérotipe de type 2 (caractérisé par l'abondance de *Prevotella*) (287). Cette opposition dans la composition du microbiote intestinal entre régimes riches en lipides (caractérisés par une prévalence élevée de *Bacteroidetes* et *Actinobacteria*) versus régimes riches en glucides et notamment en fibres (caractérisés par une prévalence élevée de *Firmicutes* et *Proteobacteria*) a également été rapportée par Wu et ses collaborateurs (287). Un constat qui pourrait offrir de nouvelles possibilités prometteuses dans la compréhension du microbiote et son impact sur la santé. Par ailleurs, il semble que la composition du microbiote intestinal soit également influencée par des changements alimentaires à très courts termes (c.-à-d., de quelques jours à quelques mois) (288).

Parmi les autres facteurs capables de moduler la composition du microbiote intestinal, on peut citer notamment le mode d'accouchement (c.-à-d., par césarienne ou par voie basse), le type d'allaitement (c.-à-d., au sein ou au biberon), le stress, le tabagisme, la consommation excessive d'alcool ou encore la prise de certains médicaments et plus particulièrement d'antibiotiques dont le mode d'action est de bloquer les mécanismes essentiels à la multiplication ou la survie bactérienne.

Toutefois, le microbiote est doté d'une capacité de résilience lui permettant de revenir, après plusieurs semaines voire plusieurs mois, à son état initial après avoir subi une période de perturbations. Néanmoins, cette aptitude peut être limitée par l'occurrence d'antibiothérapies chroniques, une alimentation déséquilibrée sur le long terme ou par la présence de comorbidités, augmentant ainsi la susceptibilité de l'impact négatif qu'un déséquilibre du microbiote intestinal pourrait avoir sur la santé de l'hôte. La sélection d'un microbiote qui manque de résilience et de diversité a notamment été proposée pour expliquer une partie de l'augmentation drastique des maladies auto-immunes et inflammatoires (232).

Une altération qualitative et fonctionnelle du microbiote intestinal, qualifiée de dysbiose, a été rapportée dans de nombreuses et diverses maladies telles que l'obésité (289), le diabète (290,291), le syndrome métabolique (292), les maladies inflammatoires de l'intestin (293), l'autisme (294), la dépression (295) ou encore la maladie d'Alzheimer (296–299).

1.2.3. Endotoxémie

Les bactéries naturellement retrouvées dans le microbiote intestinal libèrent leurs endotoxines non seulement lors de la mort cellulaire, mais également lors de la croissance et de la division bactérienne (lyse membranaire), faisant du tractus digestif un véritable réservoir à endotoxines au sein de l'organisme.

Dans les conditions physiologiques normales, l'immense majorité des endotoxines sont maintenues dans le tractus digestif, et donc par conséquent à l'extérieur de notre organisme.

Toutefois, elles possèdent la capacité de traverser les barrières physiologiques pour atteindre la circulation sanguine. Parmi les mécanismes de passage élucidés on peut citer :

- la co-absorption, consistant en un transport facilité du LPS par les chylomicrons (*c.-à-d.*, les lipoprotéines responsables du transport des lipides, et notamment des triglycérides, apportés par l'alimentation) sécrétés dans le plasma lors de la digestion lipidique (300–302).
- la diffusion passive paracellulaire (*c.-à-d.*, entre les cellules épithéliales de la barrière intestinale), concomitante à la diminution de l'expression des gènes codant pour les protéines de jonction serrées (*ex. Zonula Occludens*) (303). Ce phénomène d'hyperperméabilité intestinale étant également - et au-delà du vieillissement - étroitement associé à l'alimentation.
- la translocation bactérienne, généralement observé lors d'agression de la muqueuse, permettant le passage de bactéries vers les ganglions mésentériques puis vers les organes périphériques (304). Toutefois, ce mécanisme n'a pu être observé qu'*in vitro*.

Bien que majoritairement favorisé par à l'alimentation, le passage d'endotoxines dans le sang peut résulter de situations banales telles que le brossage des dents, les soins dentaires, une plaie ouverte, ou plus rarement être consécutif à une infection (*ex. infections urinaires, pulmonaires, parodontale ou digestives*) ou une intervention chirurgicale.

La présence d'endotoxines dans le sang est ainsi qualifiée d'endotoxémie. On distingue l'endotoxémie métabolique, caractérisée par une inflammation sub-clinique de bas grade en l'absence de toute source évidente d'infection bactérienne et dont les manifestations cliniques sont peu prononcées voire inexistantes, de l'endotoxémie faisant suite à une infection sévère, de source généralement exogène, et pouvant mener au choc septique. Ces travaux de thèses ont notamment porté sur le concept d'endotoxémie métabolique.

1.2.4. Réponse immunitaire et processus inflammatoire en réponse à l'endotoxémie

Les endotoxines, et plus particulièrement leur lipide A, sont l'exemple typique de motifs pathogènes PAMPs d'origine bactérienne reconnus par les récepteurs PRRs des cellules du système immunitaire inné. La présence de ces endotoxines dans la circulation sanguine, véritable signal d'alerte pour l'hôte d'une infection bactérienne, va dès lors induire l'activation du système immunitaire inné et la réaction inflammatoire associée (décrite préalablement dans le chapitre 1.1.7).

« It is our response that makes the disease » ⁴ (Thomas Lewis, 1972)

⁴ C'est notre réponse qui crée la maladie

Concrètement, une fois dans la circulation sanguine, les molécules de LPS vont rapidement être captées par la *LPS-Binding Protein* (LBP) et délivrées aux cellules du système immunitaire où elles vont initier, via un complexe trimoléculaire composé du *Cluster of Differentiation 14* (CD14), du *Toll-Like Receptor 4* (TLR4) et de la *Myeloid Differentiation protein 2* (MD2), la cascade de signalisation aboutissant à la production de médiateurs inflammatoires (Figure 9).

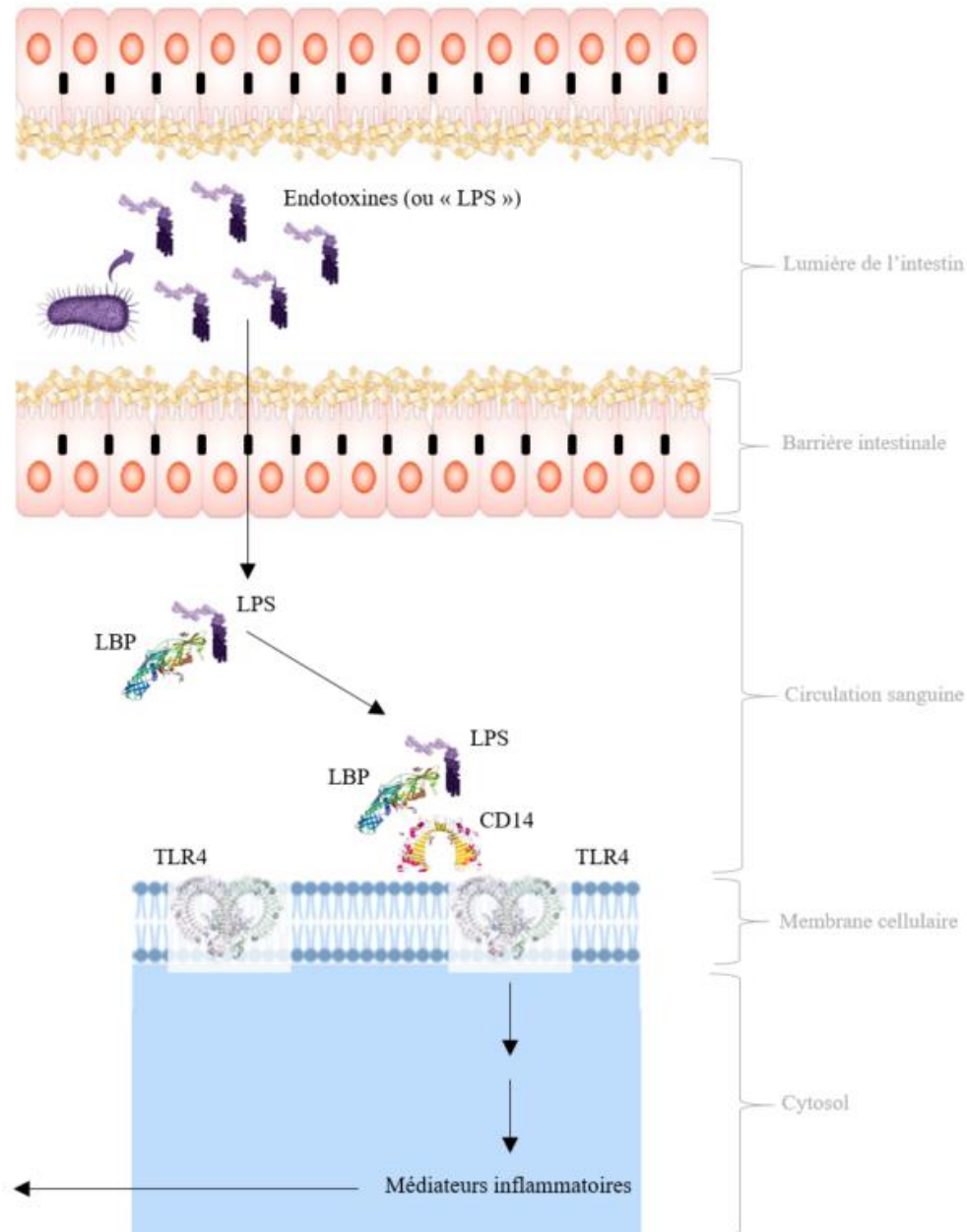


Figure 9. Représentation schématique simplifiée de la cascade de signalisation en réponse aux endotoxines d'origine intestinale.

Abréviations : LPS *Lipopolysaccharides* ; LBP *Lipopolysaccharides-Binding Protein* ; CD14 *Cluster of Differentiation-14* ; TLR4 *Toll-Like Receptor-4*.

Lipopolysaccharide-Binding Protein

Initialement décrite dans les années 1980, la *Lipopolysaccharide-Binding Protein* a été nommée ainsi de par son aptitude à se lier avec une forte affinité aux LPS. Principalement synthétisée par le foie, mais également par le tissu adipeux blanc (305), la LBP est sécrétée de manière consécutive dans la circulation sanguine à des taux moyens de l'ordre de 7 à 20 µg/mL chez des sujets sains ; des taux augmentant notamment avec l'âge ou la présence de comorbidité (ex. obésité, syndrome métabolique, bactériémie, syndrome de réponse inflammatoire systémique) (306–315). En réponse à un afflux d'endotoxines dans le sang, les taux circulants de LBP augmentent rapidement et restent relativement élevés jusqu'à 72h après exposition (316–318).

Étant donné leur architecture conservée, la plupart des molécules de lipide A sont détectées à des niveaux de l'ordre du picomolaire par le système immunitaire inné ; une faculté qui serait en partie médiée par la LBP, qui, à de faibles niveaux, est capable d'augmenter considérablement le potentiel immunostimulant des LPS (319,320). Ce mécanisme d'amplification biologique de la toxicité des LPS permet notamment à l'hôte de détecter des quantités infimes de LPS, signal d'une invasion bactérienne, afin d'activer en conséquence son système immunitaire et d'initier une réponse appropriée. Ce mécanisme est basé sur la capacité de la LBP à transférer les molécules de LPS vers le co-récepteur CD14 des cellules immunitaires, décrit ci-dessous (321,322).

À noter par ailleurs que la LBP serait capable de se lier à des composés bactériens autres que le LPS (318,323).

Cluster of Differentiation 14

CD14 est une protéine agissant tel un co-récepteur (avec TLR4, décrit ci-dessous) dans la détection et la transmission du signal en réponse aux LPS. Son rôle crucial dans la signalisation du LPS a été mis en évidence à partir d'un modèle expérimental de souris *knock-out* pour le gène CD14 (*c.-à-d.*, dont le gène CD14 a été totalement invalidé) qui se sont montrées résistantes au choc septique induit par l'injection de LPS ou de bactéries vivantes (324). Par ailleurs, CD14 a une large spécificité de ligand, reconnaissant les motifs structuraux de plusieurs composés microbiens (325).

CD14 existe sous 2 formes distinctes mais complémentaires : la forme membranaire (mCD14) et la forme soluble (sCD14). Le mCD14 est une glycoprotéine ancrée à la surface membranaire des cellules immunitaires de la lignée myéloïde (notamment macrophages et monocytes), généralement exprimée et synthétisée pour faire face à la présence éventuelle de LPS circulants. Son homologue soluble sCD14 serait quant à lui produit en réponse à un afflux important de LPS, soit par clivage de la forme membranaire soit directement sécrété par certaines cellules notamment endothéliales, dans le but d'activer les cellules dépourvues de mCD14 (326–328). D'un point de vue métabolique, les deux formes de CD14 sont capables de se lier au complexe LPS-LBP, permettant par la suite le transfert des LPS au complexe TLR4-MD2 et l'initiation de la réponse inflammatoire.

Toll-Like Receptor 4

Le mécanisme exact impliqué après liaison du complexe LPS-LBP à CD14 est resté insaisissable pendant des années ; l'identification du récepteur aux LPS fut l'une des découvertes les plus importantes dans le domaine des endotoxines et de l'activation du système immunitaire inné depuis les années 1990, et a notamment été récompensée par l'attribution du « prix Nobel de physiologie ou de médecine 2011 » à ses auteurs, Bruce Beutler et Jules Hoffmann. Il s'agit du récepteur TLR4 (*Toll-Like Receptor 4*) appartenant à la famille des récepteurs PRRs de l'immunité innée. Suite à la reconnaissance du lipide A (ou du complexe lipide A-CD14), et en association avec MD2, le récepteur TLR4 va adopter un changement de conformation entraînant son activation : il s'agit de l'étape initiatrice de la cascade de signalisation intracellulaire conduisant à la production et à la sécrétion dans la circulation sanguine de médiateurs inflammatoires.

Mesure des biomarqueurs de l'endotoxémie

En pratique, la mesure de l'endotoxémie s'effectue majoritairement *via* le dosage des endotoxines par test LAL (*Limulus Amebocyte Lysate*). Dans cette thèse, excepté lorsque spécifié, les études rapportant des mesures de l'endotoxémie font référence à ce test. Cette méthode de dosage utilise un extrait LAL dont la propriété est de coaguler en présence d'endotoxines bactériennes. Le degré d'activation de la cascade de coagulation étant lié à l'activité des endotoxines, le test LAL permet ainsi de mesurer la fraction biologiquement active des LPS. L'endotoxémie est ainsi exprimée en unités d'endotoxines/mL (EU/mL), avec une équivalence de 1 EU/mL pour approximativement 100 pg/mL de LPS, qui diffère selon la nature du LPS. Malgré son utilisation largement répandue, le test LAL présente des inconvénients inhérents à la préparation saisonnière et à la contamination par le 1-3 β -D glucane conduisant respectivement à une diminution de la sensibilité et de la spécificité (329). Par ailleurs, différents facteurs plasmatiques (*ex.* sels biliaires, lipoprotéines) peuvent interférer avec les LPS à l'origine de faux positifs/faux négatifs ou d'une non-détectabilité avec le test LAL ; les fournisseurs eux-mêmes avertissent sur le fait que l'utilisation du test LAL peut être limité sur des échantillons sanguins (329,330).

Sans prétendre à l'exhaustivité des méthodes de dosage des LPS, d'autres techniques existent par ailleurs comme la méthode LC-MS/MS (*Liquid Chromatography coupled to tandem Mass Spectrometry*), notamment utilisée dans ces travaux de thèse, permettant la quantification directe des acides-gras 3-hydroxylés estérifiés du lipide A des LPS circulants (331,332). Cette méthode, moins contraignante en termes d'interférence et présentant des seuils de détection plus faibles, permet la quantification totale (formes active et inactive) des LPS circulants généralement exprimée en pmol/mL. Toutefois cette méthode ne permet pas d'estimer le potentiel immunostimulant des endotoxines. L'intérêt de la méthode LC-MS/MS provient du fait que la concentration plasmatique en acides gras 3-hydroxylés des LPS reste stable au cours du temps, alors que la réactivité du test LAL décroît rapidement après un afflux d'endotoxines

(331), suggérant que le dosage des LPS par la méthode LC-MS/MS représenterait un indicateur à plus long terme de la charge plasmatique en LPS.

Les concentrations circulantes de LBP et de sCD14, impliqués dans la cascade de signalisation des LPS, ont toutes deux été proposées comme des biomarqueurs cliniquement pertinents de l'exposition cellulaire effective aux endotoxines (333–335). Le ratio LBP:sCD14 a également été rapporté comme particulièrement pro-inflammatoire lorsqu'il combine des niveaux élevés de LBP et des niveaux faibles de sCD14 (336). La méthode de dosage standard de la LBP et du sCD14, exprimés généralement en µg/mL, est le test ELISA (*Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay*, *Hycult Biotechnology*).

Réponse immunitaire aux endotoxines

Bien que l'évolution de la réponse immunitaire engendrée par les endotoxines soit difficilement estimable à l'échelle individuelle, des études menées sur des volontaires sains ont permis d'établir que suite à une exposition aux endotoxines (*c.-à-d.*, injection systémique unique de 0,2 à 4 ng/kg de LPS) (337) :

- (i) les taux de médiateurs pro-inflammatoires (généralement IL-6, TNFα, IL-1β ou encore IL-18), culminent principalement dans les 1,5 à 4,5 heures suivant l'exposition aux endotoxines (dont l'ampleur de la variation et la cinétique varient selon les médiateurs) et diminuent progressivement 6 à 12 heures après l'exposition,
- (ii) le pic de sécrétion de cytokines anti-inflammatoires (*ex.* IL-10, IL-1Ra ou encore IL-4) s'initie dans les 2 heures après l'afflux d'endotoxines, restant modérément élevée pendant plus de 6 heures,
- (iii) les symptômes du *sickness behavior* apparaissent généralement dans l'heure qui suit avec une intensité plus marquée dans les 2 à 6 heures.

La réponse semblerait d'autant plus élevée que la dose de LPS est importante.

Au-delà de la production de cytokines pro-inflammatoires (*ex.* IL-6, TNFα, IL-1β, IL-18), d'autres molécules telles que les chimiokines (CXCL8, CCL2 and CCL5), les protéines du complément (C3, récepteurs C3a et C5a), les thromboxanes, les prostaglandines, l'oxyde nitrique synthase ou les catécholamines peuvent être sécrétées en réponse aux endotoxines, agissant comme des mécanismes alternatifs dans la signalisation d'une présence bactérienne à l'organisme (142).

A noter cependant que l'étendue et l'évolution de la réaction immunitaire en réponse aux endotoxines est dépendante de nombreux facteurs incluant la sévérité de l'agression en termes de quantité d'endotoxines, de qualité (*c.-à-d.*, caractère plus ou moins virulent des endotoxines (338,339)), de durée d'exposition, mais aussi de l'aptitude de l'hôte à faire face à l'agression

notamment influencée par la capacité immunitaire, la prédisposition génétique ou encore la présence de comorbidité.

De plus, certains mécanismes de régulation ont été identifiés. Alors que de faibles concentrations de LBP exacerbent la bioactivité des LPS, une augmentation aiguë et de forte amplitude des concentrations de LBP (*ex.* dans le cas de septicémie sévère ou de choc septique) favoriserait le transfert du LPS vers des voies de détoxification par les HDL ou LDL, limitant ainsi l'activité des LPS (340–342). La prise en charge des LPS par la forme soluble du CD14 inhiberait également l'activité des LPS par la voie de détoxification par les HDL (342). Cette neutralisation résulterait de la liaison des lipoprotéines à leurs récepteurs dans le foie, induisant la clairance du LPS avec sécrétion de bile (343,344).

La *Phospholipid Transfer Protein* (PLTP) et la protéine *Bactericidal Permeability-Increasing* (BPI) figurent également parmi les protéines capables de neutraliser les LPS circulants (345,346).

1.2.5. Un large spectre de pathologies associées

Du fait de leur capacité à traverser les barrières physiologiques de l'organisme, les endotoxines sont naturellement retrouvées en faible quantité dans la circulation sanguine de tous les êtres humains. Ces endotoxines (et plus précisément la fraction biologiquement active de ces endotoxines, mesurée par LAL) varient à des niveaux de l'ordre de 10 ± 20 pg/mL dans les conditions physiologiques (19) ; une exposition de très bas grade, tolérée, contrôlée et ayant des propriétés immunostimulantes pour l'organisme. Toutefois, l'élévation de l'endotoxémie est fréquemment associée à un large spectre de pathologies, et émerge en tant que facteur préjudiciable dans le concept de vieillissement en bonne santé (347).

Toutefois, il n'existe actuellement aucun consensus sur l'établissement d'un seuil d'endotoxémie considéré comme potentiellement pathologique. Étant donné la difficulté de hiérarchiser les pathologies associées aux endotoxines, puisque dépendantes de nombreux facteurs tels que la gravité de l'exposition ou encore l'origine des endotoxines, ce sous-chapitre abordera les relations entre l'endotoxémie et les pathologies associées selon 2 axes différenciant l'endotoxémie liée à une infection grave, avec l'exemple du sepsis, de l'endotoxémie sub-clinique qualifiée de métabolique.

Endotoxémie liée à une infection grave

Les bactéries Gram négatif, porteuses d'endotoxines, représentent l'une des causes majeures de maladies infectieuses chez l'Homme incluant les gastro-entérites d'origine bactérienne (*Escherichia coli*, *Shigella*, *Salmonella*, *Vibrio cholera*), les infections pulmonaires (*Klebsiella pneumoniae*, *Legionella*, *Coqueluche*, *Pseudomonas aeruginosa*), les infections des voies urinaires (*Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Enterobacter cloacae*, *Serratia marcescens*,

Bacteroidetes), les ulcères gastroduodénaux (*Helicobacter pylori*), les infections sexuellement transmissibles (*Neisseria gonorrhoeae*), la méningite (*Neisseria meningitidis*) ou encore les maladies parodontales (*Porphyromonas gingivalis*) ; autant de sources d'endotoxines pouvant diffuser à travers la circulation sanguine et favoriser l'initiation ou le maintien d'un état inflammatoire de bas grade.

Lorsque non pris en charge, ces foyers infectieux initiaux, localisés, peuvent essaimer et se généraliser à l'ensemble de l'organisme ; cette réponse inflammatoire généralisée étant qualifiée de sepsis ou septicémie. S'en suit une véritable « tempête cytokinique » au sein de l'organisme pouvant mener à l'apparition de lésions cellulaires, tissulaires, de défaillances multi-organes et dans les cas les plus graves, conduire au décès. La mortalité attribuée au sepsis serait de 27%, atteignant les 50% dans la forme la plus grave (*c.-à-d.*, le choc septique). Chez les patients présentant une forme sévère de sepsis, des niveaux d'endotoxines considérablement élevés ont été rapportés de l'ordre de 581 pg/mL ($\pm$ 49 pg/mL) en moyenne ; ces niveaux étant inversement proportionnels à la durée de survie des patients (348). Les personnes fragiles, et en particulier les personnes immunodéprimées, sont tout particulièrement exposées au risque de sepsis. Chez la personne âgée, la prévalence du sepsis est élevée (1220 cas de sepsis pour 100 000 habitants chez les plus de 65 ans comparativement à 95 cas pour 100 000 habitants chez les moins de 65 ans) et le pronostic généralement plus sévère compte-tenu de la baisse des capacités immunitaires et du caractère pauci-symptomatique de l'état septique, masqué par les comorbidités et la polymédication.

Endotoxémie sub-clinique

En l'absence de toute source infectieuse évidente, l'élévation de l'endotoxémie à des niveaux sub-cliniques qualifiée d'endotoxémie métabolique (*c.-à-d.*, niveaux 10 à 50 fois inférieurs à ceux observés dans les cas de sepsis (349,350)), serait étroitement liée à l'alimentation, notamment de type obésogène, et aux complications qui peuvent lui être attribuées (*ex.* obésité, diabète de type 2 ou syndrome métabolique). Parmi la multitude de pathologies associées, ce sous-chapitre se focalisera plus précisément sur les pathologies associées à une altération du statut nutritionnel, qui représentent la majorité de la littérature scientifique. L'influence de l'alimentation en tant que facteur clé dans l'exposition aux endotoxines sera détaillée dans le chapitre 1.3.

L'obésité, le diabète de type 2 ou encore le syndrome métabolique sont tous trois des maladies cardiométaboliques complexes dont l'expansion au cours de ces dernières décennies tend à prendre des proportions épidémiques. Par ailleurs, ces conditions apparaissent parmi les principales causes de morbidités et de mortalité dans le monde. D'après l'OMS (Organisation Mondiale de la Santé), plus d'un tiers de la population mondiale adulte serait en surpoids (*c.-à-d.*, IMC > 25 kg/m²) et 11% en obésité (*c.-à-d.*, IMC > 30 kg/m²) ; un chiffre qui a presque triplé depuis 1975 (351). La prévalence du diabète serait quant à elle estimée à plus de 5% de la population mondiale dont la majorité ($\approx$ 90%) des cas de diabète sont de type 2 ; un chiffre qui est toutefois largement sous-estimé puisqu'il ne tient pas compte des personnes non-

diagnostiquées ou non-traitées (352). Le syndrome métabolique, désignant la coexistence de plusieurs troubles d'origine lipidique, glucidique ou vasculaire associés à une surcharge pondérale, affecterait 20 à 25% de la population mondiale, avec des taux qui diffèrent selon les pays, le sexe et qui augmente avec l'âge (353,354).

Étroitement liés à un état inflammatoire chronique de bas grade, de plus en plus d'études suggèrent que l'endotoxémie métabolique apparaîtrait comme un déterminant majeur dans la pathogenèse inflammatoire de ces maladies, exacerbant la progression et les risques de complications associés (329,347,349,355–361). A noter que ces maladies sont fréquemment associées à une alimentation déséquilibrée, une dysbiose intestinale ou encore une perméabilité accrue de la barrière intestinale ; autant de mécanismes qui pourraient sous-tendre ces relations (347,356).

Par ailleurs, une étude menée auprès de 192 individus âgés de 40 à 59 ans a rapporté que l'activité biologique des LPS serait positivement associée à de nombreux facteurs de risques cardio-vasculaires tels que le rapport taille/hanche, le taux de cholestérol total, la triglycémie et serait négativement corrélée avec les taux de HDL (362). Une étude cas-cohorte a notamment rapporté qu'un ratio LPS/HDL élevé était associé à un risque presque doublé de survenue d'événements cardio-vasculaires, incluant notamment les AVC ou les infarctus du myocarde, indépendamment de nombreux facteurs de risques cardio-vasculaires (363).

D'autre part, dans un modèle expérimental d'endotoxémie menés chez des volontaires sains, l'injection de faibles doses de LPS entre 0,2 et 2 ng/kg a entraîné une altération dans le métabolisme et l'homéostasie du glucose, une insulino-résistance, une inflammation du tissu adipeux ; des caractéristiques typiques observées dans les états à risque de maladies cardiovasculaires (364,365), suggérant l'implication des endotoxines dans la pathogenèse de complications cardiovasculaires.

Les maladies cardio-vasculaires demeurent aujourd'hui la principale cause de décès à travers le monde, représentant environ 31,5% des décès toutes causes confondues et jusqu'à 45% des décès inhérents aux maladies non-transmissibles (366). Plusieurs études prospectives ont rapporté un lien entre l'activité biologique des endotoxines et l'incidence de maladies cardio-vasculaires. Plus spécifiquement, une étude menée chez plus de 500 sujets âgés de 50 à 79 ans a rapporté qu'une endotoxémie élevée (*c.-à-d.*, correspondant au 90^{ème} percentile de distribution, soit 50 pg/mL) était associée à un risque multiplié par 3 de développer une maladie cardio-vasculaire ou une athérosclérose dans les 5 ans de suivi, indépendamment de facteurs de risque vasculaires et notamment de l'IMC ; un risque qui apparaissait exacerbé chez les individus sujets aux infections chroniques ainsi que chez les fumeurs (367). D'autre part, une étude menée sur près de 2300 adultes sans antécédents cardio-vasculaires et suivis pendant 10 ans a rapporté un risque doublé de maladie coronarienne chez les individus dont les taux de LPS se situaient dans les quartiles supérieurs de distribution comparativement au quartile inférieur, indépendamment de facteurs de risque cardiométaboliques (*ex.* obésité, syndrome métabolique, diabète, hypertension ou encore cholestérol) et de l'apport calorique (368).

Par ailleurs, une élévation de l'endotoxémie a été rapportée dans diverses autres pathologies incluant notamment la néphropathie diabétique, la stéatose hépatique non-alcoolique, les maladies inflammatoires de l'intestin, certains cancers, l'autisme, la dépression, la schizophrénie ou encore les maladies neurodégénératives (347).

Bien que les mécanismes sous-jacents liant l'endotoxémie à un si large panel de pathologies restent peu élucidés, des études interventionnelles rapportent que l'injection de LPS est capable d'induire une importante hétérogénéité de modifications dans les paramètres physiologiques et la survenue de dysfonctionnements multi-organes, dont les manifestations les plus fréquemment observées ont été présentées dans la Figure 10. Ainsi, les effets pro-inflammatoires ubiquitaires des endotoxines les rendent théoriquement capables d'affecter l'ensemble de l'organisme, y compris le SNC.

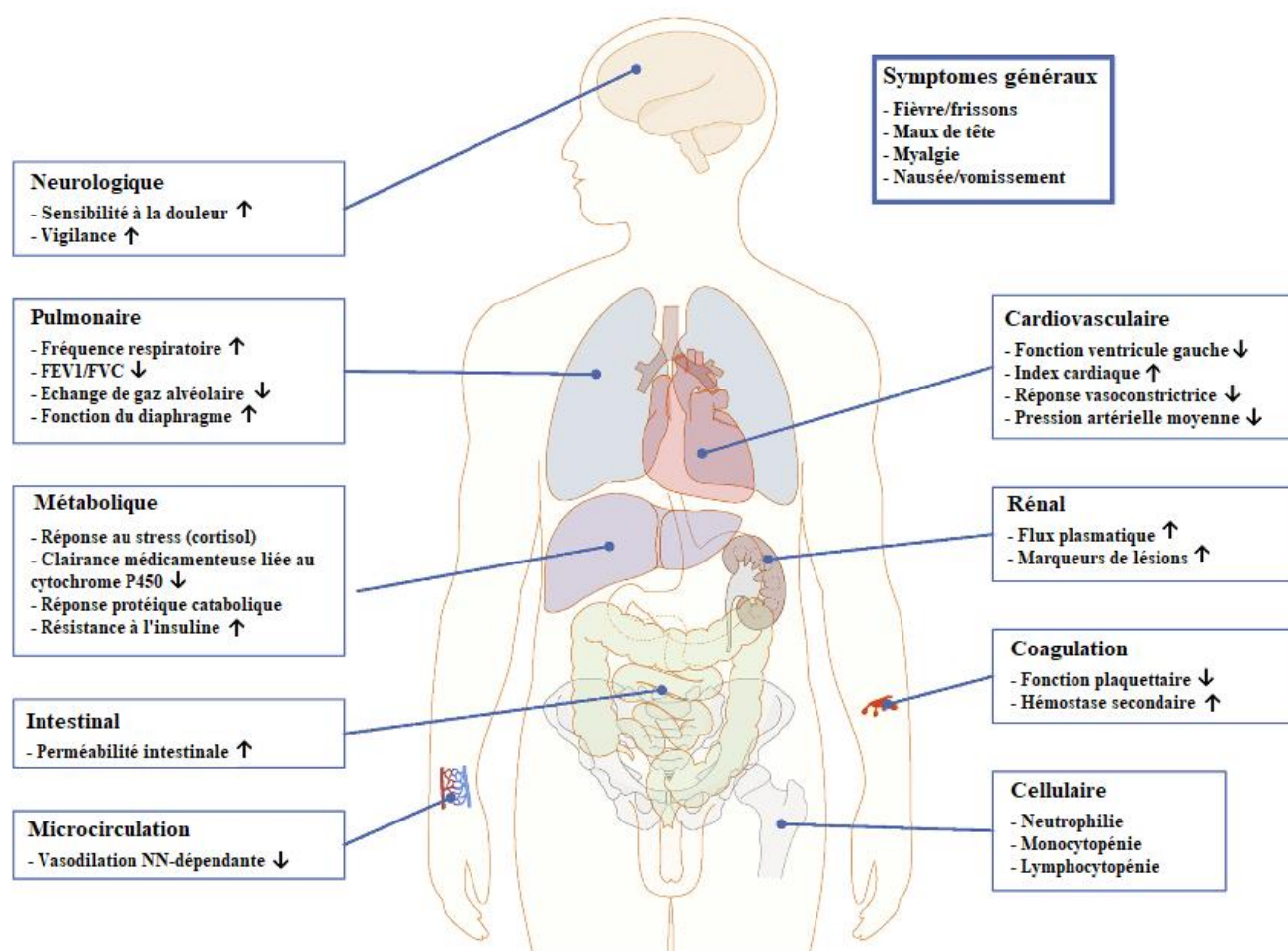


Figure 10. Vue d'ensemble des effets spécifiques aux organes résultant de l'injection intraveineuse de LPS de l'ordre de 2-4 ng/kg chez l'Homme.

Image tirée et adaptée de Dirk van Lier et coll. (369).

Abréviations : FEV1 Volume respiratoire renforcé en 1s ; FVC Capacité vitale forcée

1.2.6. Rôle dans les troubles cognitifs et la démence

1.2.7.1. Contribution des modèles d'inoculation d'endotoxines dans la compréhension de la pathologie de la démence

1.2.7.1.1. Modèles expérimentaux chez l'animal

Les endotoxines sont-elles capables d'initier ou de contribuer à la neurodégénérescence et autres caractéristiques typiques des maladies neurodégénératives ? Alors que des raisons éthiques interdisent de tester directement cette hypothèse au niveau du SNC chez l'Homme, cette hypothèse a pu être testée chez l'animal (370).

Comme le rapportent plusieurs revues, l'injection de LPS directement au niveau du cerveau de rongeurs est capable d'induire une perte neuronale (371,372). En outre, plusieurs mécanismes liant les endotoxines à la neurodégénérescence ont été identifiés (19,371) parmi lesquels on peut citer :

- (i) leur capacité à promouvoir la production d'amyloïde- β et de protéine Tau,
- (ii) *via* l'interaction avec le récepteur TLR4, les endotoxines sont capables d'activer la microglie - et de la rendre plus sensible à l'exposition d'agents pathogènes ultérieurs - induisant la production de cytokines pro-inflammatoires ou d'oxyde nitrique au niveau central,
- (iii) leur contribution à la dysfonction mitochondriale des neurones ou encore
- (iv) leur capacité d'altérer l'intégrité de la BHE favorisant le passage de molécules toxiques de la circulation périphérique vers le SNC.

Spécifiquement, suite à l'injection intra-hippocampique unique de LPS chez des rats (10 μ g dans 4 μ L de solution), une pathologie axonale amyloïdogène ainsi qu'une dégénérescence dendritique ont été observées 30 jours post-injection (373). Utilisant le même procédé (intra-hippocampique unique de 10 μ g de LPS dans 4 μ L de solution), d'autres auteurs ont rapporté une altération de l'apprentissage spatial et des capacités de mémorisation chez des rats traités au LPS par rapport à des rats contrôles (374). Suivant une injection chronique de LPS pendant 4 semaines chez de jeunes rats (0,25 μ g/h), une activation de la microglie et des astrocytes a été observée, associée à une dégénérescence des neurones pyramidaux hippocampiques et une altération de la mémoire spatiale (375). Sur une exposition plus courte de 5 jours, une activation soutenue de la microglie a également été rapportée, concomitante à une exacerbation de la production d'IL-1 β et de TNF α ainsi qu'à l'apparition de déficits d'apprentissage et de mémoire chez le rat (376).

Par ailleurs, l'exposition aux endotoxines dans un modèle animal de type Alzheimer contribuerait à favoriser le développement des signes neuropathologiques caractéristiques de la

maladie, comme le suggèrent les études décrites ci-dessous. L'un des enjeux majeurs de ce domaine de recherche réside dans le choix du modèle animal le plus approprié pour explorer les phénomènes d'inflammation dans la maladie d'Alzheimer. A ce jour, la plupart des modèles animaux de type maladie d'Alzheimer ont été développés autour de l'hypothèse de la cascade amyloïde.

Chez un modèle de souris transgéniques APPV717F dont la caractéristique est de présenter un dépôt exacerbé d'amyloïde- β *via* une surexpression de l'APP humaine, l'injection chronique intracérébroventriculaire de LPS pendant 2 semaines a induit une astrocytose réactive ainsi qu'une accélération marquée du dépôt amyloïde chez ces souris, comparé à des animaux ayant reçu une injection de type placebo (377). Dans un modèle de souris Tg2576, surexprimant une forme mutante d'APP, des taux d'A β 1-40/42 jusqu'à 3 fois plus élevés, et d'APP jusqu'à 1,8 fois plus élevés, étaient rapportés chez les souris traitées au LPS (10 μ l/g de poids corporel) comparativement à un même modèle de souris contrôle (378).

Lors d'injection intrapéritonéale (*c.-à-d.*, en périphérie, à l'intérieur du péritoine, membrane recouvrant la cavité abdomino-pelvienne) de LPS (0.1 mg/ml), une hyperphosphorylation de la protéine Tau (379), une activation soutenue de la microglie pouvant persister jusqu'à plusieurs mois (380,381) ainsi qu'une neuro-inflammation (notamment caractérisée par l'augmentation des niveaux d'IL-1 β , de TNF α , d'IL-6) ont été rapportés au niveau central (382–384).

Par ailleurs, une exacerbation de la réponse cytokinique au niveau cérébral était observée chez les souris âgées mais pas chez les souris jeunes suite à l'injection périphérique de LPS (25 μ g), confortant l'hypothèse d'une vulnérabilité accentuée liée à l'âge (385); une hypothèse corroborée par d'autres auteurs (386) qui ont suggéré que le vieillissement crée un environnement cérébral favorisant l'occurrence de complications cognitives suite à l'exposition aux endotoxines.

Dans l'ensemble ces résultats suggèrent que la manipulation des endotoxines, au niveau du SNC ou en périphérie, est capable d'entraîner une altération substantielle des processus pathologiques, favorisant l'apparition de caractéristiques typiques de la maladie d'Alzheimer chez l'animal. Toutefois, bien que les modèles animaux d'endotoxémie expérimentale présentent des avantages par rapport aux modèles humains en termes de coût, de faisabilité et de manipulation génétique, des différences physiologiques entre espèces limitent l'applicabilité des études animales à l'Homme. En outre, de tous les animaux étudiés, l'Homme est le plus sensible à l'exposition des endotoxines; les rongeurs tolérant des doses systémiques de LPS plusieurs centaines de fois plus importantes (387).

1.2.7.1.2. Inoculation systémique d'endotoxines chez l'Homme

Une question majeure a été de savoir, chez l'Homme, si une très faible dose supplémentaire d'endotoxines (c.-à-d., par rapport aux niveaux initiaux observés dans les conditions physiologiques chez des individus sains) pourrait entraîner des effets significatifs dans l'organisme, y compris au niveau cérébral.

Alors que le microbiote intestinal contient près d'1 g d'endotoxines (388), il a été démontré que l'injection de doses de l'ordre de 10 pg/mL était suffisante pour activer le système immunitaire et provoquer une réponse inflammatoire soutenue (369,389).

Globalement, l'injection systémique de faibles doses de LPS à de jeunes volontaires sains s'accompagne dans les heures qui suivent d'une augmentation des taux plasmatiques de médiateurs inflammatoires et en particulier d'IL-6 et de TNF α , d'une activation de la microglie ainsi que de modifications comportementales caractéristiques du *sickness behavior*, soulignant la mise en place d'une réponse périphérique mais aussi centrale face à l'exposition aiguë d'endotoxines. Toutefois, la mesure dans laquelle les fonctions cognitives pourraient être impactées suite à une exposition aiguë de LPS est peu concordante entre les études, décrites ci-dessous selon un ordre croissant de dose de LPS injectée.

Suite à l'injection de très faibles doses de LPS (0,2 ng/kg, équivalent approximativement à 3 pg/mL distribué au sein de l'organisme), et indépendamment de la présence avérée de symptômes du *sickness behavior*, les niveaux de TNF α et d'IL-6 étaient augmentés respectivement de 2 et 7 fois par rapport à leurs taux initiaux chez 12 hommes volontaires sains (390). Une corrélation négative a été rapportée entre les niveaux accrus d'IL-6 et la mémoire déclarative dans les 4,5 à 6h suivant l'injection (390). Les performances de mémoire de travail, de fonctions exécutives ou d'attention n'étaient cependant pas affectées.

Suivant l'injection de dose légèrement plus élevées de 0,4 ng/kg de LPS à 12 hommes volontaires sains, Grigoleit et collaborateurs (391) ont mis en évidence une réponse physiologique transitoire profonde de l'organisme, marquée par l'augmentation de la température corporelle (en moyenne 37,4°C *versus* 36,7°C pour les personnes contrôles, 4h post-injection) et l'augmentation soutenue des taux plasmatiques d'IL-6, de TNF α et d'IL-10, de noradrénaline et de cortisol. Toutefois, ces modifications des paramètres immunitaires et neuroendocriniens n'étaient pas associées à l'altération de l'attention, des capacités de mémoire (verbale, visuelle) ou des fonctions exécutives. Dans une étude de type *cross-over* réalisée en double insu, ces auteurs ont même observé une amélioration du temps de réaction à des doses plus élevées (0,8 ng/kg), qui n'était pas observée avec la dose de 0.4 ng/kg. L'injection de dose élevée était notamment accompagnée d'une baisse de l'humeur et d'une augmentation des niveaux d'anxiété qui n'étaient pas rapportées avec la dose plus faible, suggérant un effet dose-dépendant des endotoxines sur les fonctions neurocomportementales (392).

Dans une autre étude de type *cross-over* menée chez 20 volontaires sains, une altération significative des capacités de mémoires verbale et non-verbale était rapportée, persistante jusqu'à 10h après l'injection de 0.8 ng/kg de LPS, même en l'absence de symptômes avérés du

sickness behavior (393). Suivant l'injection d'une dose similaire de LPS, une diminution des performances de mémoire déclarative ainsi qu'une amélioration de la mémoire de travail ont été rapportées, concomitantes à une réponse exacerbée au stress cholinergique périphérique, comparativement à une injection saline (394). L'attention et les fonctions exécutives n'étaient cependant pas cliniquement affectées par l'injection.

L'injection systémique de 1ng/kg (équivalent approximativement à 15pg/mL distribué au sein de l'organisme) à des volontaires sains a résulté en l'augmentation des concentrations sanguines de cytokines pro-inflammatoires (IL-6, IL-8 et TNF α) dans les 2 à 3 heures suivant l'injection, accompagnée de phénomènes du *sickness behavior* (notamment de fatigue, de maux de tête, de douleurs musculaires et de frissons) (395). Fait intéressant, dans cette même étude, une activation microgliale robuste a été observée 3h après injection, variant de + 31% à + 63% par rapport à la référence anatomique selon les régions cérébrales (incluant notamment le thalamus, l'amygdale, l'hippocampe, les régions fronto-temporales, occipitales et pariétales), soulignant qu'une élévation relativement faible de l'endotoxémie (*c.-à-d.*, à des niveaux inférieurs à ceux observés chez des patients atteints de maladie d'Alzheimer, de l'ordre de 60pg/mL (396)) est capable de causer une importante réponse systémique mais surtout centrale, diffuse à travers de nombreuses régions cérébrales (Figure 11).

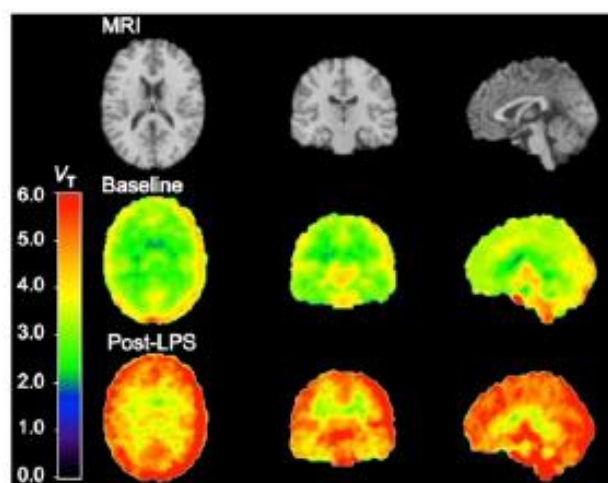


Figure 11. L'administration de LPS augmente significativement l'activation microgliale, mesurée par IRM PET-[11C]PBR28, par rapport à la référence anatomique (rangée du haut).

Image tirée et adaptée de Sandiego C et coll. (395)

L'exposition à une dose plus élevée de LPS (2 ng/kg) n'a cependant pas induit de changement cliniquement pertinent sur les performances cognitives incluant la mémoire de travail, la vitesse de lecture, la capacité de traitement de l'information et les capacités psychomotrices, jusqu'à 10h post-injection (397). Une amélioration de l'attention, a cependant été mise en évidence chez les sujets ayant reçu le LPS, accompagnée d'une augmentation doublée de cortisol et de

symptômes caractéristiques du *sickness behavior* (ex. augmentation de la température de 1,4 °C et du pouls de +27 bpm, en moyenne), suggérant un état d'alerte exacerbé.

Dans l'ensemble, ces résultats appuient le fait qu'une exposition systémique unique aux LPS, même à de très faibles doses, est capable d'induire une activation du système immunitaire et une réponse inflammatoire contrôlée transitoire systémique et centrale chez l'Homme. Du fait de la nature fluctuante et d'une large hétérogénéité dans les valeurs physiologiques de niveaux d'endotoxines chez des sujets sains (pour rappel, 10 ± 20 pg/mL), le spectre de l'endotoxémie inclurait donc des niveaux suffisants pour activer chroniquement le système immunitaire. Toutefois, on ignore encore dans quelle mesure les fonctions cognitives pourraient être affectées lors d'une activation immunitaire transitoire, induite par l'injection unique de LPS.

Il convient également de noter que ces études d'interventions sont généralement réalisées chez de jeunes volontaires sains, en raison des restrictions imposées par la *Food and Drug Administration* quant à l'utilisation des endotoxines dans la recherche humaine. Également, l'injection de LPS ne mime probablement pas fidèlement la réponse physiologique complexe qui peut être observée lors d'une infection ou d'une endotoxémie métabolique faisant suite à l'ingestion alimentaire (décrite dans le chapitre 1.3), que ce soit en termes de dose, de durée d'exposition (c.-à-d., aiguë, par intermittence ou chronique), de voie d'administration, de type d'endotoxine (les LPS purifiés de la bactérie *Escherichia Coli* généralement utilisés pour les injections étant particulièrement pro-inflammatoires comparativement à d'autres souches bactériennes) ou encore de potentiels mécanismes compensatoires et de tolérance sur le long terme. De plus, le délai réduit entre l'injection et la mesure des performances cognitives ne permet pas d'évaluer l'effet sur le long terme.

Par opposition à ces études interventionnelles dont l'objectif est d'améliorer la compréhension de la cinétique et des mécanismes sous-jacents liés à l'exposition aux endotoxines, les études observationnelles à visée analytique permettent de mettre en exergue les relations entre endotoxémie et troubles cognitifs/syndrome démentiel qui peuvent exister à l'échelle populationnelle.

1.2.7.2. Expositions vie-entière aux endotoxines, troubles cognitifs et syndrome démentiel : études observationnelles

Troubles cognitifs

Concernant les associations entre endotoxémie et troubles cognitifs, la majorité des études se sont portées sur des patients atteints de VIH (Virus de l'Immunodéficience Humaine), dont l'une des caractéristiques est de présenter un état immunodéprimé. Chez 179 patients infectés par le VIH, les taux médians de LPS à jeun étaient significativement plus élevés parmi ceux présentant des troubles cognitifs comparativement aux patients sans troubles neurocognitifs (116,1 pg/mL versus 98,2 pg/mL), sans toutefois être associés à la sévérité des atteintes

cognitives (398). Une seconde étude a rapporté que les taux de LPS ne variaient pas selon le score de cognition global (*c.-à-d.*, batterie de tests neuropsychologiques évaluant plusieurs domaines cognitifs incluant la motricité, la vitesse de traitement de l'information, l'attention, l'apprentissage, la mémoire, la fluence verbale et les fonctions exécutives) chez 97 patients infectés par le VIH (399). Toutefois, une corrélation négative a été mise en évidence entre les taux de sCD14 et le score de cognition globale dans cette étude. Plus récemment, Jespersen et collaborateurs (400) n'ont rapporté aucune association entre les taux systémiques de LPS et des marqueurs de dommages axonaux au niveau du SNC chez 62 adultes infectés par le VIH sans preuve de fonction cognitive altérée. Dans cette étude, le LPS n'était pas détectable dans le liquide céphalo-rachidien (LCR), cependant, une corrélation positive a été rapportée au niveau du LCR entre les taux de sCD14 et les marqueurs d'inflammation et de dommages axonaux, indépendamment de l'âge des patients ou du nombre de cellules CD4, reflet de la sévérité de l'atteinte VIH. Dans ce sens, de nombreuses autres études ont rapporté une association entre les taux circulants de sCD14 et la prévalence de troubles cognitifs (401–404). Moins souvent étudiés, mais qui semblent pourtant tout aussi pertinents, les taux circulants de LBP étaient associés à l'altération de l'intégrité de la substance blanche du SNC et à une plus faible performance de la mémoire de travail et de la mémoire verbale chez 24 sujets obèses et non-obèses âgés d'une cinquantaine d'années (314).

Syndrome démentiel

Alors que les taux moyens d'activité biologique des LPS se situaient autour de 21 ± 6 pg/mL chez des participants en bonne santé cognitive, des taux près de 3 fois plus élevés ont été rapportés chez 18 patients atteints de maladie d'Alzheimer (*c.-à-d.*, 61 ± 42 pg/mL) (396). Des taux de LPS, ainsi que de sCD14, significativement plus élevés ont également été rapportés chez des patients présentant une démence liée au VIH indépendamment de la charge virale et du taux de CD4 comparé à des patients sans troubles cognitifs (405). Toutefois, dans une récente étude, les taux de LBP ne semblaient cependant pas différer entre des personnes âgées en moyenne de 76 ans souffrant de maladie d'Alzheimer ($n= 115$), de troubles cognitifs légers ($n= 115$) ou ne présentant aucun déficit cognitif ($n= 115$) (406).

Fait intéressant, alors que le passage des endotoxines à travers la BHE est limité par leur haut poids moléculaire, les présences de LPS et de la séquence ADN d'*Escherichia coli* ont été rapportées de manière *post-mortem* dans le cerveau de patients atteints de maladie d'Alzheimer mais aussi chez certains sujets contrôles, sans déficits cognitifs cliniques (407). Plus spécifiquement, l'étude immunocytochimique a révélé que les LPS et cette séquence ADN bactérienne étaient détectés dans la quasi-totalité - et en quantité supérieure - des patients présentant une maladie d'Alzheimer par rapport aux personnes contrôles. Les LPS colocaliseraient notamment avec A β 1-40/42 au niveau des plaques amyloïdes et des vaisseaux sanguins chez les patients atteints de maladie d'Alzheimer (407). Une autre étude a rapporté une abondance moyenne de LPS 3 fois plus élevée dans l'hippocampe ($n= 4$ cas de maladie d'Alzheimer et 2 témoins), une région anatomique généralement précocement et profondément altérée dans la maladie d'Alzheimer, et 2 fois plus élevée dans le néocortex de cerveaux de

patients atteints de maladie d'Alzheimer (n= 6) par rapport à des cerveaux de sujets témoins de même âge (n= 6) (408). A noter que chez certains patients à un stade avancé de la maladie (critères non définis dans l'étude), le lysat hippocampique présentait des taux de LPS jusqu'à 26 fois plus élevé.

Bien que basé sur une faible littérature, l'ensemble des résultats des études interventionnelles et observationnelles suggèrent que non seulement l'activation immunitaire transitoire induite par les LPS mais également des niveaux chroniques plus élevés de LPS (provenant de différentes sources) pourraient en partie être impliqués dans la pathogenèse de la démence. Néanmoins, il est important de souligner qu'au vu du caractère transversal des études observationnelles, les données actuelles disponibles ne permettent pas de conclure sur le caractère potentiellement causal d'une éventuelle association. La nécessité d'études longitudinales apparaît ainsi cruciale pour tester cette hypothèse. Nonobstant le rôle non prouvé des endotoxines dans la pathologie d'Alzheimer, elles n'en demeurent pas moins des toxines à caractère ubiquitaire impliquées dans de nombreux processus délétères pour l'organisme. L'identification de stratégies préventives visant à limiter l'exposition vie-entière aux endotoxines pourrait ainsi s'avérer bénéfique pour la santé sur le long terme.

1.3. La nutrition : un facteur clé dans l'exposition vie-entière aux endotoxines

Théoriquement capable d'agir à la fois sur la composition du microbiote intestinal, et donc sur la richesse de celui-ci en bactéries Gram négatif porteuses de LPS, mais aussi sur l'aptitude des endotoxines à traverser la barrière intestinale pour rejoindre la circulation sanguine (comme préalablement décrit dans le chapitre 1.2.3), l'alimentation apparaît dès lors comme une stratégie prometteuse dans l'exposition vie-entière aux endotoxines.

Initialement décrite par Cani et ses collaborateurs en 2007, l'endotoxémie métabolique fait référence à l'augmentation des concentrations circulantes d'endotoxines induite par l'alimentation, notamment riche en lipides (350). Dans leurs modèles expérimentaux menés sur des rongeurs, les auteurs ont notamment démontré que les souris soumises à un régime riche en lipides pendant 4 semaines présentaient des taux plasmatiques de LPS similaires à ceux observés chez les souris soumises à une perfusion sous-cutanée de 300 µg/kg/jour de LPS pendant 4 semaines ; une augmentation de la concentration d'un facteur 2 à 3 qui apparaissait suffisante pour induire un état inflammatoire de bas grade.

Dès lors le concept d'endotoxémie métabolique a été investigué chez l'Homme : la suite de ce chapitre abordera l'état de l'art actuel de l'influence de l'alimentation sur l'endotoxémie, du macronutriment candidat jusqu'aux profils alimentaires.

1.3.1. Du macronutriment candidat

En comparant plusieurs repas isocaloriques (*c.-à-d.*, de 300kcal chacun) mais de qualité nutritionnelle différente (boisson sucrée, jus de fruit ou boisson riche en lipides saturés sous forme de crème) administrés à 42 volontaires sains, Deopurkar et collaborateurs (409) ont tenté de déterminer quel macronutriment serait le plus à même d'induire une endotoxémie métabolique chez l'Homme. Dans cette étude, les auteurs ont rapporté que seule la consommation de boisson riche en lipides saturés augmentait les taux plasmatiques médians de LPS d'environ 45%, suggérant un rôle majeur des lipides alimentaires dans l'endotoxémie métabolique, à l'instar des expérimentations menées chez le modèle animal de Cani et collaborateurs. Par ailleurs, plusieurs études ont rapporté une élévation, d'au moins 35 %, de l'endotoxémie faisant suite à l'ingestion de repas riches en lipides. Plus spécifiquement, dans une étude menée auprès de 12 volontaires sains présentant des niveaux initiaux d'endotoxines moyens de 8,2 pg/mL, l'ingestion de pain grillé accompagné de 50g de beurre a induit une augmentation de près de 50% de l'endotoxémie plusieurs heures après le repas (389). Une augmentation des taux de LPS a également été rapportée après ingestion d'un repas composé de 33% de lipides (*c.-à-d.*, 200mL de Fortimel, 23g de margarine, 9,4g de beurre, 1g d'huile d'olive, 85g de pain, 20g de jambon et 200g de banane), dont les concentrations atteignaient un pic à 1h postprandial (0,34 EU/mL comparativement à l'endotoxémie à jeun de 0,17 EU/mL)

(301). L'élévation des niveaux d'endotoxines, suffisante pour induire l'activation du système immunitaire (0,1 EU/mL correspondant approximativement à 10 pg/mL (19)), était notamment accompagnée d'une augmentation du marqueur inflammatoire IL-6 (301). De manière similaire, les auteurs ont rapporté une augmentation des taux de sCD14 dès les premières heures suivant la prise du repas et persistante jusqu'à au moins 4h postprandial. Plus récemment, Schmid et collaborateurs (410) ont mis en évidence une augmentation des niveaux de LPS persistante jusqu'à 6h postprandial suite à la consommation de repas composés à 60% de lipides majoritairement sous forme saturée, accompagnée d'une augmentation de l'insulinémie (pic entre 1 et 2h après le repas) et de la triglycémie (augmentation progressive dans les premières heures et pic 4h après le repas).

Quantité de lipides

Dans une étude comparative de différentes quantités caloriques d'un même régime riche en lipides majoritairement saturés et mono-insaturés (*c.-à-d.*, 500, 1000 ou 1500 kcal correspondant de 34 à 102g de matières grasses), Schwander et collaborateurs (411) ont observé une association positive suggérant un effet dose-réponse entre la quantité de lipides ingérés et la réponse endotoxémique résultante dans les heures suivant le repas ; un effet dose-réponse qui a par ailleurs été rapportée pour d'autres facteurs cardiométaboliques comme l'insuline, les triglycérides ou encore l'IL-6. Plus récemment, Vors et son équipe (412) ont révélé des niveaux postprandiaux plus élevés de LPS après l'ingestion de 40g de lipides par rapport à 10g de lipides, majoritairement saturés, chez des participants obèses concomitant avec l'enrichissement des chylomicrons en LPS ; une association qui n'était pas observée chez les participants de corpulence normale.

Qualité des lipides

Au-delà de la quantité, la qualité des lipides semble également jouer un rôle majeur sur la réponse endotoxémique. Dans une étude randomisée de type *cross-over* menée auprès de 20 jeunes adultes en bonne santé, Lyte et collaborateurs (413) ont démontré que les taux sériques de LPS étaient diminués de près de 50% suite à la consommation d'un repas riche en AGPI- ω 3 et augmentés de près de 60% suite à la consommation d'un repas isocalorique riche en AGS, comparé aux taux initiaux (0.365 ± 0.09 EU/mL). À contrario, l'ingestion d'un repas riche en AGPI- ω 6 n'affectait pas l'endotoxémie. Fait intéressant, les auteurs ont également observé une réponse plus soutenue (jusqu'à plus de 3h après le repas) suivant l'ingestion d'un régime riche en lipides saturés (33 à 61% des lipides sous forme saturée) par rapport à régime faible en lipides saturés (20% des lipides sous forme saturée).

Structure des lipides

La structure des lipides pourrait également être un facteur clé dans la modulation de l'endotoxémie métabolique. En effet, suite à l'ingestion d'un bolus alimentaire composé de 40g de lipides ne différant que par leur structure, émulsionnés ou non, la consommation de graisses émulsionnées a favorisé le transport précoce des endotoxines par les chylomicrons uniquement chez des hommes souffrant d'obésité comparé aux hommes normo-pondérés (414).

Supplémentation des repas riches en lipides

Alors qu'un régime riche en lipides notamment saturés est capable d'augmenter les niveaux postprandiaux d'endotoxines, des études suggèrent que l'ajout de composants alimentaires considérés comme sains, notamment riches en fibres, pourrait limiter la réponse endotoxémique. Dans cette optique, Ghanim et collaborateurs (415) ont rapporté que l'augmentation des taux de LPS à la suite d'un repas riche en lipides et glucides ($+ 47\% \pm 14\%$ par rapport aux taux initiaux (416)) pouvait être annihilée par la supplémentation de 30g de fibres, suggérant que la contenance en fibres de régimes alimentaires sains pourrait contribuer à leurs propriétés anti-inflammatoires. A noter parallèlement, qu'aucune élévation des LPS n'a été rapportée suite à l'ingestion d'un repas riche en fruits et en fibres tel que recommandé par l'*American Heart Association* (AHA), renforçant cette hypothèse (416). Toutefois, bien qu'une tendance à la hausse ait été rapportée, Milan et collaborateurs (417) n'ont pas réussi à reproduire l'effet postprandial obtenu après ingestion du même repas riche en lipides et glucides proposé par Ghanim et son équipe, ni chez des sujets jeunes (20-25 ans) ni même chez des sujets âgés (60-75 ans). Enfin, dans une autre étude, l'ingestion d'une boisson riche en lipides supplémentée en arachides à haute teneur oléique (dont les propriétés ont été associées à une amélioration du profil métabolique comme l'amélioration de la sensibilité à l'insuline et de l'inflammation (418)) était associée à une diminution de l'endotoxémie comparée à une boisson contrôle de qualité nutritionnelle équivalente (*c.-à-d.*, en moyenne de 0,7 (SD 0,5) EU/mL et 1,6 (SD 1,2) EU/mL respectivement à 3h postprandial par rapport aux taux initiaux d'environ 1,4 EU/mL) (418).

Repas riches en lipides dans le contexte des troubles métaboliques

Comme décrit dans le chapitre 1.2.5, l'altération du profil métabolique (*ex.* obésité, syndrome métabolique ou diabète de type 2) a été fréquemment associée à une endotoxémie plus élevée à jeun et à un état chronique pro-inflammatoire de bas grade. Fait intéressant, la réponse endotoxémique postprandiale semblerait également exacerbée chez les patients présentant ces troubles, comme le démontre plusieurs études. Spécifiquement, par rapport à des participants non-obèses, Harte et son équipe (419) ont constaté une exacerbation de la réponse endotoxémique suite à l'ingestion d'un repas riche en lipides (75g de lipides, 5g de carbohydrates et 6g de protéine) allant de 20% chez les sujets obèses ou présentant une intolérance au glucose, et jusqu'à 125% chez les sujets atteints de diabète de type 2. Par ailleurs, chez 40 adultes souffrant d'obésité morbide (*c.-à-d.*, IMC $> 40 \text{ kg/m}^2$), l'ingestion d'une charge

lipidique de 50g (dont 10g d'acides gras saturés, 30g de mono-insaturés et 10g de polyinsaturés) a augmenté les taux de LPS sériques et l'enrichissement des chylomicrons en LPS uniquement chez les participants présentant l'hypertriglycéridémie postprandiale la plus élevée (> 80 mg/dL) (420). Plus récemment, Al-Disi et collaborateurs (421) ont démontré qu'un régime riche en lipides (75g de lipides/m² de surface corporelle) augmentait l'endotoxémie postprandiale chez l'ensemble des participants qu'ils soient de corpulence normale ou présentant un diabète de type 2. Toutefois, les effets sur la santé cardiométabolique faisant suite à l'ingestion du repas semblaient plus défavorables chez les sujets souffrants de diabète avec une exacerbation postprandiale de la triglycéridémie et de l'insulinémie et une diminution des fractions HDL et LDL du cholestérol, comparé aux individus non-diabétiques.

1.3.2. Vers une approche par profil alimentaire

Interventions alimentaires sur le moyen terme

Dans une étude d'intervention menée par Laugerette et collaborateurs (336), l'augmentation de l'apport énergétique (*c.-à-d.*, + 70g de matières grasses - dont plus de 46% sous forme saturée - par jour pendant huit semaines chez 18 volontaires sains) a été associée à une augmentation accrue des taux de LPS à l'état postprandial. Les taux de LPS à jeun n'étaient toutefois pas affectés par la période de suralimentation. A noter cependant qu'une augmentation de près de 40% du ratio LBP:sCD14 à jeun a été rapportée ; une combinaison de taux élevés de LBP et de taux faibles de sCD14 particulièrement pro-inflammatoire comme le démontre l'augmentation des taux d'IL-6 de plus de 26% chez les participants se situant dans le tercile supérieur de ratio LBP:sCD14 comparé au tercile inférieur (336). Plus récemment, il a été démontré que 3 semaines d'une intervention basée sur un régime pauvre en lipides mais riche en glucides et enrichi en AGPI- ω 3 augmentait les taux postprandiaux de LPS, mais diminuaient les taux à jeun de LPS, par rapport à un régime Méditerranéen enrichi en AGM ou un régime riche en AGS, chez des sujets âgés en bonne santé (422). Cette étude suggérerait que le délai au cours duquel les niveaux d'endotoxines varient pourrait être un élément important et partiellement expliquer les différences de résultats entre les études. Dans une étude comparant 4 types de régimes suivis pendant 3 semaines (*c.-à-d.*, riche en lipides saturés, riche en lipides mono-insaturés, faible en lipides mais riche en glucides enrichi ou non en AGPI- ω 3), menée chez 75 sujets présentant un syndrome métabolique, seul le régime riche en lipides saturés augmentait les taux postprandiaux de LPS (423). Toutefois, l'endotoxémie à jeun n'était affectée par aucun des 4 régimes. Dans une étude de type *cross-over* réalisée chez 8 personnes âgées de 55 ans et plus, en bonne santé apparente, Pendyala et collaborateurs (424) ont démontré que suivre un régime de type occidental (*c.-à-d.*, 40% de l'énergie totale provenant des lipides, dont 21% de lipides saturés, 40% de glucides, 20% de protéines et 13% de fibres) pendant 4 semaines augmentait significativement les taux plasmatiques de LPS à jeun de près de 71%, tandis qu'une diminution de près de 38% des taux plasmatiques à jeun a été observée après 4 semaines d'un régime isocalorique de type prudent (*c.-à-d.*, 20% de l'énergie totale provenant

des lipides, dont 6% de lipides saturés, 60% carbohydrates, 20% protéines et 31% fibre). Enfin, Breusing et son équipe (425) ont mis en évidence une augmentation de 31% de l'endotoxémie à jeun après une semaine de suralimentation (+ 50% du besoin énergétique) indépendamment de l'index glycémique ; augmentation qui était par ailleurs annihilée par trois semaines de restriction calorique (- 50% du besoin énergétique) chez 15 adultes en bonne santé.

Habitudes alimentaires

Bien que d'un intérêt majeur dans la compréhension de l'impact vie-entière de l'alimentation dans l'exposition aux endotoxines, seul un faible nombre d'études ont investigué la relation entre les habitudes alimentaires, reflet d'une exposition alimentaire sur le très long terme, et l'endotoxémie à jeun. Dans un sous-échantillon de 201 hommes en bonne santé, l'apport calorique total et l'apport calorique provenant des lipides, mais pas des glucides ou des protéines, étaient positivement associés aux niveaux de LPS à jeun (426). Plus récemment, Kallio et son équipe (368) ont rapporté une association positive significative entre l'apport énergétique total et les niveaux circulants de LPS, et, en revanche, une association négative significative entre l'apport en glucides et les niveaux de LPS chez des personnes de faible corpulence. De manière surprenante, aucune association entre l'apport lipidique et les taux de LPS à jeun n'a été observée dans cette étude. D'autre part, bien que les apports habituels alimentaires en fibres et en lipides étaient respectivement associés de façon positive et négative à la diversité et à la richesse du microbiote intestinal (427), aucune association n'a été rapportée avec les taux de LPS à jeun chez des femmes enceintes présentant un surpoids ou une obésité (427) ou chez des patients présentant un diabète de type 1 (428). Néanmoins, dans cette dernière étude, une consommation plus élevée de poisson, de collations saines (*c.-à-d.*, fruits et baies, légumes frais, boissons non alcoolisées, yaourts, fromage à faible teneur en matière grasse) ou encore une adhérence plus élevée à un régime de type moderne (*c.-à-d.*, légumes frais, pâtes, riz, volaille, produits carnés et aliments frits ou grillés) étaient significativement associées à des taux sériques plus faibles de LPS à jeun (428). De plus, une étude menée chez des patients âgés atteints de fibrillation atriale non valvulaire a démontré qu'une adhérence plus élevée à un régime de type Méditerranéen était inversement corrélée aux taux de LPS à jeun (429). Parmi les composants alimentaires caractéristiques du régime Méditerranéen, une consommation plus élevée de fruits et de légumineuses a montré une association majeure avec des niveaux plus faibles de LPS. Enfin, dans une étude menée chez 171 sujets obèses, des taux plus élevés de LBP ont été rapportés chez les participants ayant un profil alimentaire à index inflammatoire élevé (riche en lipides saturés et faible en lipides insaturés et en fibres) comparativement aux participants ayant un profil alimentaire à index inflammatoire faible (308).

Dans l'ensemble, ces arguments suggèrent qu'un unique repas riche en lipides, et en particulier en lipides saturés et dépourvu de composants sains, a une capacité indéniable à augmenter l'endotoxémie postprandiale de façon transitoire chez l'Homme ; cette réponse étant plus prononcée chez les individus présentant un trouble métabolique. Un constat qui reste toutefois à nuancer dans le cadre d'une alimentation diversifiée prenant en considération un large panel d'aliments. En effet, les études suggèrent que l'effet matrice de l'alimentation, prenant en compte les phénomènes d'interaction, de synergie ou d'antagonisme entre divers nutriments ou aliments, représenterait un facteur clé complexe dans l'exposition aux endotoxines induite par l'alimentation.

Dans ce sens, et bien que les lipides - macronutriments les plus étudiés à ce jour - soient considérés comme les principaux médiateurs dans la réponse endotoxémique, il convient de noter que d'autres nutriments pourraient jouer un rôle tout aussi important dans la réponse endotoxémique. Spécifiquement, une alimentation riche en fibres contribuerait au maintien d'un microbiote sain en termes de diversité et de richesse (284,430). Les fibres sont en effet des substrats essentiels favorisant la production d'AGCC ; source énergétique majeure du microbiote intestinal. Un apport élevé en fibres favoriserait notamment la production de mucus, de peptides antimicrobiens ainsi que l'expression de protéines de jonctions serrées ; autant de facteurs contribuant à limiter le développement de bactéries pathogènes et le passage des endotoxines à travers la barrière intestinale (430). Au contraire, un apport élevé en sucres raffinés favoriserait l'apparition de dysbiose du microbiote intestinal et l'augmentation de la perméabilité pouvant contribuer à l'élévation chronique de l'endotoxémie (431).

CHAPITRE II. HYPOTHÈSES ET OBJECTIFS SPÉCIFIQUES DU PROJET DE THÈSE

Capable d'induire une élévation de l'endotoxémie à des niveaux suffisants pour activer le système immunitaire et déclencher une réponse inflammatoire, l'endotoxémie métabolique pourrait-elle précipiter le développement de maladies neurodégénératives tel que la maladie d'Alzheimer ? L'alimentation pourrait-elle être considérée comme un levier d'action potentiel, capable de moduler l'exposition aux endotoxines et leur possible impact sur le développement des troubles neurocognitifs liés à la maladie d'Alzheimer ?

La revue narrative de la littérature (*c.-à-d.*, le premier objectif de ces travaux de thèse, exposée dans le chapitre I) n'a mis en évidence aucune étude s'intéressant à cette approche dans son intégralité (*c.-à-d.*, alimentation et endotoxémie et troubles cognitifs/démence). Un premier résultat soulignant l'émergence seulement très récente de l'hypothèse de l'endotoxémie métabolique en tant que voie pathologique potentielle dans le développement de troubles cognitifs.

Cette revue de la littérature a été valorisée sous la forme d'un article scientifique :

André P, Laugerette F, Féart C. Metabolic Endotoxemia: A Potential Underlying Mechanism of the Relationship between Dietary Fat Intake and Risk for Cognitive Impairments in Humans? *Nutrients*. 2019 Aug 13;11(8):1887. DOI: 10.3390/nu11081887 (Annexe 3).

Initialement clôturée en février 2019, une mise à jour de cet algorithme a toutefois permis de mettre en évidence une étude datée de juin 2020 s'étant intéressée à l'approche dans son ensemble. Spécifiquement, une étude de type *cross-over* en double insu a été menée auprès de 51 femmes âgées en moyenne de 53 ans et présentant des anomalies mammaires (cancer du sein sous traitement ou tumeur bénigne) (402). Dans cette étude, l'ingestion d'un repas riche en lipides saturés induisait une altération des performances cognitives, comparativement à l'ingestion d'un repas riche en lipides mono-insaturés. Par ailleurs, les femmes ayant des niveaux élevés de LBP ou de ratio LBP:sCD14 avant le repas (*c.-à-d.*, quartile supérieur de distribution par rapport au quartile inférieur) présentaient des capacités plus faibles d'attention et de maintien de la vitesse de réponse lors d'un test de reconnaissance de stimuli cibles et non-cibles. Fait intéressant, chez les femmes ayant de faibles taux de LBP ou de ratio LBP:sCD14 avant le repas (*c.-à-d.*, quartile inférieur de distribution), les auteurs ont rapporté une altération des performances cognitives suivant l'ingestion d'un repas riche en lipides saturés, comparativement au repas isocalorique riche en lipides mono-insaturés. En revanche, chez les femmes présentant des taux élevés de LBP ou de ratio LBP:sCD14 en amont du repas, les capacités cognitives n'étaient pas différemment impactées par le repas riche en lipides saturés comparé au repas riche en lipides mono-insaturés. Ces résultats suggèreraient donc que les repas

riches en lipides d'une part, et l'endotoxémie d'autre part, interféreraient avec les capacités cognitives ; la combinaison d'une faible endotoxémie associée à des choix alimentaires peu sains - même lors d'un unique repas - pouvant être particulièrement préjudiciable dans les processus attentionnels à court terme (5h).

D'après l'analyse des travaux incluent dans la revue narrative, une large hétérogénéité dans les interventions nutritionnelles a notamment limité la reproductibilité des études entre elles et la possibilité de poser une conclusion définitive sur la cinétique de la réponse endotoxémique en réponse à l'alimentation. Par ailleurs, la majorité des études s'intéressant à investiguer l'approche entre alimentation et endotoxémie étant focalisée sur les lipides alimentaires, elles ne permettent pas de prendre en compte des effets potentiellement agonistes ou antagonistes pouvant subvenir entre les différents composés de l'alimentation ; des effets qui ont pourtant été démontrés comme pouvant impacter différemment la réponse endotoxémique.

Concernant l'approche entre endotoxémie et santé cognitive, une large hétérogénéité a également été rapportée dans l'évaluation des performances cognitives au travers des études, limitant considérablement la reproductibilité et l'établissement de conclusions. En outre, seules quelques études se sont intéressées à la relation entre endotoxémie et santé cognitive, dont le *design* transversal a limité la possibilité de conclure sur un effet potentiellement causal ; le risque de causalité inverse (*c.-à-d.*, que ce soit la maladie qui influence l'endotoxémie et non l'inverse) étant d'autant plus important dans les maladies neurodégénératives dont les processus physiologiques peuvent se dégrader plusieurs années avant l'apparition des premiers symptômes cliniques, et conduire à une susceptibilité accrue à l'exposition aux endotoxines.

Ce premier travail a ainsi permis de mettre en évidence les limites et les questions restant en suspens dans ces approches ; un constat qui a contribué à la mise en place des objectifs de ces travaux de thèse, axés sur deux approches visant à améliorer d'une part la compréhension des relations entre alimentation et endotoxémie et d'autre part le rôle de l'endotoxémie dans la pathogenèse de la maladie d'Alzheimer.

Dans la première partie de ces travaux de thèse, les objectifs ont donc été d'évaluer, au sein d'une population âgée :

- (i) les associations entre profils alimentaires et biomarqueur de l'exposition plasmatique aux endotoxines

Et, dans un objectif secondaire,

- (ii) d'évaluer les associations entre des pathologies généralement associées à un statut nutritionnel altéré (syndrome métabolique et malnutrition) et biomarqueur de l'exposition plasmatique aux endotoxines.

L'approche utilisée pour répondre à ces objectifs ainsi que les résultats et la discussion ont été détaillés dans le chapitre IV.

Parallèlement, et alors que l'inflammation ne peut plus être considérée comme un épiphénomène dans la maladie d'Alzheimer, le rôle des endotoxines dans cette maladie neurodégénérative reste cependant peu élucidé. A cet effet, l'objectif de la seconde partie de ces travaux de thèse a été :

- (iii) d'évaluer les associations entre biomarqueurs de l'exposition plasmatique aux endotoxines et risque de maladie d'Alzheimer ou de démence toutes étiologies confondues.

L'approche utilisée pour répondre à cet objectif, abordée sous deux projets différents mais complémentaires, ainsi que les résultats et la discussion ont été détaillés dans le chapitre V.

CHAPITRE III. DONNÉES DISPONIBLES

3.1. La cohorte des 3-cités

3.1.1. Objectif et population

L'ensemble des travaux de thèse a été réalisé sur les données de l'étude des Trois-Cités (3C), notamment sur le centre Bordelais de 3C.

Initiée en 1999-2000 dans 3 villes Française (Bordeaux, Dijon et Montpellier), l'étude 3C a pour objectif d'estimer le risque de démence et de déclin cognitif attribuables aux facteurs de risque vasculaires (432). Pour être éligibles, les individus devaient être inscrits sur les listes électorales de l'une des 3 villes susmentionnées ou de leurs proches banlieues, être âgés de 65 ans ou plus et être non-institutionnalisés. Après tirage au sort aléatoire sur les listes électorales, 34922 individus ont été invités à participer à l'étude. Parmi ces derniers, 76% ont pu être contactés avec succès dont 37% ont accepté de participer. Au total, 9294 individus ont finalement été inclus entre mars 1999 et mars 2000, dont 2104 à Bordeaux, 4931 à Dijon et 2259 à Montpellier.

Le protocole d'étude a été approuvé initialement par le Comité Consultatif de Protection des Personnes qui se prêtent à une Recherche Biomédicale (CCPPRB) de l'hôpital universitaire Kremlin-Bicêtre.

3.1.2. Recueil de données

3.1.2.1. Données générales

Données générales, psychologiques et cognitives

Un questionnaire standardisé, commun aux 3 centres, a été délivré à l'inclusion et au cours du suivi aux participants lors d'entretiens en face-à-face, menés par des psychologues ou des infirmières préalablement formées. Ce questionnaire visait à recueillir des données sociodémographiques (ex. âge, sexe, niveau d'étude, statut familial ou encore catégorie socio-professionnelle), de mode de vie (ex. fréquence de consommation alimentaire, statut tabagique, consommation d'alcool, activité physique) ainsi que les antécédents personnels ou familiaux de maladies cardiovasculaires ou de démence.

Au cours du même entretien, les performances cognitives, les troubles dépressifs ainsi que les incapacités fonctionnelles ont été évalués respectivement par une batterie de tests neuropsychologiques, une échelle de symptomatologie dépressive et des échelles spécifiques.

Données médicales

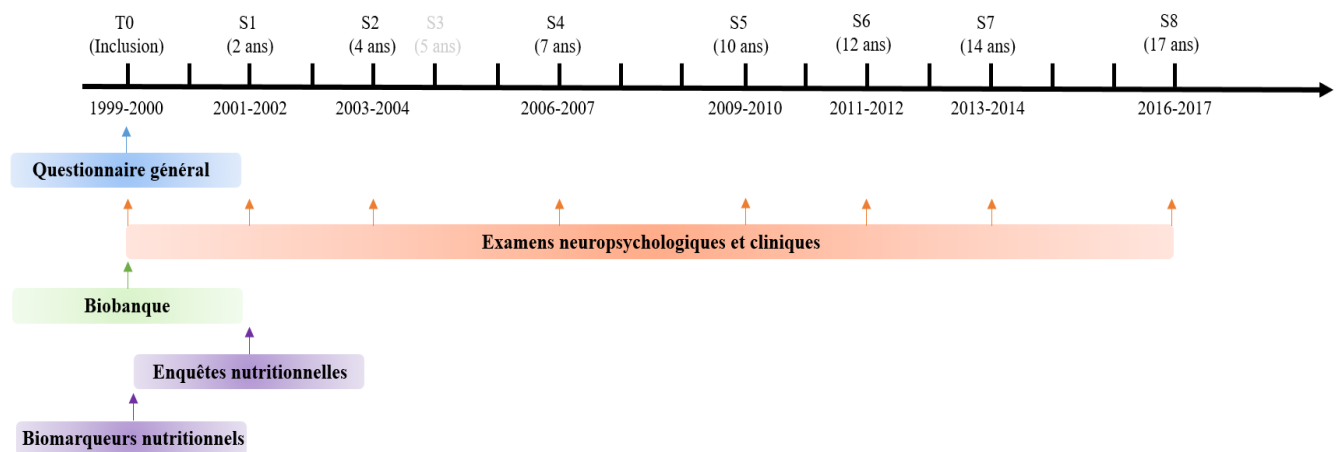
Les données médicales ont été recueillies soit à domicile soit dans un centre d'examen ou lors d'une seconde visite à domicile pour les participants ne pouvant se déplacer au centre. L'examen répertoriait l'inventaire des médicaments consommés dans le mois précédent avec leur codage ATC (Anatomique, Thérapeutique et Chimique) selon la classification de l'OMS, les antécédents médicaux personnels ainsi que les facteurs de risque de maladies cardiovasculaires (*ex.* hypertension, hypercholestérolémie, diabète, accident vasculaire cérébral (AVC) ou encore infarctus du myocarde). L'examen a été complété par la prise de mesures anthropométriques (*ex.* poids, taille, tour de taille et tour de hanche) et vasculaires (pression artérielle systolique et diastolique).

Données biologiques

Une biobanque (plasma, sérum et ADN, stockés et conservés à -80°C) a été réalisée chez les participants ayant accepté le prélèvement sanguin à l'inclusion (n= 1881 pour le centre Bordelais), permettant le dosage biologique de la glycémie, de la cholestérolémie (cholestérol total et ses fractions HDL et LDL), de la triglycéridémie ainsi que du génotypage ApoE.

Données de suivi

Des visites de suivi ont été réalisées tous les 2 à 3 ans après l'inclusion. Le suivi des participants du centre Bordelais est toujours en cours, allant jusqu'à ce jour à un suivi de 17 ans après l'inclusion, tandis que les suivis des centres de Dijon et Montpellier ont été interrompus après 12 ans. L'examen neuropsychologique, l'évaluation de l'état fonctionnel ainsi que la visite médicale ont été répétés à chaque suivi (Figure 12). Les événements incidents tels que la survenue d'une démence, de maladies cardiovasculaires, de placement en institution ou de décès étaient systématiquement recherchés et répertoriés.



S3 (5 ans) : Informations recueillies par téléphone, non utilisées dans ces travaux de thèse

Figure 12. Représentation schématique des données du centre Bordelais de la cohorte des Trois-Cités utilisées dans le cadre des travaux de thèse.

3.1.2.2. Données cognitives, d'imagerie et de diagnostic de démence

Performances cognitives

Les performances cognitives, précocement altérées dans la démence et dont le déclin est largement associé au vieillissement cérébral, ont été évaluées par des psychologues au moyen d'une batterie de tests neuropsychologiques validés, permettant de couvrir plusieurs domaines cognitifs incluant la mémoire, l'attention, le langage et les capacités visuo-spatiales.

Parmi ceux-ci figurent notamment le *Mini Mental State Examination* (MMSE), le *Benton Visual Retention Test* (BVRT), l'*Isaacs' Set Test* (IST) ainsi que le *Trail Making Test* (TMT), décrits ci-après.

Le MMSE est un test d'évaluation du fonctionnement cognitif global, incluant l'appréciation de la mémoire, de l'attention et du calcul, de la concentration, de l'orientation spatio-temporelle, du langage et des praxies (*c.-à-d.*, la coordination et l'adaptation des mouvements volontaires dans un but précis) (433) (Figure 13, A). Le score MMSE varie de 0 (performances très altérées) à 30 (performances normales). Le MMSE est largement utilisé en pratique clinique afin de dépister et suivre l'évolution des troubles cognitifs. Il possède une bonne sensibilité et spécificité pour discriminer une démence modérée d'un individu cognitivement sain, mais reste peu sensible à la détection de troubles cognitifs légers ou de stade précoce de démence de par son effet « plafond ».

Le BVRT est un test utilisé pour évaluer les capacités visuo-constructives, l'attention ainsi que la mémoire visuelle de travail (434). La mémoire de travail représente l'un des troubles cognitifs significatifs du vieillissement cérébral. Le BVRT consiste à reconnaître, suivant une procédure à choix multiple, une figure préalablement présentée (Figure 13, B). Un total de 15 figures sont successivement présentées, permettant d'établir un score variant de 0 (aucune figure reconnue, performances très altérées) à 15 (toutes les figures reconnues, performances normales).

L'IST permet d'estimer les capacités de fluence verbale, mesurée par la quantité de mot qu'un individu est capable de citer à partir de 4 catégories sémantiques successivement proposées : villes, fruits, animaux et couleurs (435) (Figure 13, C). La mémoire sémantique peut être perturbée précocement dans la pathogenèse de la démence, et est caractérisée d'un point de vue clinique par une difficulté d'élocution ou l'utilisation de circonlocutions (*c.-à-d.*, remplacement d'un terme précis par une expression). Afin d'éviter un effet « plafond », une limite de 15 secondes, pour chaque catégorie sémantique, est fixée. Dans l'étude 3C, la tâche prenait fin lorsque l'individu avait cité un maximum de 10 mots pour chaque catégorie sémantique, ou qu'il n'était plus capable d'en citer davantage. Le score IST varie ainsi de 0 (performances très altérées) à 40 (performances normales).

Le TMT évalue les fonctions exécutives, désignant les habiletés cognitives de logique, de stratégie, de planification et de raisonnement (436). La première tâche, le TMT-A, consiste à relier sans lever le stylo des nombres de 1 à 25, répartis de façon semi-aléatoire sur une feuille, dans un ordre croissant (Figure 13, D). La seconde tâche, le TMT-B, consiste à relier des nombres de 1 à 13 et des lettres de A à L, dans un ordre croissant et alphabétique, en respectant une alternance nombre-lettre (Figure 13, E). Le score obtenu au TMT correspond au temps de réalisation de chaque partie du test, généralement rapporté au nombre de bons déplacements.

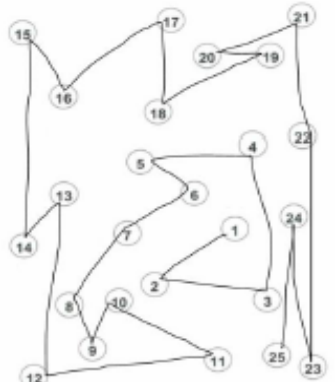
A Mini Mental Status 1) Quel jour de la semaine sommes-nous ? 2) Quelle est la date aujourd'hui ? 3) En quel mois sommes-nous ? 4) En quelle saison sommes-nous ? 5) En quelle année sommes-nous ? 6) Où sommes-nous ici ? (Quel hôpital, quelle maison de retraite, rue, lieu-dit ...) 7) A quel étage sommes-nous ? 8) Dans quelle ville sommes-nous ? 9) Dans quel département sommes-nous ? 10) Dans quel pays sommes-nous ? <i>L'examinateur doit prononcer les mots suivants au rythme de un par seconde. En cas de difficultés, recommencer jusqu'à 5 fois</i> Répétez les mots suivants : cigare, fleur, porte 11) 1er mot cité 12) 2nd mot cité 13) 3ème mot cité Soustraire 7 de 100 ainsi de suite. 14) 93 15) 86 16) 79 17) 72 18) 65 Vous souvenez-vous des trois mots que vous avez répétés tout à l'heure ? 19) 1er mot cité 20) 2nd mot cité 21) 3ème mot cité 22) Qu'est-ce-que c'est que cela (montrer un crayon) 23) Qu'est-ce-que c'est que cela (montrer la montre) 24) Répétez : pas de si ni de mais Faire exécuter au sujet les trois ordres successifs 25) Prenez cette feuille de papier, 26) pliez-la par le milieu, et 27) posez-la par terre. 28) Lisez ce qui est écrit et faites l'action : fermez les yeux 29) Ecrivez une phrase de votre choix sur cette feuille 30) Copiez ce dessin sur cette feuille	C Set Test d'Isaacs Citer le maximum de mot dans chaque catégorie sémantique (max 10 mots/catégorie). <table border="0"> <tr> <td></td> <td>15"</td> <td>30"</td> <td>60"</td> </tr> <tr> <td>Couleurs</td> <td>/ / /</td> <td>/ / /</td> <td>/ / /</td> </tr> <tr> <td colspan="4">.....</td> </tr> <tr> <td></td> <td>15"</td> <td>30"</td> <td>60"</td> </tr> <tr> <td>Animaux</td> <td>/ / /</td> <td>/ / /</td> <td>/ / /</td> </tr> <tr> <td colspan="4">.....</td> </tr> <tr> <td></td> <td>15"</td> <td>30"</td> <td>60"</td> </tr> <tr> <td>Fruits</td> <td>/ / /</td> <td>/ / /</td> <td>/ / /</td> </tr> <tr> <td colspan="4">.....</td> </tr> <tr> <td></td> <td>15"</td> <td>30"</td> <td>60"</td> </tr> <tr> <td>Villes</td> <td>/ / /</td> <td>/ / /</td> <td>/ / /</td> </tr> <tr> <td colspan="4">.....</td> </tr> </table>		15"	30"	60"	Couleurs	/ / /	/ / /	/ / /						15"	30"	60"	Animaux	/ / /	/ / /	/ / /						15"	30"	60"	Fruits	/ / /	/ / /	/ / /						15"	30"	60"	Villes	/ / /	/ / /	/ / /				
	15"	30"	60"																																														
Couleurs	/ / /	/ / /	/ / /																																														
.....																																																	
	15"	30"	60"																																														
Animaux	/ / /	/ / /	/ / /																																														
.....																																																	
	15"	30"	60"																																														
Fruits	/ / /	/ / /	/ / /																																														
.....																																																	
	15"	30"	60"																																														
Villes	/ / /	/ / /	/ / /																																														
.....																																																	
B Test de Rétention Visuelle de Benton Retrouver la figure géométrique (parmi A, B, C, D) préalablement visualisée (au total, 15 figures successivement présentées).  A  B  C  D 	D Trail Making A Relier les points dans l'ordre croissant.  E Trail Making B Relier les points dans l'ordre croissant et alphabétique en alternant chiffres et lettres. 																																																

Figure 13. Représentation des tests neuropsychologiques du *Mini Mental State Examination* (A), *Benton Visual Retention Test* (B), *Isaacs' Set Test* (C) et *Trail Making Test* (D et E) dispensés dans la cohorte des Trois-Cités.

Imagerie cérébrale

Des examens d'imagerie médicale au niveau cérébral ont également été proposés à l'inclusion, puis au suivi à 4 et 7 ans pour les participants du centre Bordelais de 3C. Parmi ceux-ci, 650 ont acceptés et réalisés l'IRM à l'inclusion, 420 au suivi à 4 ans et 230 au suivi à 10 ans, permettant l'estimation des volumes cérébraux, des hypersignaux de la substance blanche ou encore la dilatation des espaces périvasculaires.

Diagnostic de démence

A l'inclusion, les participants du centre Bordelais ont été examinés par un neurologue afin de diagnostiquer les éventuels cas prévalents de démence. Lors des visites de suivi, seuls les individus cliniquement suspectés de démence ont été ultérieurement évalués par un neurologue. En cas de suspicion de démence, le neurologue s'appuyait sur les performances aux tests neuropsychologiques, la sévérité des troubles cognitifs évaluée par l'échelle CDR (Clinical Dementia Rating scale), l'impact sur les activités de la vie quotidienne et éventuellement sur les données d'imagerie cérébrale lorsqu'elles étaient disponibles, afin d'affirmer ou d'infirmer un diagnostic de démence selon les critères du DSM-IV-TR (3). Un comité d'experts indépendants, composé de neurologues et de gériatres, devait ensuite valider le diagnostic et établir l'étiologie la plus plausible du sous-type de démence : maladie d'Alzheimer probable, maladie d'Alzheimer possible, démence vasculaire, démence mixte, démence à corps de Lewy, démence de type Parkinson, ou autre, selon les critères du DSM-IV et du NINCDS-ADRDA. A noter que dans le but d'établir un diagnostic de démence stable et comparatif au cours du temps, les critères du DSM-IV-TR ont été pris comme référence tout au long des suivis de 3C bien qu'une version plus récente, le DSM-V, a été publiée en 2013. Ces travaux de thèse ne traitent ainsi que du diagnostic basé sur les critères du DSM-IV-TR.

3.1.2.3. Données nutritionnelles

Des données supplémentaires, spécifiques à chaque centre, pouvaient être collectées dans le cadre d'études ancillaires. A cet effet, le centre Bordelais de 3C a fait l'objet d'un volet nutritionnel approfondi lors de la première vague de suivi à 2 ans. Celui-ci incluait le dosage (rétrospectif) de biomarqueurs nutritionnels à l'inclusion ainsi qu'une enquête nutritionnelle détaillée comprenant un fréquentiel alimentaire (FFQ) et un rappel des 24h.

Le questionnaire de fréquentiel alimentaire (FFQ)

Parmi les 2104 participants Bordelais inclus en 1999-2000, 1811 (86%) ont été revus au suivi à 2 ans. Un FFQ qualitatif (*c.-à-d.*, sans recueil des portions) a été enregistré chez la quasi-totalité de ces derniers, soit chez 1796 participants, par des diététiciens spécifiquement formés pour le recueil de données alimentaires chez les personnes âgées de manière à favoriser un recueil standardisé des données. Le FFQ permettait d'évaluer la fréquence habituelle de consommation de 40 aliments et boissons les plus couramment consommés au cours des 3 repas principaux (le petit déjeuner, déjeuner et dîner) et de 3 collations hors repas (*c.-à-d.*, entre le petit déjeuner et le déjeuner, entre le déjeuner et le dîner, et après le dîner) au choix selon 11 catégories prédéfinies (une à sept fois par semaine ; une à trois fois par mois ; moins d'une fois par mois). Les fréquences relatives d'apport d'autres composés alimentaires tels que l'ajout de sel, de sucre ou d'édulcorant, la consommation de surgelés ou de conserves, ou encore l'utilisation de matières grasses (beurres, margarines, graisses et huiles de différents types) pour la cuisson, l'assaisonnement ou en accompagnement sur les tartines, étaient recueillies par des items à 4 catégories prédéfinies (toujours ; le plus souvent ; rarement ; jamais).

Afin d'exploiter l'ensemble des données nutritionnelles du FFQ au travers d'analyses multidimensionnelles, les fréquences de consommation de chaque aliment ont été converties en portions par semaines (0 pour moins d'1 fois/mois ; 0,25 pour 1 fois/mois ; 0,5 pour 2 fois/mois ; 0,75 pour 3 fois/mois ; et de 1 à 7 pour 1 à 7 fois/semaine) (Tableau 1) (437).

Tableau 1. Recodage des données alimentaires qualitatives issues du fréquentiel alimentaire dispensés au suivi à 2 ans (S1) dans l'étude 3C-Bordeaux en données quantitatives.

	Jamais ou <1 par mois	Nombre de fois par mois				Nombre de fois par semaine						
Aliment	○	1○	2○	3○	1○	2○	3○	4○	5○	6○	7○	
Codage en portion par semaine	0	0.25	0.5	0.75	1	2	3	4	5	6	7	

Ces apports alimentaires, exprimés en portions par semaine, ont ensuite été agrégés en 20 groupes alimentaires définis selon des critères de similarités nutritionnelles. Afin de palier à la présence de données manquantes pouvant conduire à la perte entière de l'information ou à une estimation biaisée des apports alimentaires de par l'attribution d'une valeur nulle, une procédure d'imputation a été mise en œuvre (438). Cette procédure visait à imputer une valeur en fonction de l'âge et du sexe pour les 202 participants (11.3%) présentant seulement une

donnée manquante. Les 66 sujets (3.6%) présentant 2 données manquantes ou plus ont été exclus des analyses. Ces 20 groupes alimentaires, intégralement renseignés après la procédure d'imputation chez 1730 participants, comprenaient : légumes crus ; légumes cuits ; fruits ; légumineuses ; pain et céréales ; œufs ; poissons et crustacés ; volaille ; viande ; charcuterie ; pâtes ; riz ; pomme de terre ; pizza et sandwich ; biscuits ; sucreries ; produits laitiers ; alcool ; thé ; café (Tableau 2).

Tableau 2. Description des 20 catégories d'aliments constitutifs du fréquentiel alimentaire dispensés au suivi à 2 ans (S1) dans l'étude 3C-Bordeaux.

Groupe alimentaire	Aliments constitutifs
Légumes crus	Crudités, salade
Légumes cuits	Légumes cuisinés, soupes
Fruits	Fruits, compotes de fruit, jus de fruit
Poisson et crustacés	Poisson et crustacés
Légumineuses	Légumineuses
Pain et céréales	Pain, céréales « prête à consommer »
Œufs	Œufs
Volaille	Volaille
Pâtes	Pâtes
Riz	Riz
Produits laitiers	Lait, fromage, yaourt, boisson chocolatée
Pommes de terre	Pommes de terre
Pizza & sandwich	Pizza, sandwich, tarte salée, quiche
Biscuits	Viennoiseries, biscuits secs, gâteaux, biscuits au chocolat ou à la confiture
Sucreries	Bonbons, confiture, soda, sucre
Alcool *	Boissons alcoolisées
Charcuterie	Charcuterie
Viande	Viande, jambon
Café	Café
Thé	Thé

* La consommation d'alcool (nombre de verres alcoolisés par semaine) est issue du questionnaire général dispensé réalisé à l'inclusion dans l'étude 3C-Bordeaux

Le rappel des 24h

Le rappel des 24h, enregistré chez 1786 participants Bordelais lors de la visite à 2 ans, visait à recenser l'ensemble des aliments et boissons consommés la veille de l'entretien (hors week-end). Les quantités consommées ont été estimées à l'aide d'un recueil de photographies proposant différentes tailles de portions pour 236 aliments et boissons (439), converties par la suite en grammes à l'aide d'une table de correspondance. Une estimation de la quantité de nutriments consommés (glucides, lipides, protéines, fibres, vitamines et minéraux) a été obtenue grâce au logiciel de conversion BILNUT incluant diverses tables de composition des aliments (439). Le rappel des 24h permettait ainsi d'estimer l'apport calorique total.

Nutriments liposolubles

Parmi les 1881 participants du centre Bordelais ayant accepté le prélèvement sanguin à l'inclusion, le dosage de 22 nutriments a été effectué, à différents temps et de façon rétrospective, dans des sous-échantillons de 3C-Bordeaux incluant : la concentration en 25(OH)D (n= 955), les 6 espèces majeures de caroténoïdes (*c.-à-d.*, α -carotène, β -carotène, β -cryptoxanthine, lutéine, zéaxanthine, lycopène, n= 1092), deux formes de vitamine E (α et γ -tocophérol) et le rétinol (n= 1351) ainsi que 12 acides gras majeurs (acide myristique, acide palmitique, acide stéarique, acide palmitoléique, acide oléique, acide linoléique, acide γ -linolénique, acide arachidonique, acide α -linolénique, acide eicosapentaénoïque, acide docosapentaénoïque, acide docosahexaénoïque, n= 1416)

Dans ce projet de thèse, les données du centre Bordelais de l'étude 3C ont été exploitées au travers de deux projets, le projet EnIMA et le projet NutEnDem, décrits ci-après.

3.2. Projet EnIMA

3.2.1. Sélection de l'échantillon et *design* d'étude

Le projet EnIMA « **Endotoxémie et Inflammation dans le cadre de la Maladie d'Alzheimer** » a pour objectif d'évaluer le lien entre des biomarqueurs de l'endotoxémie et de l'inflammation et le risque de survenue d'un diagnostic de maladie d'Alzheimer.

Un design d'étude de type cas-témoin niché dans la cohorte 3C-Bordeaux a été privilégié pour ce projet puisqu'il permet d'estimer plus précisément l'effet des expositions (ici, les biomarqueurs de l'endotoxémie et de l'inflammation), tout en limitant les coûts inhérents au dosage biologique de ces biomarqueurs.

Le principe d'une étude cas-témoin nichée consiste à recruter, au sein d'une même cohorte, d'une part des participants présentant l'évènement de santé d'intérêt (*c.-à-d.*, les cas) et d'autre part des participants comparables mais ne présentant pas l'évènement de santé d'intérêt (*c.-à-d.*, les témoins) afin d'étudier de façon rétrospective l'effet d'une exposition sur la survenue de la maladie. Dans le but de réduire les différences entre les cas et les témoins, et ainsi d'augmenter la puissance statistique permettant de mettre en évidence une différence d'exposition (si elle existe), les cas peuvent être appariés aux témoins selon des caractéristiques communes appelées variables d'appariement. Ainsi, un témoin sera tiré au sort parmi l'ensemble des sujets à risque ayant la même valeur que le cas sur la variable d'appariement.

Dans le cadre du projet EnIMA, les cas incidents de maladie d'Alzheimer possible, probable ou mixte survenant entre l'inclusion et le suivi à 12 ans (suivi maximal disponible lors de la conception de l'étude) ont été inclus. Chaque cas était ensuite apparié individuellement en densité d'incidence à 2 témoins, selon un échantillonnage aléatoire avec remise. Les variables d'appariement, préalablement identifiées comme étant des facteurs importants dans l'étude de la maladie d'Alzheimer et pour lesquels nous ne souhaitons pas étudier l'impact, incluaient l'âge, le sexe et le niveau d'étude. Spécifiquement, pour être éligible en tant que témoin, un participant devait respecter les critères suivants : (i) être indemne de démence (à risque de démence) au moment du diagnostic du cas, (ii) avoir un âge à l'inclusion similaire ($\pm 1,5$ ans) à celui du cas, (iii) être de même sexe que le cas, (iv) avoir un niveau d'éducation similaire (études primaires ou moins *versus* études secondaires ou supérieures) et enfin (v) une dernière condition visait à ce que le témoin ne puisse pas être apparié 2 fois au même cas. A souligner cependant qu'un participant est éligible comme témoin à tous les temps où il est à risque de démence, ce qui signifie par conséquent qu'un témoin peut être de nouveau sélectionné pour un autre cas à un temps $t' > t$. Il contribuera ainsi comme des sujets différents avec des données censurées selon le moment où il a été apparié au cas.

Afin de s'affranchir de tous biais statistiques, l'appariement n'a pas été conditionné sur le devenir du témoin, et les cas n'ont pas été exclus des ensembles à risques, préalablement à leurs diagnostics de démence.

Parmi les 288 cas incidents de maladie d'Alzheimer possible, probable ou mixte survenant entre l'inclusion et le suivi à 12 ans, 212 cas ont pu être appariés avec succès à 2 témoins chacun, portant l'échantillon d'étude du projet EnIMA à 636 participants. Les 76 cas de cas incidents de maladie d'Alzheimer non inclus dans cet échantillon font suite à une valeur manquante sur une ou plusieurs variables d'appariement ou un diagnostic de démence à un âge très avancé, limitant les possibilités d'appariement avec un participant indemne de démence au même âge ($\pm 1,5$ ans).

3.2.2. Dosage des marqueurs de l'endotoxémie et de l'inflammation

Initialement, 2 biomarqueurs relatifs à l'endotoxémie ont été dosés et étudiés dans le cadre du projet EnIMA : la LBP et le sCD14. Impliqués dans la cascade de signalisation en réponse aux endotoxines (décrite dans le chapitre 1.2.4), la LBP et le sCD14 sont considérés comme des biomarqueurs cliniquement pertinents de l'exposition cellulaire aux endotoxines. Les taux de LBP et de sCD14 ont été déterminés par la méthode immuno-enzymatique ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay, Hycult Biotechnology, Uden, Pays-Bas) et exprimés en $\mu\text{g/mL}$. Les coefficients de variation intra et inter essais étaient respectivement de 2,2% et 4,1% pour la LBP, et de 5,5% et 6,3% pour le sCD14. Les dosages de LBP et de sCD14 ont été réalisés par le laboratoire CarMeN (*Cardiovascular Metabolism diabetes & Nutrition*, INRAE UMR1397 - INSERM U1060).

L'obtention de financements supplémentaires au cours de la thèse a par la suite permis de mesurer un autre marqueur de l'endotoxémie, à la fois chez l'ensemble des 636 participants du projet EnIMA, mais également dans une étude ancillaire de 3C-Bordeaux décrite ultérieurement dans le projet NutEnDem.

Les niveaux plasmatiques d'endotoxines ont été évalués par la concentration en acides gras 3-hydroxylés estérifiés (AG 3-OH), composants spécifiques du lipide A des LPS, par la méthode LC-MS/MS (332). Ces dosages ont été réalisés par la plateforme de lipidomique de Dijon (INSERM UMR1231 - LabEx LipSTIC). Brièvement, du fait que les AG 3-OHs peuvent être retrouvés sous forme libre dans le plasma (*c.-à-d.*, non liés aux LPS), les niveaux d'endotoxines ont été calculés comme étant la différence entre la quantité totale en AG 3-OH, déterminée après une forte hydrolyse acide de 100 μL de plasma, et la quantité libre non-associés aux LPS, déterminée après extraction directe de 100 μL de plasma sans l'étape d'hydrolyse acide. Les taux de AG 3-OHs estérifiés résultant, exprimés en pmol/mL , représentant la quantification totale (formes biologiquement active et inactive) des LPS dans le plasma.

Par ailleurs, les taux sériques d'IL-6, une cytokine pro-inflammatoire et dont la production peut résulter de la cascade de signalisation de l'endotoxémie, ont été déterminés par kit ELISA (Quantikine®, Abingdon, UK) par le laboratoire CarMeN (INRAE UMR1397 - INSERM U1060). Les taux d'IL-6 étaient exprimés en pg/mL . Les coefficients de variation intra et inter essais étaient respectivement de 7,2% et 8,3%. Un second biomarqueur de l'état inflammatoire, le $\text{TNF}\alpha$, était initialement prévu dans ce projet mais dont les concentrations plasmatiques se retrouvaient être en deçà des seuils de détections du kit ELISA après plusieurs années de conservation (440). Ce dernier n'a donc pas pu être utilisé dans les analyses ultérieures.

Les dosages de la LBP, du sCD14 et de l'IL-6 ont été dupliqués et la moyenne des 2 dosages a été utilisée pour les analyses statistiques. Les échantillons ont été randomisés selon le statut cas-témoin sur les plaques de dosage afin de limiter les variations inhérentes aux analyses biologiques. Les dosages ont été réalisés sur les prélèvements sanguins effectués à l'inclusion de 3C-Bordeaux, chez les 636 participants du projet EnIMA.

3.3. Projet NUTENDEM

Le projet NutEnDem, anagramme de « **N**utrition, **E**ndotoxémie et syndrome **D**émentiel », a été mis en œuvre dans l'objectif d'évaluer les relations entre profils alimentaires, taux plasmatiques de AG 3-OHs, utilisés comme un proxy de l'endotoxémie, et syndrome démentiel.

3.3.1. Sélection de l'échantillon d'étude

Après discussion au sein de l'équipe, et au vu d'un intérêt commun partagé pour les endotoxines, l'étude ancillaire de 3C-Bordeaux Alienor, a été choisie pour la réalisation du projet NutEnDem, et notamment pour le dosage des AG 3-OHs.

L'étude Alienor correspond au volet ophtalmologique du centre Bordelais de 3C, dont l'objectif est d'étudier les associations entre facteurs nutritionnels et pathologies oculaires liées à l'âge (441). L'examen ophtalmologique, en parallèle des visites inhérentes à l'étude 3C, a été proposé à tous les participants du suivi à 7 ans du centre Bordelais de 3C. Parmi les 1450 participants revus à 7 ans, 963 (66%) ont accepté de participer à l'étude Alienor dont 785 avaient accepté le prélèvement sanguin à l'inclusion de 3C. Les caractéristiques détaillées des participants de l'étude Alienor ont été décrites précédemment (441). La conception de l'étude a été approuvée par le comité d'éthique de Bordeaux (Comité de Protection des Personnes Sud-ouest et Outre-mer III).

C'est donc parmi les 785 participants de l'étude Alienor qu'ont été mesurés rétrospectivement les AG 3-OHs plasmatiques des LPS. Plus spécifiquement, le projet NutEnDem s'est focalisé sur 698 participants dont les données de fréquentiel alimentaire et de potentiels facteurs de confusion (*c.-à-d.*, âge, sexe, niveau d'éducation, statut tabagique, IMC, hypertension, diabète, taux plasmatiques de HDL, LDL et triglycérides, antécédents de maladies cardiovasculaires et prise de médicaments) étaient intégralement renseignées.

3.3.2. Dosage du marqueur de l'endotoxémie

Au sein du projet NutEnDem, le dosage des AG 3-OHs des endotoxines a été obtenue. Celui-ci a été réalisé de manière similaire, concomitante et par le même laboratoire que pour le projet EnIMA, tel que décrit dans la partie 3.2.2.

Ce chapitre de données disponibles visait à décrire l'ensemble des données disponibles pour ces travaux de thèse. La façon dont ces données ont par la suite été exploitées pour répondre spécifiquement aux objectifs du projet de thèse a été décrite dans les parties méthodologies des chapitre IV et V, décrits ci-dessous.

CHAPITRE IV. PROFILS ALIMENTAIRES ET ENDOTOXÉMIE

4.1. Introduction

De par leur fort potentiel immunostimulant, les endotoxines pourraient participer au déclenchement ou au maintien des phénomènes d'inflammation de bas grade, dont le rôle délétère émerge dans de nombreuses pathologies liées à l'âge. Dans un contexte d'exposition vie-entière aux endotoxines, l'alimentation représenterait une stratégie prometteuse, ciblant l'endotoxémie métabolique comme source substantielle d'inflammation. Alors que la majorité des études se sont focalisées sur l'impact d'un aliment ou un nutriment de manière isolée, l'effet matrice de l'alimentation apparaît comme un facteur clé dans la modulation de la réponse endotoxémique. Bien que d'intérêt majeur dans la compréhension de l'exposition vie-entière aux endotoxines, la relation entre profils alimentaires et endotoxémie reste toutefois peu élucidée, notamment chez les personnes âgées davantage sujettes à l'inflamm'aging et à l'occurrence de multi-comorbidités.

L'objectif principal de cette présente étude a donc été d'évaluer l'association entre les profils alimentaires et les taux circulants d'AG 3-OH, utilisés comme proxy de la quantification totale de LPS plasmatiques, chez les personnes âgées. Les associations entre les niveaux d'AG 3-OH et d'une part la présence d'un syndrome métabolique (incluant une composante d'obésité viscérale) ou d'autre part un état à risque de malnutrition, reflets courants d'un statut nutritionnel altéré, ont été évaluées dans un objectif secondaire.

4.2. Méthodologie statistique

Cette étude a été réalisée au sein du projet NutEnDem, préalablement décrit (voir chapitre 3.3), portant sur un total de 698 participants.

4.2.1. Identification des profils alimentaires *a priori* et *a posteriori*

Étant donné la nature multidimensionnelle de l'alimentation, les données nutritionnelles issues du FFQ ont été exploitées au travers de deux approches complémentaires, *a priori* et *a posteriori* décrites ci-dessous, permettant de synthétiser l'ensemble des données alimentaires disponibles et d'en identifier des profils alimentaires.

4.2.1.1. Le régime Méditerranéen *a priori*

L'approche *a priori* est une approche permettant d'évaluer l'adhérence à un régime alimentaire, ou à des recommandations spécifiques, fondée sur la base de connaissances scientifiques. L'un des profils alimentaires *a priori* les plus étudiés en épidémiologie nutritionnelle est le régime Méditerranéen.

Dans cette étude, l'adhérence au régime Méditerranéen a été évaluée selon le score de Sofi et collaborateurs dont les seuils de consommation ont été dérivés d'une méta-analyse (442). Concrètement, le score d'adhérence au régime Méditerranéen a été calculé à partir de la fréquence de consommation de 8 groupes d'aliments (*c.-à-d.*, légumes (crus et cuits), fruits, poissons, légumineuses, céréales (pâtes, riz, pain et céréales prêtes-à-consommer), produits laitiers, viande et huile d'olive) et de la consommation d'alcool. Pour chaque groupe d'aliments, un nombre de points variant de 0 à 2 a été attribué selon la fréquence de consommation (*c.-à-d.*, 0 point pour une consommation faible d'un aliment considéré comme bénéfique pour la santé ou pour une consommation élevée d'un aliment considéré comme néfaste pour la santé, et jusqu'à 2 points pour une consommation élevée d'un aliment considéré comme bénéfique pour la santé ou pour une consommation faible d'un aliment considéré comme néfaste pour la santé). Spécifiquement pour l'huile d'olive, l'approche suivante a été utilisée pour l'attribution des points : 2 points pour une consommation régulière considérée comme étant la consommation d'huile d'olive de manière exclusive pour l'assaisonnement ou pour la cuisson ; 1 point pour une consommation exclusive ou préférentielle parmi d'autres types de graisses pour l'assaisonnement et/ou pour la cuisson ; 0 point pour une consommation rare ou une non-consommation pour l'assaisonnement et/ou pour la cuisson. Concernant l'alcool, 2 points ont été accordés pour une consommation légère à modérée (*c.-à-d.*, 1 à 2 verres par jour, consommation considérée comme bénéfique), 1 point pour une consommation inférieure à un verre par jour et 0 point pour une consommation supérieure à 2 verres par jour. Les seuils de fréquence de consommation pour chaque groupe alimentaire ont été présentés dans le Tableau 3. L'adhérence au régime Méditerranéen variait ainsi de 0 (non-adhérence) à 18 (adhérence la plus élevée).

Tableau 3. Attribution des points du score Méditerranéen selon les portions des différents groupes alimentaires caractéristiques de ce régime.

Adapté de Sofi et collaborateurs (442).

Groupes alimentaires			
Légumes	< 1 portion/jour 0	1-2.5 portions/jour 1	> 2.5 portions/jour 2
Fruits	< 1 portion/jour 0	1-1.5 portions/jour 1	> 1.5 portions/jour 2
Légumineuses	< 1 portion/semaine 0	1-2 portions/semaine 1	> 2 portions/semaine 2
Poissons et crustacés	< 1 portion/semaine 0	1-2.5 portions/semaine 1	> 2.5 portions/semaine 2
Viandes et charcuterie	< 1 portion/jour 2	1-1.5 portions/jour 1	> 1.5 portions/jour 0
Alcool	< 1 verres/jour 1	1-2 verres/jour 2	> 2 verres/jour 0
Produits laitiers	< 1 portion/jour 2	1-1.5 portions/jour 1	> 1.5 portions/jour 0
Céréales	< 1 portion/jour 0	1-1.5 portions/jour 1	> 1.5 portions/jour 2
Huile d'olive	Consommation occasionnelle 0	Consommation fréquente 1	Consommation régulière 2

4.2.1.2. Profils alimentaires *a posteriori*

L'approche *a posteriori* fait quant à elle référence à l'utilisation de méthodes statistiques permettant de mettre en évidence les dimensions sous-jacentes communes de différents groupes alimentaires. Autrement dit, elle permet d'identifier les groupes d'aliments habituellement consommés de manière concomitante ou au contraire de manière opposée, reflétant ainsi les habitudes et comportements alimentaires au sein d'un échantillon d'étude, qualifiés de « profils alimentaires *a posteriori* » et dérivés des données d'observation.

Dans cette étude, ces profils alimentaires *a posteriori* ont été dérivés d'une analyse factorielle de type analyse en composantes principales (ACP). L'ACP est une méthode statistique de réduction de dimensions particulièrement utile lorsque les variables sont fortement corrélées entre elles, comme c'est le cas pour les données nutritionnelles. Les variables incluses dans la procédure d'analyse factorielle allaient au-delà des 8 groupes d'aliments du régime Méditerranéen et comprenaient la fréquence de consommation normalisée de l'ensemble des 20 groupes d'aliments préalablement décrits dans le chapitre 3.1.2.3 à savoir : légumes crus, légumes cuits, fruits, légumineuses, pain et céréales, œuf, poissons et crustacés, volaille, viande, charcuterie, pâtes, riz, pomme de terre, pizza et sandwich, biscuits, sucreries, produits laitiers, alcool, thé et café (Tableau 2).

L'analyse factorielle permet ainsi de synthétiser l'ensemble de l'information disponible (ici, les données nutritionnelles issues des 20 groupes d'aliments) en un certain nombre de composantes (ici, dénommées profils alimentaires) expliquant le maximum de variance au sein de l'échantillon. Par définition les composantes obtenues sont statistiquement indépendantes les unes des autres. Par conséquent, la première composante explique la variation maximale au sein de l'échantillon, la seconde composante reflétant la variation maximale non prise en compte dans la première composante et ainsi de suite. Chaque nouvelle composante prendra alors progressivement en compte des quantités de plus en plus faibles de variance.

Une méthode de rotation orthogonale de type Varimax a été appliquée, visant à minimiser le nombre de variables fortement corrélées pour chaque composante afin d'en faciliter l'interprétation. Le nombre de composantes retenues a été déterminé en fonction de leurs valeurs propres $> 1,5$ et de leur interprétabilité, conduisant, à partir des 20 groupes d'aliments prédéfinis, à l'obtention de 3 profils alimentaires *a posteriori*.

Le degré de corrélation entre les groupes d'aliments et chacun des 3 profils alimentaires identifiés est donné par les *factor loadings*. La valeur d'un *factor loading* varie entre -1 et +1. Un *factor loading* positif indique une corrélation positive entre la fréquence de consommation d'un groupe d'aliment et l'adhérence au profil alimentaire obtenu (c.-à-d., plus la fréquence de consommation du groupe d'aliment en question est élevée, plus l'adhérence au profil alimentaire est élevée). En revanche, un *factor loading* négatif indique une corrélation inverse entre la fréquence de consommation d'un groupe d'aliment et l'adhérence au profil alimentaire obtenu (c.-à-d., plus la fréquence de consommation du groupe d'aliment en question est élevée, plus l'adhérence au profil alimentaire est faible).

La contribution d'un groupe d'aliment à un profil alimentaire est d'autant plus importante que sa valeur absolue de *factor loading* est élevée. Dans cette étude, les groupes d'aliments ayant des valeurs absolues de *factor loadings* élevées, basées sur un seuil arbitrairement établi de $|\geq 0,40|$, ont été considérés comme contribuant significativement à la caractérisation du profil alimentaire et ont donc été utilisés pour nommer les 3 profils alimentaires *a posteriori* selon notre interprétation : le profil de type « glucides complexes », de type « sud-ouest » et de type « prudent », décrits ultérieurement. Néanmoins, tous les groupes alimentaires (*c.-à-d.*, incluant ceux ayant des valeurs de *factor loadings* supérieures ou inférieures à $|\geq 0,40|$) ont été inclus dans le calcul des scores de profils alimentaires.

Pour chaque participant, un score pour chaque profil alimentaire a été calculé en additionnant les apports des 20 groupes alimentaires pondérés par leurs *factor loadings*. Plus le score à un profil alimentaire est élevé, plus l'adhérence à ce profil est élevée. Contrairement aux approches par clusters (438), ces profils ne sont pas mutuellement exclusifs.

4.2.2. Mini Nutritional Assessment

Utilisé en pratique clinique, le MNA (*Mini Nutritional Assessment*) est un questionnaire de 18 items regroupés en 4 catégories (*c.-à-d.*, mesures anthropométriques, évaluation de l'état global, questionnaire diététique et auto-évaluation) permettant d'identifier les personnes âgées à risque de malnutrition ou malnutries (443). Une procédure en 2 étapes est appliquée pour classer les sujets (444). La première partie du questionnaire (Annexe 4, items A à F et Tableau 4) permet de discriminer les personnes à risque de malnutrition (*c.-à-d.*, ayant un score ≤ 11 sur 14 points) de celles présentant un état nutritionnel normal (*c.-à-d.*, ayant un score supérieur à 11 sur 14 points). La seconde partie du questionnaire (Annexe 4, items G à R) est administrée spécifiquement aux personnes considérées précédemment comme étant à risque de malnutrition : sur un score total variant de 0 à 30 points, un score supérieur à 23,5 indique un état nutritionnel normal, un score compris entre 17 et 23,5 indique un risque de malnutrition et enfin un score inférieur à 17 indique une malnutrition avérée. Dans l'étude 3C, le MNA n'a pas été strictement administré, cependant des items similaires recueillis à travers les questionnaires généraux ont permis de construire un équivalent du MNA à partir d'items proxy, présentant une bonne concordance avec le MNA standard. La validation de ces proxys a fait l'objet d'une étude publiée précédemment (445). En raison d'un faible nombre de personnes considérées comme dénutries dans la cohorte 3C (445), seule la première partie du questionnaire a été utilisée dans cette étude, discriminant les personnes considérées comme à risque de malnutrition de celles ayant un état nutritionnel satisfaisant. L'attribution des points selon les items A à F a été décrite dans le Tableau 4. Dans la présente étude, le score MNA a pu être calculé chez 681 participants (soit près de 98% de l'échantillon).

Tableau 4. Attribution des points pour les items de A à F (première partie) de la version adaptée du questionnaire MNA dans 3C-Bordeaux.

MNA	Items proxy du MNA de 3C-Bordeaux
Item A	Item 2 du CES-D : « Au cours de la semaine dernière, je n’ai pas eu envie de manger, j’ai manqué d’appétit » : 0 : Fréquemment ou tout le temps 1 : Souvent 2 : Occasionnellement, très rarement voire jamais
Item B	Perte de poids au cours des 3 derniers mois : 0 : Perte de plus de 3kg 1 : Ne sait pas 2 : Perte entre 1 et 3kg 3 : Pas de perte de poids
Item C	Restriction de la mobilité : 0 : Confiné au lit 1 : Confiné à la maison 2 : Confinement limitée au quartier, difficulté simple à utiliser les transports voire aucune restriction
Item D	Présence d'un stress psychologique ou d'une maladie aiguë au cours des 3 derniers mois : 0 : Oui 2 : Non
Item E	Présence de troubles neuropsychologiques : 0 : Diagnostic de démence et MMSE < 10, ou présence de symptomatologie dépressive 1 : Diagnostic de démence et MMSE compris entre 10 et 20, absence de symptomatologie dépressive 2 : Pas de diagnostic de démence et MMSE > 20, absence de symptomatologie dépressive
Item F	Indice de masse corporelle (IMC) : 0 : $IMC < 19 \text{ kg/m}^2$ 1 : $19 \text{ kg/m}^2 \leq IMC < 21 \text{ kg/m}^2$ 2 : $21 \text{ kg/m}^2 < IMC \leq 23 \text{ kg/m}^2$ 3 : $IMC \geq 23 \text{ kg/m}^2$

Abréviations : MNA *Mini Nutritional Assessment* ; CES-D *Center for Epidemiological Studies-Depression* ; MMSE *Mini Mental State Examination*.

4.2.3. Syndrome métabolique

Le syndrome métabolique est un ensemble de 5 composantes (c.-à-d., obésité viscérale, résistance à l'insuline, pression artérielle élevée, faible taux de HDL et taux élevé de triglycérides) reconnues comme des facteurs de risque qui, lorsqu'ils sont combinés, vont majorer le risque de maladies (ex. cardio-vasculaires, diabète de type 2 ou certains cancers) et de mortalité, plus que ne le voudrait l'effet individuel de chacun des facteurs pris séparément. Dans cette présente étude, le syndrome métabolique a été défini tel que préalablement décrit dans 3C (446), selon les critères du *National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III* (NCEP ATP III) nécessitant la présence d'au moins 3 altérations parmi les paramètres cardiométaboliques suivant, dichotomisés en présence ou absence (447) :

- (i) une tension artérielle systolique élevée (> 130 mmHg), une tension artérielle diastolique élevée (85 mmHg) ou la prise de médicaments antihypertenseurs,
- (ii) un tour de taille élevé (> 88 cm chez les femmes et > 102 cm chez les hommes),
- (iii) un taux de triglycérides élevé (≥ 150 mg/dL soit environ 1,7 mmol/L),
- (iv) un faible taux de cholestérol HDL (< 50 mg/dL chez les femmes, soit environ 1,3mmol/L, et < 40 mg/dL chez les hommes, soit environ 1 mmol/L) et
- (v) une glycémie élevée (≥ 110 mg/dL à jeun, soit environ 6,1 mmol/L, ou ≥ 200 mg/dL non à jeun) ou la prise de médicaments antidiabétiques.

Un total de 684 participants (soit près de 98% de l'échantillon) disposait de l'ensemble des données permettant de définir la présence ou l'absence d'un syndrome métabolique dans cette étude. L'obésité viscérale a également été étudiée comme un paramètre d'exposition isolée, considérant la prévalence de cette affection dans les populations âgées et les données de la littérature faisant état d'un lien étroit entre corpulence et endotoxémie.

4.2.4. Méthodologie statistique

4.2.4.1. Codage des covariables

Afin de caractériser l'échantillon d'étude et d'estimer au mieux la relation entre profils alimentaires, statuts nutritionnels altérés et taux circulants d'AG 3-OH, plusieurs covariables (recueillies à l'inclusion) ont été prises en compte dans cette étude parmi lesquelles (i) des caractéristiques sociodémographiques incluant l'âge, le sexe et le niveau d'éducation (définis en 3 catégories: niveau inférieur à l'école primaire, intermédiaire, universitaire ou équivalent), (ii) des données médicales incluant le diabète (c.-à-d., diabète auto-déclaré ou glycémie à jeun ≥ 7 mmol/L ou glycémie non à jeun ≥ 11 mmol/L ou prise d'un traitement antidiabétique oral), l'hypertension (pression artérielle supérieure à 140/90 mmHg ou prise d'un traitement

antihypertenseur), les antécédents cardiovasculaires (y compris l'infarctus du myocarde ou la chirurgie cardiaque et vasculaire ou l'artérite ou accident vasculaire cérébral), la symptomatologie dépressive (définie comme un score *Centre for Epidemiological Studies Depression Scale (CES-D)* > 17 pour les hommes et > 23 pour les femmes (448)), l'IMC (considéré en 3 catégories : insuffisance pondérale < 21 kg/m², corpulence normale 21-27 kg/m² et surpoids ou obésité > 27 kg/m² ; seuils adaptés aux personnes âgées (449)), le nombre de médicaments consommés par semaine (classés en faible consommation (< 5 médicaments), polymédication (5 à 9 médicaments) ou hyper-polymédication (> 9 médicaments)) et le nombre de médicaments anti-inflammatoires non stéroïdiens et/ou corticoïdes, la santé subjective perçue (considérée en 3 catégories : très bonne ou bonne, moyenne, mauvaise ou très mauvaise), (iii) le statut tabagique (considéré comme non-fumeur, ancien fumeur ou fumeur actuel) et enfin (iv) des données biologiques incluant les taux de LDL, HDL et de triglycérides, exprimés en mmol/L.

4.2.4.2. Analyses statistiques

Les associations entre les profils alimentaires (Méditerranéen ou *a posteriori*) et les taux circulants d'AG 3-OH ont été évaluées à l'aide de modèles de régressions linéaires multivariées. Les modèles ont été ajustés pour les covariables d'intérêt identifiées dans la littérature et tenant compte de la disponibilité des données dans notre étude. Le premier modèle a été ajusté sur l'âge, le sexe et le niveau d'éducation (Modèle 1). Le second modèle a été ajusté sur les covariables du Modèle 1 ainsi que sur le statut tabagique, l'IMC, l'hypertension, le diabète, le profil lipidique (*c.-à-d.*, taux de LDL, HDL et triglycérides), la symptomatologie dépressive, les antécédents de maladies cardiovasculaires, le nombre de médicaments par semaine et la prise d'anti-inflammatoires ou de corticoïdes. Les modèles visant à évaluer la relation entre un profil alimentaire *a posteriori* et les taux d'AG 3-OH ont été mutuellement ajustés sur les 2 autres profils *a posteriori*.

Le coefficient de régression ajusté β et les intervalles de confiance à 95% [IC 95%] ont été présentés. Les conditions d'application du modèle statistique, et notamment la normalité des variables d'intérêt, ont été vérifiées. Les scores aux profils alimentaires Méditerranéen et *a posteriori* ont été utilisés sous la forme de variables continues (augmentation d'un point) dans les analyses, et divisés en terciles (*c.-à-d.*, adhérence faible, intermédiaire et élevée) à des fins descriptives. Afin de respecter le caractère Gaussien de la distribution, la racine carrée des taux circulants d'AG 3-OH a été utilisée dans les analyses et considérée comme une variable continue (augmentation d'une unité). A des fins descriptives, les taux d'AG 3-OH ont été divisés en terciles. Les interactions entre la présence de diabète et les profils alimentaires ont été testées.

Des analyses de sensibilité ont été réalisées :

- (i) en considérant chacun des 20 groupes alimentaires non pas en tant que profil mais de manière isolée et mutuellement ajustés sur les 19 autres groupes alimentaires,
- (ii) en excluant les participants avec des taux très élevés d'AG 3-OH (*c.-à-d.*, > 550 $\mu\text{mol/mL}$, déterminé graphiquement en l'absence de seuil établi dans la littérature, $n=9$) et
- (iii) en identifiant des profils alimentaires *a posteriori* séparément chez les hommes et chez les femmes à des fins exploratoires (ces dernières données sont présentées en Annexe 5).

En analyses secondaires, ont été testées les associations (i) entre les taux d'AG 3-OH et l'état à risque de malnutrition (sans ajustement sur l'IMC, faisant partie intégrante du calcul du score MNA), ainsi que (ii) les associations entre la présence d'un syndrome métabolique ou de chacune de ces composantes mutuellement ajustées (sans ajustement sur les variables composant le syndrome métabolique, à savoir la tension artérielle, le diabète, les taux d'HDL et de triglycérides ainsi que l'IMC).

Les analyses statistiques ont été effectuées à l'aide du logiciel SAS version 9.4 (SAS Institute Inc., Cary, 134 NC, USA) et du logiciel R version 3.3.2 (R Foundation for Statistical Computing, Vienne, Autriche).

4.3. Résultats

4.3.1. Caractéristiques descriptives

4.3.1.1. Caractéristiques descriptives des participants

Les caractéristiques à l'inclusion des 698 participants de la présente étude, globales et selon les terciles d'AG 3-OH, ont été décrites dans le Tableau 5. Les participants étaient âgés en moyenne de 73,1 ans (range 65,4 – 87,0) et étaient principalement (62%) représentés par des femmes. Globalement, les participants présentant des taux élevés d'AG 3-OH (*c.-à-d.*, tercile supérieur de distribution comparé au tercile inférieur) étaient majoritairement des hommes et présentaient un tableau clinique plus défavorable. Toutefois, la santé subjective perçue ne semblait pas différer selon les taux circulants d'AG 3-OH, avec en moyenne seulement 3% des participants se considérant en bonne voire très bonne santé et plus de 60% se considérant en mauvaise voire très mauvaise santé. Environ 7% des sujets présentaient un diabète ; la proportion étant significativement d'autant plus importante que les niveaux circulants d'AG 3-OH étaient élevés (*c.-à-d.*, de 3,5% à 13,3%, respectivement pour les terciles inférieur et supérieur d'AG 3-OH). Des antécédents cardio-vasculaires étaient rapportés chez près de 8% des participants, et dont la fréquence tendait à augmenter selon les taux d'AG 3-OH (*c.-à-d.*, de 5,2% à 10,7%, respectivement pour les terciles inférieur et supérieur d'AG 3-OH). L'indice de masse

corporelle moyen était de 26,3 kg/m², avec près de 40% des participants présentant un surpoids ou une obésité. Au total, plus de 10,1% des participants étaient considérés comme à risque de malnutrition à l'inclusion et près de 15% présentaient un syndrome métabolique. Plus de 6% des participants présentaient une hyper-polymédication ; le nombre moyen de médicaments consommés par semaine étant de 4,1 (SD 2,6). Une symptomatologie dépressive était rapportée chez 6% des participants, avec une fréquence plus faible chez les participants présentant des taux élevés d'AG 3-OH (*c.-à-d.*, 6,9% et 5,2%, respectivement pour le tercile inférieur et supérieur d'AG 3-OH). Le profil lipidique différait peu selon les terciles de distribution des AG 3-OH, toutefois les taux de triglycérides et de LDL étaient légèrement plus élevés dans le tercile supérieur d'AG 3-OH.

Tableau 5. Caractéristiques à l'inclusion des participants du projet NutEnDem (n= 698).

Caractéristiques à l'inclusion	Total (n= 698)		Ter1 AG 3-OH * (n= 232)		Ter2 AG 3-OH * (n= 233)		Ter3 AG 3-OH * (n= 233)	
Sociodémographiques								
Age (années)	73,1	(4,4)	73,2	(4,3)	72,9	(4,4)	73,0	(4,5)
Sexe (Femmes)	432	(61.9)	169	(72,8)	143	(61,4)	120	(51,5)
Niveau d'éducation								
< Etudes primaires	207	(29,7)	76	(32,8)	68	(29,2)	63	(27,0)
Intermédiaire	346	(49,6)	116	(50,0)	115	(49,4)	115	(49,4)
Université ou équivalent	145	(20,7)	40	(17,2)	50	(21,4)	55	(23,6)
Cliniques								
Indice de masse corporelle (kg/m²)								
Corpulence faible (<21 kg/m²)	51	(7,3)	18	(7,8)	13	(5,6)	20	(8,6)
Corpulence normale (21-27 kg/m²)	369	(52,9)	125	(53,9)	122	(52,4)	122	(52,4)
Surpoids (>27 kg/m²)	278	(39,8)	89	(38,4)	98	(42,1)	91	(39,0)
Santé perçue								
Bonne ou très bonne	21	(3,0)	7	(3,0)	7	(3,0)	7	(3,0)
Moyenne	239	(34,2)	85	(36,6)	78	(33,5)	76	(32,6)
Mauvaise ou très mauvaise	438	(62,8)	140	(60,3)	148	(63,5)	150	(64,4)
Diabète	50	(7,2)	8	(3,5)	11	(4,72)	31	(13,3)
Hypertension	529	(75,8)	168	(72,4)	174	(74,7)	187	(80,3)
Antécédents cardiovasculaires	55	(7,9)	12	(5,2)	18	(7,7)	25	(10,7)
Symptomatologie dépressive	42	(6,0)	16	(6,9)	14	(6,0)	12	(5,2)
Statut tabagique								
Non-fumeur	448	(64,2)	162	(69,8)	155	(66,5)	131	(56,2)
Ancient fumeur	219	(31,4)	64	(27,6)	70	(30,0)	85	(36,5)
Fumeur	31	(4,4)	6	(2,6)	8	(3,5)	17	(7,3)

Consommation médicamenteuse								
<5	422	(60,5)	142	(61,2)	136	(58,4)	144	(61,8)
5-9 (polymédication)	232	(33,2)	73	(31,5)	86	(36,9)	73	(31,3)
>9 (hyper-polymédication)	44	(6,3)	17	(7,3)	11	(4,7)	16	(6,9)
Médicaments anti-inflammatoires	110	(15,8)	44	(19,0)	35	(15,0)	31	(13,3)
LDL (mmol/L)	3,6	(0,9)	3,6	(0,8)	3,6	(0,8)	3,7	(0,9)
HDL (mmol/L)	1,6	(0,4)	1,6	(0,4)	1,6	(0,4)	1,6	(0,4)
Triglycérides (mmol/L)	1,2	(0,6)	1,2	(0,5)	1,2	(0,5)	1,3	(0,7)

Alimentaire

Score de régime Méditerranéen (/18)	10,7	(2,0)	10,9	(1,9)	10,6	(2,0)	10,5	(2,1)
-------------------------------------	------	-------	------	-------	------	-------	------	-------

Les valeurs représentent les moyennes (écart-types) ou effectifs (pourcentages). * Ter1 [101,4 – 219,9 μ mol/mL], Ter2 [220,0 – 286,9 μ mol/mL] et Ter3 [287,0 – 926,0 μ mol/mL]. Abréviations : AG 3-OH acides gras 3-hydroxylés ; LDL *Low Density Lipoprotein*; HDL *High Density Lipoprotein*.

4.3.1.2. Caractéristiques descriptives des profils alimentaires

Le score moyen d'adhérence au régime Méditerranéen était de 10,7 (SD 2,0) sur un total de 18 pour l'ensemble de l'échantillon de l'étude, avec un score légèrement plus faible pour les participants se situant dans le tercile supérieur d'AG 3-OH comparativement au tercile inférieur (*c.-à-d.*, une différence moyenne de -0,4 point) mais de manière non significative (Tableau 5).

Les portions hebdomadaires moyennes de chacun des 20 groupes alimentaires selon les terciles du régime Méditerranéen ont été présentées dans le Tableau 6.

Tableau 6. Consommation moyenne pour chaque groupe d'aliment issu du questionnaire de fréquence alimentaire, en portion par semaine ou nombre de verre d'alcool, selon les terciles de profil Méditerranéen (n= 698).

	Profil Méditerranéen		
	Faible adhérence (≤ 9 sur 18)	Adhérence intermédiaire (10-11 sur 18)	Forte adhérence (≥ 12 sur 18)
	n= 187	n= 264	n= 247
Légumes crus	7,3 (5,0)	9,9 (5,2)	11,1 (4,8)
Légumes cuits	8,4 (4,0)	9,9 (4,1)	11,8 (4,0)
Fruits	9,1 (6,6)	13,4 (6,6)	15,6 (5,4)
Légumineuses	0,5 (0,5)	0,6 (0,7)	0,7 (0,6)
Pizza et sandwich	0,5 (1,0)	0,4 (0,8)	0,4 (0,6)
Pomme de terre	2,7 (1,9)	2,6 (1,7)	2,9 (1,6)
Pâte	2,0 (1,6)	2,1 (1,6)	2,1 (1,3)
Riz	1,2 (1,2)	1,3 (1,2)	1,4 (1,1)
Œuf	1,2 (1,0)	1,7 (1,2)	1,5 (1,0)
Volaille	1,6 (1,1)	1,8 (1,4)	1,9 (1,1)
Poisson et crustacés	1,9 (1,3)	2,9 (1,7)	3,6 (1,6)
Viande	5,8 (3,0)	4,4 (2,4)	4,4 (1,9)
Charcuterie	1,7 (2,3)	1,7 (2,2)	1,4 (1,9)
Alcool	13,9 (16,2)	10,0 (11,6)	8,6 (8,6)
Coffee	6,0 (5,4)	6,3 (5,4)	5,8 (5,1)
Thé	2,1 (4,2)	3,1 (4,9)	3,1 (4,8)
Produits laitiers	18,0 (7,6)	15,8 (6,8)	16,3 (7,6)
Pain et céréales	17,1 (6,0)	18,6 (5,0)	19,4 (4,3)
Sucreries	8,2 (6,3)	8,5 (6,6)	8,4 (6,6)
Biscuits	2,5 (3,6)	1,7 (2,9)	2,0 (3,2)

Tous les groupes d'aliments sont considérés en nombre de portions par semaine. Les valeurs représentent les moyennes (écart-types).

Les 3 profils alimentaires *a posteriori* dérivés de l'analyse factorielle représentaient 27,6% de la variance totale de l'échantillon. Le Tableau 7 présente les groupes d'aliments et la matrice de *factor loadings* associés à chacun des trois profils alimentaires *a posteriori* retenus.

Tableau 7. Structure des profils alimentaires identifiés *a posteriori* par analyse en composante principale selon les 20 groupes d'aliments du questionnaire de fréquence alimentaire (n = 698).

	Profil « Glucides complexes »	Profil « Sud-Ouest »	Profil « Prudent »
Factor loadings			
Légumes crus	0,231	0,128	0,443
Légumes cuits	0,190	-0,044	0,661
Fruits	-0,005	-0,203	0,402
Légumineuses	0,275	0,475	0,008
Pizza et sandwich	0,109	0,074	-0,259
Pomme de terre	0,427	0,313	0,045
Pâte	0,639	0,132	-0,187
Riz	0,672	-0,011	-0,152
Œuf	0,500	-0,009	0,041
Volaille	0,436	-0,055	0,156
Poisson et crustacés	0,396	0,009	0,297
Viande	-0,057	0,543	-0,131
Charcuterie	0,128	0,557	-0,264
Alcool	-0,075	0,591	-0,162
Coffee	0,041	0,117	0,034
Thé	0,162	-0,402	-0,137
Produits laitiers	0,184	-0,181	0,034
Pain et céréales	0,285	0,414	0,300
Sucreries	0,260	0,056	-0,223
Biscuits	0,211	-0,290	-0,526
Variance expliquée (%)	10,5	9,2	7,9

Tous les groupes d'aliments sont considérés en nombre de portions par semaine. En gras, les factor loadings $|\geq 0.4|$.

Le premier profil alimentaire était caractérisé par une fréquence de consommation hebdomadaire élevée en riz, pâtes, œufs, volaille, de pommes de terre et de poisson et représentait 10,5% de la variance totale. Ce profil alimentaire a été qualifié de « glucides complexes ». Le second profil alimentaire se caractérisait principalement par des apports élevés en alcool, charcuterie et viande et dans une moindre mesure en légumineuses, pain et céréales prêtes à consommer, ainsi qu'une faible consommation de thé. Par conséquent, cette composante a été qualifiée de profil alimentaire de type « sud-ouest » et expliquait 9,2% de la variance totale. En revanche, le profil alimentaire dénommé « prudent » était caractérisé par une fréquence de consommation élevée de fruits et légumes et une consommation faible de biscuits. Ce profil alimentaire représentait 7,9% de la variance totale.

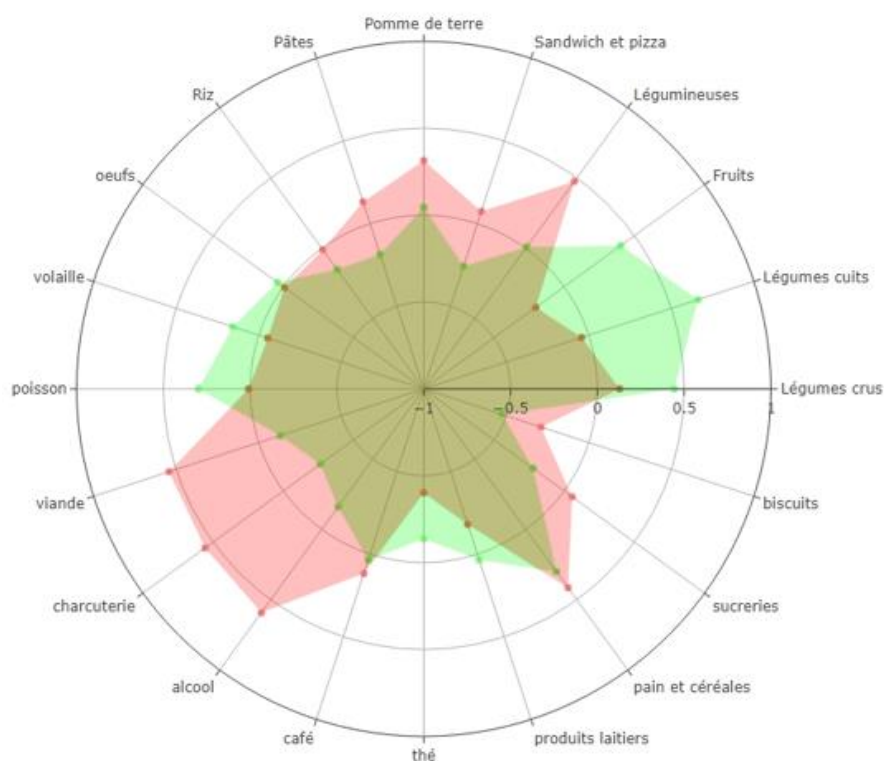


Figure 14. Radar Graphs superposés des profils alimentaires *a posteriori* de type « prudent » (en vert) et « sud-ouest » (en rouge) selon les factor loadings des 20 groupes alimentaires du FFQ.

Afin de faciliter la représentation de chacun des trois profils alimentaires *a posteriori* en termes de consommation, les portions hebdomadaires moyennes de chacun des 20 groupes d'aliments ont été décrites selon les terciles de profils alimentaires « glucides complexes », « sud-ouest » et « prudent » (Tableau 8).

Tableau 8. Consommation moyenne pour chaque groupe d'aliment issu du questionnaire de fréquence alimentaire, en portion par semaine ou nombre de verre d'alcool, selon les terciles de profils alimentaires identifiés a posteriori par analyse en composante principale (n= 698).

	Profil « Glucides complexes »			Profil « Sud-ouest »			Profil « Prudent »		
	Ter1 n= 232	Ter2 n= 233	Ter3 n= 233	Ter1 n= 232	Ter2 n= 233	Ter3 n= 233	Ter1 n= 232	Ter2 n= 233	Ter3 n= 233
Légumes crus	8,1 (4,9)	10,0 (5,4)	10,9 (5,0)	8,6 (5,3)	10,2 (5,0)	10,2 (5,2)	7,0 (4,4)	9,7 (4,8)	12,2 (5,2)
Légumes cuits	9,4 (4,0)	10,0 (4,0)	11,1 (4,5)	10,2 (4,3)	10,5 (4,2)	9,8 (4,1)	7,3 (3,5)	9,8 (2,9)	13,4 (3,6)
Fruits	12,9 (7,3)	13,3 (6,8)	13,0 (6,1)	14,6 (7,1)	13,2 (6,2)	11,5 (6,5)	10,2 (6,1)	12,6 (5,9)	16,3 (6,8)
Légumineuses	0,4 (0,4)	0,6 (0,6)	0,8 (0,7)	0,3 (0,4)	0,6 (0,5)	0,9 (0,8)	0,6 (0,7)	0,6 (0,5)	0,6 (0,6)
Pizza et sandwich	0,3 (0,8)	0,5 (0,8)	0,6 (0,8)	0,4 (0,8)	0,4 (0,8)	0,5 (0,7)	0,6 (1,0)	0,4 (0,8)	0,3 (0,4)
Pomme de terre	1,9 (1,4)	2,8 (1,6)	3,5 (1,8)	2,1 (1,6)	2,7 (1,7)	3,4 (1,6)	2,7 (1,8)	2,7 (1,7)	2,8 (1,7)
Pâte	1,0 (0,8)	2,1 (1,2)	3,2 (1,4)	1,9 (1,6)	2,0 (1,4)	2,3 (1,4)	2,4 (1,6)	2,1 (1,5)	1,8 (1,2)
Riz	0,6 (0,6)	1,1 (0,8)	2,2 (1,4)	1,3 (1,3)	1,3 (1,0)	1,3 (1,1)	1,5 (1,3)	1,3 (1,2)	1,1 (1,0)
Œuf	1,0 (0,8)	1,4 (0,9)	2,1 (1,3)	1,6 (1,4)	1,4 (0,9)	1,5 (1,0)	1,4 (1,1)	1,5 (1,2)	1,5 (1,0)
Volaille	1,3 (0,9)	1,7 (1,0)	2,5 (1,5)	1,9 (1,4)	1,8 (1,2)	1,7 (1,1)	1,6 (1,1)	1,8 (1,2)	2,1 (1,4)
Poisson et crustacés	2,2 (1,4)	3,0 (1,5)	3,5 (1,8)	2,8 (1,8)	2,9 (1,6)	2,9 (1,6)	2,3 (1,3)	2,9 (1,7)	3,5 (1,7)
Viande	4,8 (2,8)	5,0 (2,3)	4,5 (2,3)	3,4 (2,0)	4,6 (1,9)	6,3 (2,6)	5,0 (2,7)	5,0 (2,5)	4,3 (2,3)
Charcuterie	1,3 (1,9)	1,6 (2,3)	1,8 (2,1)	0,6 (1,1)	1,2 (1,4)	2,9 (2,7)	2,3 (2,7)	1,4 (1,8)	1,0 (1,5)
Alcool	11,4 (13,7)	10,9 (12,4)	9,3 (10,1)	4,4 (5,7)	8,7 (7,8)	18,5 (16,0)	13,2 (15,5)	10,2 (10,2)	8,2 (10,0)
Coffee	5,5 (4,9)	6,4 (5,3)	6,2 (5,6)	5,1 (5,2)	6,3 (5,3)	6,7 (5,2)	6,0 (5,3)	6,0 (5,2)	6,1 (5,4)
Thé	2,0 (3,6)	2,7 (4,7)	3,8 (5,4)	5,2 (6,1)	2,1 (3,5)	1,3 (2,9)	3,1 (5,3)	3,0 (4,5)	2,4 (4,1)
Produits laitiers	15,4 (7,0)	15,9 (7,3)	18,3 (7,5)	18,3 (7,9)	16,2 (6,7)	15,1 (7,1)	16,7 (7,7)	15,6 (6,6)	17,3 (7,7)
Pain et céréales	16,5 (6,0)	19,1 (4,6)	19,9 (4,1)	15,7 (6,2)	19,4 (4,2)	20,4 (3,3)	16,7 (5,6)	19,0 (4,6)	19,8 (4,7)
Sucreries	6,6 (5,7)	8,2 (6,3)	10,3 (7,0)	7,6 (6,4)	8,7 (6,6)	8,8 (6,6)	9,8 (7,1)	8,5 (6,1)	6,8 (5,9)
Biscuits	1,4 (2,7)	1,8 (2,9)	2,8 (3,8)	3,2 (4,0)	1,6 (2,6)	1,2 (2,4)	4,0 (4,2)	1,4 (2,2)	0,7 (1,6)

Tous les groupes d'aliments sont considérés en nombre de portions par semaine. Les valeurs représentent les moyennes (écart-types). En gras, les factor loadings ≥ 0.4 .

4.3.1.3. Caractéristiques descriptives des taux d'acides gras 3-hydroxylés

Au sein de l'échantillon d'étude, les taux plasmatiques moyens d'AG 3-OH étaient de 266,4 $\mu\text{mol/mL}$ (SD 100,3 $\mu\text{mol/mL}$) (Tableau 9), avec des taux légèrement plus élevés chez les participants ayant la plus faible adhérence au régime Méditerranéen (tercile inférieur, 276,7 $\mu\text{mol/mL}$), par rapport à ceux ayant une adhérence intermédiaire (261,8 (SD 92,9) $\mu\text{mol/mL}$) ou élevée (263,7 (SD 99,7) $\mu\text{mol/mL}$) de manière non significative. Au niveau des profils *a posteriori*, les taux circulants d'AG 3-OH étaient en moyenne significativement plus faibles chez les participants ayant une adhérence élevée au profil de type « prudent » (de 283,0 à 255,3 $\mu\text{mol/mL}$ (soit approximativement - 10%), respectivement pour les terciles inférieurs et supérieurs) et significativement plus élevés chez les participants ayant une adhérence plus élevée au profil de type « sud-ouest » (de 249,9 à 290,8 $\mu\text{mol/mL}$ (soit approximativement + 16%), respectivement pour les terciles inférieurs et supérieurs) (Tableau 9). En revanche, aucune variation évidente dans les taux circulants d'AG 3-OH n'a été observée selon le degré d'adhérence au profil de type « glucides complexes ».

Tableau 9. Taux plasmatiques moyens d'acides gras 3-hydroxylés selon le sexe et selon les terciles de profils alimentaires (n= 698).

		Total (n= 698)	Profil Méditerranéen			Profil « Glucides complexes »			Profil « Sud-ouest »			Profil « Prudent »		
			Faible adhérence	Adhérence intermédiaire	Forte adhérence	Ter1	Ter2	Ter3	Ter1	Ter2	Ter3	Ter1	Ter2	Ter3
AG 3-OH	($\mu\text{mol/mL}$)	266,4 (100,3)	276,7 (110,4)	261,8 (92,9)	263,7 (99,7)	270,6 (118,7)	266,1 (87,2)	262,6 (92,6)	249,9 (83,4)	258,6 (91,4)	290,8 (118,4)	283,0 (114,6)	261,1 (85,2)	255,3 (97,3)

Les valeurs représentent les moyennes (écart-types). P-value de tendance : <0.001 pour les profils alimentaires « Sud-ouest » et « Prudent ». Abréviations : AG 3-OH acides gras 3-hydroxylés.
Faible adhérence : ≤ 9 sur 18, adhérence intermédiaire 10-11 sur 18 et forte adhérence ≥ 12 sur 18.

4.3.2. Association entre profils alimentaires et taux circulants d'acides gras 3-hydroxylés

Le Tableau 10 présente les résultats des analyses de régressions linéaires multivariées des associations entre les profils alimentaires et les taux circulants d'AG 3-OH. Globalement, une adhérence plus élevée au régime Méditerranéen (coefficient β [IC 95%] : -0,13 [-0,23 ; -0,03] pour chaque point supplémentaire de score) et au profil « prudent » (coefficient β [IC 95%] : -0,28 [-0,48 ; -0,07] pour chaque point supplémentaire de score) était significativement associée à des taux plasmatiques plus faibles d'AG 3-OH, après ajustement sur l'âge, le sexe et le niveau d'étude (Modèle 1). Dans le même modèle d'ajustement, une adhérence plus élevée à un profil de type « sud-ouest » était significativement associée à des taux plasmatiques plus élevés d'AG 3-OH (coefficient β [IC 95%] : 0,31 [0,08 ; 0,53] pour chaque point supplémentaire de score) (Tableau 10, Modèle 1).

L'ensemble de ces associations persistaient après ajustement sur le profil lipidique (*c.-à-d.*, HDL, LDL et triglycérides), les facteurs de risques cardio-vasculaires (*c.-à-d.*, antécédents cardio-vasculaires, IMC, hypertension, diabète, statut tabagique), la symptomatologie dépressive et la consommation médicamenteuse (Tableau 10, Modèle 2).

Aucune association significative n'a été observée entre l'adhérence au profil « glucides complexes » et les taux d'AG 3-OH.

Par ailleurs, aucune interaction significative entre les profils alimentaires et le diabète n'a été mise en évidence dans cette étude.

Tableau 10. Associations multivariables entre profils alimentaires et taux plasmatiques d'acides gras 3-hydroxylés (n= 698).

	Modèle 1			Modèle 2		
	β *	IC 95%	p-value	β *	IC 95%	p-value
Profils <i>a posteriori</i>						
Profil « Glucides complexes »	-0,121	[-0,328 ; 0,085]	0,250	-0,086	[-0,292 ; 0,119]	0,408
Profil « Sud-ouest »	0,305	[0,078 ; 0,532]	0,009	0,223	[0,006 ; 0,457]	0,044
Profil « Prudent »	-0,275	[-0,482 ; -0,069]	0,009	-0,271	[-0,476 ; -0,066]	0,010
Profil <i>a priori</i>						
Profil Méditerranéen	-0,130	[-0,233 ; -0,026]	0,014	-0,117	[-0,220 ; -0,014]	0,027

* Coefficients de régression pour la racine carrée d'AG 3-OH. Modèle 1 ajusté sur l'âge, le sexe et le niveau d'éducation. Modèle 2 ajusté sur les covariables du Modèle 1 + le statut tabagique, l'IMC, l'hypertension, le diabète, la symptomatologie dépressive, HDL, LDL, triglycérides, antécédents cardiovasculaires, nombre de médicaments total par semaine et médicaments anti-inflammatoires. Un ajustement supplémentaire sur les autres profils alimentaires *a posteriori* a été réalisé (excepté pour le profil Méditerranéen). Abréviations : AG 3-OH acides gras 3-hydroxylés ; IMC Indice de masse corporelle ; LDL *low density lipoprotein* ; HDL *high density lipoprotein*.

4.3.3. Analyses de sensibilité

Après exclusion des participants présentant des taux élevés d'AG 3-OH, dont la majorité (*c.-à-d.*, 6 participants sur les 9) souffraient de diabète, les associations persistaient pour les profils alimentaires « prudent » et « sud-ouest » (coefficients β [IC 95%] : -0,24 [-0,43 ; -0,06] et 0,22 [0,02 ; 0,42] respectivement pour chaque point supplémentaire de score), mais l'association devenait non significative pour le régime Méditerranéen (coefficients β [IC 95%] : -0,09 [-0,18 ; 0,01], *p*-value 0,073). Lorsque les groupes alimentaires ont été considérés de manière individualisée et mutuellement ajustés dans les analyses, aucune association significative entre les taux d'AG 3-OH n'a été mise en évidence avec un groupe alimentaire en particulier, que ce soit dans le modèle partiellement (Modèle 1) ou entièrement (Modèle 2) ajusté.

4.3.4. Analyses secondaires

4.3.4.1. Risque de malnutrition et taux circulants d'acides gras 3-hydroxylés

Aucune association n'a été mise en évidence entre les taux d'AG 3-OHs et le fait d'être considéré à risque de malnutrition (*n*= 69 soit près de 10% des participants), que ce soit dans le Modèle 1 (β 0,065 IC95% [-0,627 ; 0,758], *p*-value 0,853) ou le Modèle 2 (β 0,078 IC95% [-0,646 ; 0,802], *p*-value 0,833).

4.3.4.2. Syndrome métabolique et taux circulants d'acides gras 3-hydroxylés

La présence d'un syndrome métabolique (*n*= 102 participants présentant un syndrome métabolique soit près de 15% des participants) était significativement associée à des taux plus élevés d'AG 3-OH (β 0,732 IC95% [0,123 ; 1,341], *p*-value 0,019, Modèle 2). Lorsque les composantes du syndrome métabolique ont été incluses de manière individuelle mais mutuellement ajustées dans le modèle, seule la glycémie était significativement associée à des taux plus élevés d'AG 3-OH (β 1,534 IC95% [0,829 ; 2,239], *p*-value <0,0001). Pour information, la présence d'une obésité viscérale (*n*= 235 participants soit 34% de l'échantillon d'étude) n'était pas associée aux taux d'AG 3-OH (β 0,114 IC95% [-0,352 ; 0,581], *p*-value 0,631).

4.4. Discussion

En utilisant des approches complémentaires dans l'identification de profils alimentaires, cette présente étude souligne que la qualité de l'alimentation semblerait être un facteur clé associé à l'endotoxémie chez la personne âgée. Plus précisément, une meilleure adhérence à des régimes alimentaires considérés comme sains, selon les connaissances scientifiques actuelles, a été associée à des niveaux d'AG 3-OH plasmatiques moins élevés, reflet d'une plus faible endotoxémie.

Une tendance que l'on retrouve en cohérence avec la littérature, mettant en évidence qu'un régime alimentaire sain tel que le régime Méditerranéen était associée à une endotoxémie (et plus précisément une activité biologique des LPS) plus faible chez l'adulte (416,424,428). En ce qui concerne les personnes âgées, l'adoption d'un régime alimentaire de type prudent (*c.-à-d.*, faible en lipides saturés, riche en carbohydrates et en fibres) pendant 1 mois était associée à une diminution de plus d'un tiers de l'endotoxémie à jeun (424). D'autre part, une adhérence plus élevée à un régime Méditerranéen était inversement corrélée à l'endotoxémie chez 912 personnes âgées souffrant de fibrillation atriale non valvulaire (429). Cette dernière étude a notamment rapporté que la consommation de fruits et de légumineuses, parmi les autres composants alimentaires du régime Méditerranéen, était davantage associée à une faible activité endotoxémique ; un résultat qui semble cohérent avec le régime « prudent » dans notre analyse majoritairement caractérisé par une fréquence de consommation élevée en fruits et associé à une plus faible endotoxémie. Par ailleurs, les régimes *a priori* ou *a posteriori* riches en fruits et légumes sont fréquemment associés à un moindre état inflammatoire de bas grade (117,450–452), soutenant l'hypothèse biologiquement plausible de l'exposition réduite aux endotoxines dans ces régimes sains, comparativement à un régime riche en graisses notamment saturées.

En effet, des régimes alimentaires de type obésogènes ainsi que des profils alimentaires identifiés *a posteriori* et caractérisés par une consommation riche en produits carnés et en alcool (bière) sont régulièrement associés à un statut pro-inflammatoire plus important (*ex.* IL6 ou CRP) (117,450,451,453,454). Dans notre étude, une adhérence plus élevée à un régime alimentaire de type « sud-ouest » était associée à une concentration plus importante en AG 3-OH ; des résultats là-aussi cohérents avec la littérature scientifique, relatant que des régimes de type *Western* (*c.-à-d.*, riches en produits carnés et en sucres raffinés) ou pro-obésogènes étaient associés à une activité endotoxémique plus importante (416,424).

Bien qu'il existe un degré de corrélation élevé entre les groupes alimentaires d'un même régime, rendant difficile l'attribution des effets sur la réponse endotoxémique à des composants alimentaires uniques, plusieurs constituants au sein de ces régimes sains ou « sud-ouest » pourraient expliquer, tout du moins en partie, les résultats d'associations obtenus avec les niveaux d'AG 3-OH ; l'effet matrice de l'alimentation pouvant exacerber les effets de chaque constituant.

Tout d'abord, les lipides alimentaires ont été reconnus comme des facteurs majeurs favorisant le passage des endotoxines à travers la barrière intestinale, facilitée par l'incorporation des régions lipidiques du LPS dans les chylomicrons en formation lors de la digestion lipidique (300,412). Parallèlement à cela, la théorie d'un transport passif du LPS est avancée, qui pourrait être facilitée par la capacité des régimes riches en lipides saturés à compromettre l'intégrité et la perméabilité de la barrière intestinale. En effet, une alimentation de type « sud-ouest » sur le long terme est fréquemment associée à l'installation progressive d'un microbiote pro-inflammatoire ainsi qu'une hyperperméabilité intestinale, induisant un passage plus important d'endotoxines vers la circulation sanguine tout au long de la vie (285,303,455). Concernant l'alcool, une consommation légère à modérée (*c.-à-d.*, généralement inférieure à 140g/semaine ; 1 verre d'alcool correspondant approximativement à 10-12g d'alcool pur) a été associée à une plus faible activité endotoxémique comparée à une abstinence (456). Dans cette même optique, une étude a révélé une diminution par rapport aux niveaux initiaux des niveaux d'endotoxines et de LBP sériques suite à la consommation de 272mL de vin rouge (soit environ 2 verres) pendant 20 jours, corrélée à des modifications au niveau du microbiote intestinal (457). Cependant, dans cette étude, la consommation de 272mL de vin rouge concomitante à l'ingestion de 50g de lipides n'a pas atténué les niveaux d'endotoxémie induit par la charge lipidique. Par ailleurs, une consommation excessive d'alcool chez des personnes considérées comme alcooliques a été associée à un taux de LPS jusqu'à 5 fois plus élevé par rapport à des sujets contrôles (458). À l'instar des lipides saturés, une consommation excessive d'alcool est généralement associée à une dysbiose intestinale et une hyperperméabilité de la barrière intestinale (458,459) ; un résultat qui pourrait en partie sous-tendre la relation observée entre régime « sud-ouest » et taux élevés d'AG 3-OH dans cette présente étude. Par ailleurs, nos résultats ont permis d'observer des taux plus élevés d'AG 3-OH chez les personnes diabétiques ; un résultat cohérent avec la littérature soulignant le caractère inflammatoire de la pathologie fréquemment associée à une dysbiose du microbiote intestinal et des niveaux plus élevés d'endotoxines (358,359,460–462). De plus, l'augmentation de la perméabilité intestinale et des modifications dans la composition et la diversité du microbiome intestinal ont également été proposés comme mécanismes potentiels pour expliquer l'augmentation des endotoxines circulantes dans le syndrome métabolique (463,464).

À l'inverse, un apport élevé en fibres ou en polyphénols (omniprésents dans les produits végétaux), parmi d'autres caractéristiques du régime Méditerranéen ou « prudent », pourrait contribuer à limiter l'endotoxémie de par leurs propriétés anti-inflammatoires et prébiotiques favorisant un microbiote sain (347,465,466). Enfin, les phénomènes de détoxification ou encore d'élimination des endotoxines peuvent également être influencés par des facteurs nutritionnels. Par exemple, l'expression de la phosphatase alcaline intestinale (IAP), ayant un rôle crucial dans la détoxification des endotoxines et l'inflammation associée, serait réduite par l'occurrence de régimes alimentaires industrialisés ou de mauvaise qualité nutritionnelle (*ex.* apport sous-optimale en micronutriments et faible teneur en fibres alimentaires) (347).

Ainsi, la quantité d'endotoxines du microbiote intestinal, le passage à travers les barrières physiologiques et les phénomènes de neutralisation et d'élimination seraient tous influencés par l'alimentation. Un effet pléiotrope de l'alimentation qui souligne l'importance des stratégies

nutritionnelles dans la modulation de l'endotoxémie en tant que source d'inflammation chez la personne âgée.

En partie en désaccord avec la littérature, lorsque les apports alimentaires ont été considérés individuellement dans nos analyses, aucune association avec les taux d'AG 3-OH n'a été observée dans notre échantillon, suggérant que l'effet de matrice de l'alimentation apporterait des propriétés plus importantes sur l'endotoxémie qu'un groupe alimentaire spécifique. Dans ce sens, une précédente étude portant sur 668 individus présentant un diabète de type 1 a rapporté une association entre les profils alimentaires *a posteriori* reflétant des choix alimentaires sains (*c.-à-d.*, régime à base de poisson, collations saines et régimes modernes) et des niveaux circulants plus faibles de LPS, alors qu'aucune association de ce type n'a été observée avec l'apport en macronutriments (428).

Bien que nos résultats fournissent des preuves importantes sur l'association entre les profils alimentaires et la charge plasmatique en LPS chez les personnes âgées, certaines limites doivent être reconnues. Premièrement, le *design* transversal de la présente étude ne permet pas de conclure sur la causalité de l'association. Ensuite, en raison d'une multitude de molécules LPS dont les effets biologiques diffèrent selon leur structure, il est difficile de traduire les taux d'AG 3-OH évalués par LC-MS/MS (quantification totale des formes actives et inactives) en endotoxémie réellement effective. Bien que largement répandue, la méthode de dosage LAL mesurant uniquement la fraction biologiquement active des endotoxines est susceptible d'induire des résultats faussement positifs ou négatifs, en particulier en cas de neutralisation des LPS par les lipoprotéines (467,468). Le choix de la méthode LC-MS/MS appliquée ici a toutefois permis de réduire les limites de détection et de quantification, comparativement à la méthode LAL. De plus, alors que l'activité biologique diminue rapidement suite à un pic de LPS dans la circulation sanguine, la concentration en AG 3-OH reste stable dans le temps et pourrait ainsi représenter un indicateur plus fiable de la charge en LPS à plus long terme, et notamment à jeun (331). Enfin, malgré la prise en compte d'un large éventail de facteurs de confusion potentiels, nous ne pouvons pas exclure que certains facteurs résiduels puissent expliquer ces observations, comme la taille des portions des groupes alimentaires - non disponibles dans le FFQ de 3C.

Les points forts de cette présente étude incluent l'originalité de la population cible, à savoir les personnes âgées, une taille d'échantillon importante ainsi que l'utilisation d'approches complémentaires dans l'identification des profils alimentaires. En outre, le caractère *a posteriori* de cette approche, ne se basant sur aucune hypothèse prédéfinie, est notamment utile à des fins exploratoires puisqu'il permet de prendre en compte une diversité alimentaire plus importante qui ne se limite pas aux connaissances actuelles. Par ailleurs, le choix du score d'adhérence au régime Méditerranéen *a priori*, dont les seuils de consommation pour chacun des groupes alimentaires ont été dérivés d'une revue de la littérature ont permis d'éviter le recours à des seuils dépendants de l'échantillon (*ex.* basé sur la médiane de consommation), favorisant ainsi la possibilité de reproductibilité de l'étude.

Conclusion

Les résultats de cette étude mettent ainsi en évidence que l'alimentation, considérée comme un ensemble et non stigmatisée sur un aliment en particulier, pourrait représenter une stratégie prometteuse ciblant l'endotoxémie comme source majeure d'inflammation chez la personne âgée, susceptibles de présenter des multi-comorbidités.

Ces résultats ont été valorisés lors de congrès Européens (voir partie valorisation scientifique) et sous la forme d'un article scientifique (Annexe 6), actuellement soumis au journal *American Journal of Clinical Nutrition*.

Dans la continuité de ce projet, et pour répondre au second objectif de thèse, les relations entre biomarqueurs de l'endotoxémie plasmatique et risque de démence ont été évaluées et décrites dans le chapitre V, ci-dessous.

CHAPITRE V. ENDOTOXÉMIE ET RISQUE DE DÉMENCE

5.1. Introduction

Alors que les preuves s'accumulent sur un rôle potentiellement majeur du système immunitaire et notamment de l'exposition aux endotoxines dans la pathologie d'Alzheimer, la longue phase préclinique de la maladie pouvant s'étendre sur plusieurs années avant l'apparition des manifestations cliniques incite à interpréter les résultats avec précaution. En effet, il reste difficile de séparer dans les études transversales dont on dispose aujourd'hui la cause de la conséquence ou même du potentiel rôle aggravateur que pourrait induire l'exposition chronique de bas grade aux endotoxines.

L'objectif a donc été d'évaluer les associations entre les biomarqueurs plasmatiques de l'exposition aux endotoxines mesurés à l'inclusion et le risque de survenue de démence ou de maladie d'Alzheimer au sein de deux études complémentaires de *design* longitudinal : le projet EnIMA et le projet NutEnDem.

5.2. Méthodologie et résultats du projet EnIMA

La première analyse a été réalisée au sein du projet cas-témoin niché EnIMA, préalablement décrit (voir chapitre 3.2), portant sur un total de 212 cas incidents de maladie d'Alzheimer (probable, possible ou mixte) sur 12 ans de suivi appariés en densité d'incidence sur l'âge, le sexe et le niveau d'étude à l'inclusion à 2 témoins chacun indemnes de démence. Un total de 636 participants a été inclus dans cette analyse de type cas-témoin niché dans la cohorte 3C-Bordeaux.

Dans cette présente étude, les biomarqueurs plasmatiques de l'exposition aux endotoxines suivants étaient disponibles : les acides gras 3-hydroxylés des LPS (AG 3-OH), la *Lipopolysaccharides-Binding Protein* (LBP) et la forme soluble du *Cluster of Differentiation-14* (sCD14). Un marqueur inflammatoire, l'*Interleukin-6* (IL-6) a également été dosé chez tous les participants inclus.

5.2.1. Méthodologie statistique

5.2.1.1. Codage des covariables

Plusieurs covariables ont été prises en compte dans les analyses afin d'estimer au mieux les relations entre biomarqueurs de l'exposition aux endotoxines circulantes et risque de maladie d'Alzheimer incluant (i) le génotypage ApoE4, (ii) la présence de multi-comorbidités défini à l'aide d'un score continu représentant le nombre de comorbidités parmi les suivantes (les participants présentant 4 comorbidités ou plus ont été regroupés en une seule catégorie ≥ 4) : cancer toutes causes confondues, le diabète (c.-à-d., diabète auto-déclaré ou glycémie à jeun ≥ 7 mmol/L ou glycémie non à jeun ≥ 11 mmol/L ou prise d'un traitement antidiabétique oral), l'hypertension (pression artérielle supérieure à 140/90 mmHg ou prise d'un traitement antihypertenseur), les antécédents cardiovasculaires (y compris l'infarctus du myocarde ou la chirurgie cardiaque et vasculaire ou l'artérite ou accident vasculaire cérébral), la symptomatologie dépressive (définie comme un score *Center for Epidemiological Studies Depression Scale (CES-D)* > 17 pour les hommes et > 23 pour les femmes (448)), l'asthme et hypercholestérolémie (cholestérol $\geq 6,2$ mmol/L ou la prise d'un traitement hypocholestérolémiant), (iii) l'IMC (considéré en 3 catégories : insuffisance pondérale < 21 kg/m², corpulence normale 21-27 kg/m² et surpoids ou obésité > 27 kg/m² ; seuils adaptés aux personnes âgées (449)), (iv) le nombre de médicaments consommés par semaine (classés en faible consommation (< 5 médicaments), polymédication (5 à 9 médicaments) ou hyper-polymédication (> 9 médicaments)) et le nombre de médicaments anti-inflammatoires non stéroïdiens et/ou corticoïdes et enfin (v) le score d'adhérence au régime Méditerranéen (range de 0 à 18, considéré comme une variable continu et tel que décrit dans le chapitre 4.2.1.1).

5.2.1.2. Analyses statistiques

Les variables quantitatives et qualitatives ont été exprimées sous forme de médianes $\pm$ intervalles interquartiles (IQR) ou de fréquences (pourcentages) et comparées à l'aide du test t de Student pour données appariées (test de Wilcoxon pour les variables non gaussiennes ou test χ^2 de McNemar basé sur le statut cas-témoins, respectivement).

Les associations entre biomarqueurs de l'endotoxémie et risque de maladie d'Alzheimer à 12 ans ont été évaluées à l'aide de modèles de régressions logistiques conditionnelles multivariées tenant compte du *design* cas-témoin niché et apparié en densité d'incidence.

Pour chaque individu i de la strate k (chaque strate étant composée d'un cas et de ses témoins), le modèle s'écrit :

$$\text{logit } P(y_{ki} = 1 | x_{ki1}, \dots, x_{kip}) = \alpha_k + \beta_1 x_{ki1} + \dots + \beta_j x_{kij} + \dots + \beta_p x_{kip}$$

Où

$y_{ik} = 1$ si un participant i appartenant à la strate k est un cas et $y_{ik} = 0$ si un participant i appartenant à la strate k est un témoin,

x_{kij} est la valeur observée de la $j^{\text{ème}}$ (j variant de 1 à p) variable explicative X_j pour le participant i appartenant à la strate k , et

β_j (j variant de 1 à p) est le paramètre de régression associé à la variable X_j . Les variables X_j représentant les variables d'exposition principale et d'ajustement incluses dans le modèle. Le paramètre β_j a la même valeur pour toutes les strates (β_j ne dépend pas de k) et représente l'effet de la variable X_j sur le logit de P . Son exponentielle étant égale au rapport de cotes (RC) associé à la variable X_j .

α_k (k variant de 1 à k) est le seul paramètre propre à la strate k . Sa valeur varie d'une strate à l'autre mais est la même pour tous les sujets i d'une même strate (α_k ne dépend pas de i). Ce paramètre α_k représente ainsi tous les facteurs pour lesquels tous les sujets i de la strate k ont la même valeur, en particulier les variables d'appariement (par définition, chaque cas et ses témoins qui lui sont appariés ont la même valeur sur les variables d'appariement). C'est la raison pour laquelle on n'inclut pas les variables d'appariement individuelles comme variables d'ajustement dans le modèle de régression logistique conditionnel.

Lorsque les témoins sont sélectionnés dans la cohorte en densité d'incidence, le RC obtenu dans l'étude cas-témoin est une estimation du rapport des taux d'incidence, également dénommé par abus de langage « risque relatif (RR) ».

Les modèles ont été ajustés sur les covariables d'intérêt identifiées dans la littérature et tenant compte de la disponibilité des données dans notre étude. Le premier modèle a été ajusté sur le génotypage ApoE4, l'IMC et le score de multi-comorbidités (Modèle 1). Le second modèle a été ajusté sur les covariables du Modèle 1 ainsi que sur le nombre de médicaments par semaine et la prise d'anti-inflammatoires ou de corticoïdes (Modèle 2). Dans les Modèles 1 et 2, les biomarqueurs de l'endotoxémie et de l'inflammation ont été analysés séparément ; le dernier modèle étant ajusté sur les covariables du Modèle 2 et simultanément ajusté sur l'ensemble des biomarqueurs de l'endotoxémie (*c.-à-d.*, AG 3-OH, LBP et sCD14) et inflammatoire (*c.-à-d.*, IL-6) (Modèle 3). Suite à la recherche d'éventuelles données aberrantes sur les variables d'intérêt (*c.-à-d.*, AG 3-OH, LBP et sCD14), un participant présentant un taux d'AG 3-OH inférieur à 0 a été exclu des analyses spécifiques à cette variable d'exposition. Étant donné le *design* apparié et du fait que ce participant était un cas de maladie d'Alzheimer, les 2 témoins étant spécifiquement appariés à ce cas ont dû être également exclus de ces analyses, conduisant à un total de 3 participants exclus pour les analyses relatives aux AG 3-OH. Les données manquantes sur les covariables représentant moins de 4% de l'échantillon de l'étude, les valeurs

de la catégorie de référence pour les variables qualitatives ou de médiane pour les variables quantitatives ont été attribuées aux données manquantes.

Les RC ajustés et les intervalles de confiance à 95% [IC 95%] ont été présentés. L'augmentation d'un écart-type des biomarqueurs de l'endotoxémie et de l'inflammation a été utilisée dans l'ensemble des analyses.

Des analyses de sensibilité ont été réalisées :

- (i) avec le ratio LBP:sCD14 et le risque de maladie d'Alzheimer, et
- (ii) avec les terciles de distribution des biomarqueurs de l'endotoxémie et le risque de maladie d'Alzheimer.

Les analyses statistiques ont été effectuées à l'aide du logiciel SAS version 9.4 (SAS Institute Inc., Cary, 134 NC, USA).

5.2.2. Résultats

5.2.2.1. Caractéristiques descriptives

Les caractéristiques à l'inclusion des 636 participants selon le statut cas-témoin ont été décrites dans le Tableau 11. Les participants étaient âgés en moyenne de 76,4 ans (range 66,3 – 87,0) et majoritairement (72%) représentés par des femmes. Près de 44% des participants avaient un faible niveau d'éducation. La durée moyenne de suivi était de 8,6 ans (range 0,76 – 13,3) et l'âge moyen de diagnostic de maladie d'Alzheimer était de 82,4 ans. Dans l'ensemble, les cas incidents de maladie d'Alzheimer ne différaient pas significativement des témoins en ce qui concerne les données médicales (*c.-à-d.*, IMC, présence de multi-comorbidités, diabète, hypertension, symptomatologie dépressive et antécédents cardio-vasculaires). Globalement, 9% des participants présentaient une symptomatologie dépressive, 11,5% présentaient un diabète et 9,3% un antécédent de maladies cardio-vasculaires. L'IMC moyen était de 26,2 kg/m² avec respectivement 33,2% des cas d'Alzheimer et 39,4% des témoins présentant un surpoids. Par ailleurs, les cas incidents de maladie d'Alzheimer consommaient davantage de médicaments à l'inclusion que les témoins (*c.-à-d.*, respectivement 5,3 et 4,5 médicaments par semaine) et étaient plus susceptibles de présenter un génotype ApoE-ε4 (*c.-à-d.*, 28,4% des cas et 14,4% des témoins).

Tableau 11. Caractéristiques à l'inclusion des participants selon le statut de maladie d'Alzheimer sur 12 ans de suivi, étude cas-témoin nichée dans la cohorte 3C-Bordeaux (n= 636).

Caractéristiques à l'inclusion	Cas incidents de maladie d'Alzheimer (n=212)	Témoins (n=424)	p-value
Génotypage ApoE4	60 (28,4)	61 (14,4)	0,001
Indice de masse corporelle (kg/m ²)			0,092
Corpulence faible (< 21)	20 (9,6)	27 (6,4)	
Corpulence normale (21-27)	119 (57,2)	228 (54,2)	
Surpoids (> 27)	69 (33,2)	166 (39,4)	
Multi-comorbidités			0,762
0	24 (11,3)	51 (12,0)	
1	88 (41,5)	193 (45,5)	
2	67 (31,6)	124 (29,3)	
3	23 (10,9)	48 (11,3)	
≥ 4	10 (4,7)	8 (1,9)	
Diabète	31 (15,0)	41 (9,8)	0,199
Antécédents cardio-vasculaires	23 (10,9)	36 (8,5)	0,237
Hypertension	165 (77,8)	334 (78,8)	0,708
Symptomatologie dépressive	25 (11,9)	32 (7,6)	0,250
Hypercholestérolémie	74 (34,9)	152 (35,9)	0,835
Consommation médicamenteuse			0,017
< 5	85 (40,1)	216 (51,0)	
5-9 (polymédication)	95 (44,8)	177 (41,7)	
> 9 (hyper-polymédication)	32 (15,1)	31 (7,3)	
Médicaments anti-inflammatoires	43 (20,3)	66 (15,7)	0,553

Les valeurs représentent les médianes (IQR) ou effectifs (pourcentages). Abréviations : ApoE-ε4 Apolipoprotéine ε4.

En ce qui concerne les taux médians circulants de marqueurs d'endotoxémie plasmatique, les taux de LBP à l'inclusion étaient significativement plus élevés chez les cas incidents de maladie d'Alzheimer que chez les témoins, alors que les taux d'AG 3-OH et de sCD14 à l'inclusion ne différaient pas selon le statut cas-témoin (Tableau 12). Les niveaux d'IL-6 étaient légèrement plus élevés chez les cas que chez les témoins, mais cette différence n'était pas statistiquement significative.

Les coefficients de corrélation de Spearman entre les différents biomarqueurs de l'endotoxémie et de l'inflammation étaient : LBP et AG 3-OH r^2 : 0,01 (p-value 0,76), LBP et sCD14 r^2 : 0,41 (p-value <0,0001), LBP et IL-6 r^2 : 0,22 (<0,0001), AG 3-OH et sCD14 r^2 : 0,12 (<0,01), AG 3-OH et IL-6 r^2 : 0,14 (p-value <0,001) et sCD14 et IL-6 r^2 : 0,20 (p-value <0,0001).

Tableau 12. Taux plasmatiques d'acides gras 3-hydroxylés (AG 3-OH), *Lipopolysaccharides-Binding Protein* (LBP), forme soluble du *Cluster of Differentiation-14* (sCD14) et d'*Interleukin-6* (IL-6) selon le statut de maladie d'Alzheimer sur 12 ans de suivi, étude cas-témoin nichée dans la cohorte 3C-Bordeaux (n= 636).

Biomarqueurs	Cas incidents de maladie d'Alzheimer (n=212)	Témoins (n=424)	p-value
AG 3-OH (pmol/mL) *	222,9 ± 99,0	221,9 ± 87,8	0,844
LBP (µg/mL)	35,0 ± 20,3	30,2 ± 20,6	<0,0001
sCD14 (µg/mL)	3,2 ± 1,6	3,0 ± 1,8	0,072
IL-6 (pg/mL)	3,8 ± 5,5	3,2 ± 5,6	0,179

Les valeurs représentent les médianes ± ranges interquartiles. * n= 633.

5.2.2.2. Association entre biomarqueurs de l'exposition aux endotoxines et risque de maladie d'Alzheimer

Le Tableau 13 présente les résultats des analyses de régressions logistiques conditionnelles multivariées des associations entre les biomarqueurs de l'exposition plasmatique aux endotoxines, le biomarqueur de l'inflammation et le risque de maladie d'Alzheimer à 12 ans de suivi. L'augmentation d'un écart-type de LBP était associée à un sur-risque de plus de 30% de développer une maladie d'Alzheimer (RC [IC 95%] : 1,33 [1,10 ; 1,60]) après ajustement sur le génotype ApoE4, l'IMC et le score de comorbidités (Modèle 1). Cette association persistait après ajustement sur la consommation médicamenteuse et les autres biomarqueurs d'endotoxémie et d'inflammation (*c.-à-d.*, AG 3-OH, sCD14 et IL-6) avec un RC de 1,30 (IC 95% [1,07 ; 1,59]).

Aucune association n'a été mise en évidence entre l'augmentation d'un écart-type d'AG 3-OH (RC [IC 95%] : 0,91 [0,75 ; 1,09]), de sCD14 (RC [IC 95%] : 0,98 [0,81 ; 1,17]) ou d'Il-6 (RC [IC 95%] : 1,09 [0,93 ; 1,29]) et le risque de maladie d'Alzheimer, dans le Modèle 2 (Tableau 13).

Tableau 13. Associations multivariables entre les taux plasmatiques d'acides gras 3-hydroxylés (AG 3-OH), de *Lipopolysaccharides-Binding Protein* (LBP), de la forme soluble du *Cluster of Differentiation-14* (sCD14), de l'*Interleukine-6* (IL-6) et le risque de développer une maladie d'Alzheimer sur 12 ans de suivi, étude cas-témoin nichée dans la cohorte 3C-Bordeaux (n= 636).

Biomarqueurs	Risque de maladie d'Alzheimer *					
	Modèle 1		Modèle 2		Modèle 3	
	RC [IC 95%]	p-value	RC [IC 95%]	p-value	RC [IC 95%]	p-value
AG 3-OH (µmol/mL) **	0,97 [0,91 ; 1,04]	0,378	0,91 [0,96 ; 1,09]	0,323	0,91 [0,75 ; 1,09]	0,285
LBP (µg/mL)	1,33 [1,10 ; 1,60]	0,004	1,29 [1,07 ; 1,57]	0,009	1,30 [1,07 ; 1,59]	0,010
sCD14 (µg/mL)	1,09 [0,92 ; 1,28]	0,316	1,06 [0,89 ; 1,25]	0,537	0,98 [0,81 ; 1,17]	0,787
IL6 (pg/mL)	1,09 [0,92 ; 1,29]	0,305	1,10 [0,93 ; 1,31]	0,283	1,09 [0,93 ; 1,29]	0,279

* Coefficient estimé pour l'augmentation d'un écart-type. ** n= 633 pour les modèles d'AG 3-OH. Les Modèles 1 et 2 ont été réalisés séparément pour chaque biomarqueur. Modèle 1 : ajusté sur le génotypage ApoE4, l'IMC et le score de multi-comorbidité. Modèle 2 : ajusté sur les covariables du Modèle 1 + nombre de médicaments total et spécifique (anti-inflammatoires non stéroïdiens et corticoïdes) consommés par semaine. Modèle 3 : ajusté sur les covariables du Modèle 2 + ajustement simultané sur AG 3-OH, LBP, sCD14 et IL-6 (n= 633). Abréviations: AG 3-OH acides gras 3-hydroxylés ; LBP *Lipopolysaccharides-Binding Protein* ; sCD14 forme soluble du *Cluster of Differentiation-14* ; IL-6 *Interleukin-6* ; ApoE-ε4 Apolipoprotéine ε4 ; IMC Indice de Masse Corporelle.

5.2.2.3. Analyses de sensibilité

Aucune association n'a été rapportée entre le ratio LBP:sCD14 et le risque de maladie d'Alzheimer (RC [IC 95%] : 1,14 [0,96 ; 1,36], p-value 0,143).

Lorsque considérés en terciles, des taux élevés de LBP (*c.-à-d.*, dans le tercile supérieur de distribution comparativement au tercile inférieur) étaient associés à un sur-risque de maladie d'Alzheimer (RC [IC 95%] : 1,83 [1,16 ; 2,91]) dans le Modèle 2 (Tableau 14). L'ajustement supplémentaire sur les AG 3-OH, le sCD14 et l'IL-6 n'a pas modifié la force de l'association (Modèle 3). Lorsque les AG 3-OH ou sCD14 ont été considérés en terciles, aucune association n'a été mise en évidence.

Tableau 14. Associations multivariées entre les taux plasmatiques de *Lipopolysaccharides-Binding Protein* (LBP), considérés en terciles, et le risque de développer une maladie d'Alzheimer sur 12 ans de suivi, étude cas-témoin nichée dans la cohorte 3C-Bordeaux (n= 636).

Risque de maladie d'Alzheimer						
LBP (µg/mL)	Modèle 1		Modèle 2		Modèle 3	
	RC [IC 95%]	p-value	RC [IC 95%]	p-value	RC [IC 95%]	p-value
Tercile 1 (< 24,97)	1,00 [Référence]	0,013 *	1,00 [Référence]	0,034 *	1,00 [Référence]	0,038 *
Tercile 2 (24,97 - 39,03)	1,56 [1,00 - 2,44]	0,048	1,50 [0,96 - 2,34]	0,075	1,52 [0,97 - 2,37]	0,069
Tercile 3 (> 39,03)	1,97 [1,25 - 3,09]	0,003	1,83 [1,16 - 2,91]	0,010	1,87 [1,15 - 3,05]	0,012

* p-value globale. Modèle 1 : ajusté sur le génotypage ApoE4, IMC et le score de multi-comorbidité. Modèle 2 : ajusté sur les covariables du Modèle 1 + nombre de médicaments total et spécifique (anti-inflammatoires non stéroïdiens et corticoïdes) consommés par semaine. Modèle 3 : ajusté sur les covariables du Modèle 2 + ajustement simultané sur AG 3-OH, LBP, sCD14 et IL-6 (n= 633). Abréviations: IMC Indice de Masse Corporelle ; ApoE-ε4 Apolipoprotéine ε4.

Parallèlement, les associations entre les taux plasmatiques d'AG 3-OH et le risque de maladie d'Alzheimer et de démence toutes étiologies confondues ont été analysées de façon complémentaire au sein des participants du projet NutEnDem (*c.-à-d.*, le même projet que celui utilisé dans les analyses d'association entre profils alimentaires et taux d'AG 3-OH présentées dans le chapitre IV) disposant d'un suivi longitudinal de 17 ans pour le diagnostic de démence, et hors du *design* cas-témoin niché du projet EnIMA.

Dans cette étude, seul le dosage des AG 3-OH était disponible (et non la LBP ou le sCD14). Le dosage des AG 3-OH ayant été réalisé de manière concomitante dans les projets EnIMA et NutEnDem, le choix de ce marqueur n'a donc pas été conditionné sur les résultats présentés préalablement dans le projet EnIMA (ci-dessus), mais a été déterminé selon les priorités, les financements disponibles et les besoins et collaborations entre membres de l'équipe.

5.3. Méthodologie et résultats du projet NutEnDem

5.3.1. Méthodologie statistique

La seconde analyse a été réalisée au sein du projet NutEnDem (préalablement décrit dans le chapitre 3.3), portant sur un total de 698 participants disposant d'un suivi maximal de 17 ans après l'inclusion.

5.3.1.1. Codage des covariables

Les covariables à l'inclusion comprenaient (i) des caractéristiques sociodémographiques incluant le sexe et le niveau d'éducation (défini en 3 catégories: niveau inférieur à l'école primaire, intermédiaire, universitaire ou équivalent), (ii) le génotypage ApoE4, (iii) des données médicales incluant le diabète (*c.-à-d.*, diabète auto-déclaré ou glycémie à jeun ≥ 7 mmol/L ou glycémie non à jeun ≥ 11 mmol/L ou prise d'un traitement antidiabétique oral), l'hypertension (pression artérielle supérieure à 140/90 mmHg ou prise d'un traitement antihypertenseur), les antécédents cardiovasculaires (y compris l'infarctus du myocarde ou la chirurgie cardiaque et vasculaire ou l'artérite ou accident vasculaire cérébral), la symptomatologie dépressive (définie comme un score *Center for Epidemiological Studies Depression Scale (CES-D)* > 17 pour les hommes et > 23 pour les femmes (448)), l'IMC (considéré en 3 catégories : insuffisance pondérale < 21 kg/m², corpulence normale 21-27 kg/m² et surpoids ou obésité > 27 kg/m² ; seuils adaptés aux personnes âgées (449)), le nombre de médicaments consommés par semaine (classés en faible consommation (< 5 médicaments), polymédication (5 à 9 médicaments) ou hyper-polymédication (> 9 médicaments)) et le nombre de médicaments anti-inflammatoires non stéroïdiens et/ou corticoïdes, (iv) le statut tabagique (considéré comme non-fumeur, ancien fumeur ou fumeur actuel), (v) des données biologiques incluant les taux de LDL, HDL et de

triglycérides, exprimés en mmol/L et enfin (vi) le score d'adhérence au régime Méditerranéen (range de 0 à 18, considéré comme une variable continu et tel que décrit dans le chapitre 4.2.1.1).

5.3.1.2. Analyses statistiques

Les associations entre les taux circulants d'AG 3-OH et le risque de développer une démence ou une maladie d'Alzheimer ont été évaluées à l'aide d'un modèle à risques proportionnels de Cox à entrée retardée. Ce modèle permet de modéliser le risque instantané de survenue d'un évènement (ici, la démence ou la maladie d'Alzheimer) associée à l'exposition principale (ici, les taux d'AG 3-OH), tout en prenant en compte différents facteurs de confusion potentiels. Ce risque est exprimé par le *Hazard Ratio* ou risque relatif (RR).

Le modèle s'écrit ainsi :

$$\lambda(t \mid x_{1i}, \dots, x_{pi}) = \lambda_0(t) \exp(\beta_1 x_{1i} + \dots + \beta_p x_{pi})$$

Avec λ représentant la fonction de risque instantané au temps t pour le sujet i ayant les caractéristiques $X_{1i}, \dots, X_{pi}$. Le paramètre $\lambda_0(t)$ correspond au risque instantané de base au temps t pour un sujet i dont toutes les valeurs des variables X seraient égales à 0. Les paramètres $\beta_1, \dots, \beta_p$ sont les coefficients de régression quantifiant l'effet de chaque variable X sur le risque instantané d'évènement ajusté sur toutes les autres variables.

L'âge a été choisi comme axe du temps, et une troncature à gauche a été réalisée sur l'âge à l'inclusion (correspondant à la date d'origine). Les cas prévalents de démence ont été exclus des analyses. L'âge au diagnostic de démence ou de maladie d'Alzheimer a été censuré par intervalles. Autrement dit, l'âge au diagnostic a été calculé comme étant l'âge moyen du participant entre la dernière visite de suivi sans démence et la visite de suivi à laquelle le diagnostic a été posé. Pour les participants ne présentant pas de démence incidence, les données ont été censurées à la date de la dernière visite de suivi.

La médiane des taux circulants d'AG 3-OH a été utilisée dans les analyses, discriminant les participants présentant des taux inférieurs à la médiane d'échantillon de ceux présentant des taux supérieurs ou égaux à la médiane d'échantillon. L'hypothèse de proportionnalité des risques a été évaluée graphiquement selon la médiane des AG 3-OH.

Les modèles ont été ajustés pour les covariables d'intérêt identifiées dans la littérature et tenant compte de la disponibilité des données dans notre étude. Le premier modèle a été ajusté sur le sexe, le niveau d'étude et le génotype ApoE-ε4 (Modèle 1). Le second modèle a été ajusté sur les covariables du Modèle 1 ainsi que sur l'IMC, l'hypertension, le diabète, le profil lipidique (c.-à-d., taux de LDL, HDL et de triglycérides), le statut tabagique, les antécédents de maladies cardio-vasculaires, la symptomatologie dépressive, le score d'adhérence au régime Méditerranéen, le nombre médicaments par semaine et la prise d'anti-inflammatoires ou de corticoïdes (Modèle 2).

Un total de 698 participants a été inclus dans les analyses d'association entre les taux circulants d'AG 3-OH et le risque de démence toutes étiologies confondues et un total de 674 participants a été inclus dans les analyses entre les taux circulants d'AG 3-OH et le risque de maladie d'Alzheimer de type probable, possible ou mixte, excluant dans cette analyse spécifique les participants présentant d'autres types de démences incidentes (n= 24).

5.3.2. Résultats

5.3.2.1. Caractéristiques descriptives

Les caractéristiques à l'inclusion des participants du projet NutEnDem ont été préalablement décrites dans le tableau 5 (voir chapitre 4.3.1).

Parmi les 698 participants, 162 (soit 23,2%) ont développé une démence incidente toutes étiologies confondues au cours des 17 ans de suivi (suivi moyen $13,0 \pm 3,9$ ans), avec un âge moyen au diagnostic de 84,9 ans ($\pm 5,3$ ans). Plus spécifiquement, 138 (soit 19,8%) participants ont développé une maladie d'Alzheimer de type probable, possible ou mixte, 14 participants (soit 2,0%) ont développés une démence de type vasculaire, 2 participants ont développés une démence de type Parkinson, 1 participant a développé une démence à corps de Lewy et 7 participants ont développés un autre type de démence ou une démence inclassable.

La médiane d'AG 3-OH était de 253,3 $\mu\text{mol/mL}$ (range interquartile : 104,2 $\mu\text{mol/mL}$) à l'inclusion chez l'ensemble des participants. Dans l'ensemble, des taux significativement plus faibles d'AG 3-OH à l'inclusion étaient observés chez les cas incidents de démence (médiane 242 $\mu\text{mol/mL}$, range interquartile : 97,3 $\mu\text{mol/mL}$) ou de maladie d'Alzheimer (médiane 239,7 $\mu\text{mol/mL}$, range interquartile : 105,0 $\mu\text{mol/mL}$) comparé aux participants ne développant pas de démence dans les 17 ans de suivi (médiane 260,3 $\mu\text{mol/mL}$, range interquartile $\pm 103,6$ $\mu\text{mol/mL}$).

Parmi les participants présentant des taux d'AG 3-OH supérieurs à la médiane, 19,2% étaient des cas incidents de démence toutes étiologies confondues et 16,8% des cas incidents de maladie d'Alzheimer (Tableau 15).

Tableau 15. Distribution des cas incidents de démence toutes étiologies confondues (n total = 698) et de maladie d'Alzheimer (n total= 674) selon la médiane d'AG 3-OH.

Cas incidents	AG 3-OH ($\mu\text{mol/mL}$)	
	< médiane (< 253,3)	$\geq$ médiane ($\geq 253,3$)
Cas incidents de démence (toutes étiologies confondues)	95 (27,2)	67 (19,2)
Cas incidents de maladie d'Alzheimer	81 (24,2)	57 (16,8)

Les valeurs représentent les effectifs (pourcentage). Abréviation : AG 3-OH acides gras 3-hydroxylés.

5.3.2.2. Association entre biomarqueurs de l'exposition aux endotoxines et risque de démence ou de maladie d'Alzheimer

Le Tableau 16 présente les résultats des analyses multivariées entre les taux circulants d'AG 3-OH et le risque de démence toutes étiologies confondues ou de maladie d'Alzheimer. Dans l'ensemble, aucune association n'a été rapportée entre des taux élevés d'AG 3-OH (*c.-à-d.*, supérieurs à la médiane de distribution) et le risque de démence (RR [IC 95%] : 0,80 [0,58 ; 1,11], Modèle 2) ou de maladie d'Alzheimer (RR [IC 95%] : 0,81 [0,56 ; 1,15], Modèle 2) sur une période de suivi de 17 ans comparativement à des taux faibles d'AG 3-OH.

Tableau 16. Associations multivariables entre les taux d'acides gras 3-hydroxylés et le risque de maladie d'Alzheimer ou de démence toutes étiologies confondues sur 17 ans de suivi.

Biomarqueur	Risque de démence toutes étiologies confondues				Risque de maladie d'Alzheimer *			
	Modèle 1		Modèle 2		Modèle 1		Modèle 2	
	RR [IC 95%]	p-value	RR [IC 95%]	p-value	RR [IC 95%]	p-value	RR [IC 95%]	p-value
AG 3-OH (µmol/mL)								
< médiane (< 253,3)	1,00 [Référence]	0,235	1,00 [Référence]	0,183	1,00 [Référence]	0,278	1,00 [Référence]	0,234
≥ médiane (≥ 253,3)	0,82 [0,60 ; 1,14]		0,80 [0,58 ; 1,11]		0,82 [0,58 ; 1,17]		0,81 [0,56 ; 1,15]	

* n= 674 participants pour le risque de maladie d'Alzheimer. Modèle 1 ajusté sur le sexe, le niveau d'étude et le génotypage ApoE4. Modèle 2 ajusté sur les covariables du Modèle 1 + le statut tabagique, l'IMC, l'hypertension, le diabète, la symptomatologie dépressive, HDL, LDL, triglycérides, antécédents cardiovasculaires, nombre de médicaments total par semaine et médicaments anti-inflammatoires et score d'adhérence au régime Méditerranéen. Abréviations : IMC Indice de Masse Corporelle ; ApoE-ε4 Apolipoprotéine ε4.

5.4. Discussion

Au sein de 2 larges études complémentaires de *design* longitudinal, les résultats obtenus ne mettent en évidence aucune association entre les taux d'AG 3-OH mesurés à l'inclusion et le risque de démence toutes étiologies confondues ou le risque de maladie d'Alzheimer, plus d'une décennie après. Étant donné la faible littérature sur les relations entre biomarqueurs de l'endotoxémie, et en particulier les AG 3-OH, et syndrome démentiel, la comparaison de la présente étude avec la littérature scientifique est limitée. Le résultat le plus proche provient de l'étude de Zhang et collaborateurs (396) qui ont observé des niveaux de LPS en moyenne 3 fois plus élevés chez des patients présentant une maladie d'Alzheimer comparativement à des témoins indemnes de la maladie (61 ± 42 pg/mL *versus* 21 ± 6 pg/mL, respectivement), suggérant une possible implication de l'endotoxémie dans les processus pathologiques de la maladie d'Alzheimer. A noter cependant que dans cette étude, le nombre de patients était limité ($n=18$) et probablement atteints de formes sévères de maladie d'Alzheimer, puisqu'ils étaient issus d'une clinique spécialisée sur la mémoire. D'autre part, le *design* transversal de l'étude ne permet pas d'écarter l'hypothèse d'une relation de causalité inverse c'est-à-dire que ce soit la maladie qui puisse être responsable de l'augmentation des taux circulants d'endotoxines et non l'inverse. En effet, du fait du caractère progressif et irréversible de la maladie d'Alzheimer, celle-ci peut mener dans les stades les plus sévères à une perte de l'état de conscience de soi, une détérioration de l'hygiène due à l'installation d'un état de dépendance ou encore à une prise de risque accrue (*ex.* coupures, chutes, infections) ; autant de facteurs qui pourraient favoriser une exposition aux endotoxines exacerbée chez ces personnes fragilisées.

Par ailleurs, alors que la méthode de dosage utilisée dans notre étude permet une quantification totale (formes active et inactive) des endotoxines circulantes, seule la fraction biologiquement active des LPS, mesurée par LAL, a été dosée dans l'étude de Zhang et son équipe (396). Or, ce dosage est susceptible d'induire des faux positifs ou négatifs notamment en cas de neutralisation des endotoxines par les lipoprotéines. Bien que le dosage classique par LAL n'ait pas pu être réalisé dans notre échantillon d'étude du fait qu'il requiert des conditions de prélèvements spécifiques n'ayant pas été prévues lors de la visite de prélèvement sanguin à l'inclusion (*c.-à-d.*, en 1999-2000), la combinaison de ces 2 méthodes de dosages (*c.-à-d.*, LAL et LC-MS/MS) dans les recherches futures pourrait permettre d'estimer d'une part le potentiel immunostimulant de l'ensemble des endotoxines plasmatiques et d'autre part le degré de neutralisation, pouvant différer d'un individu à l'autre. A noter également qu'au-delà de ces paramètres, le potentiel inflammatoire est également souche-dépendant. En effet, il a été rapporté que l'activité toxique des LPS de *Bacteroidetes fragilis* serait 100 à 1000 fois plus faible que celle des LPS de la famille *Enterobacteriaceae* (*ex.* *Escherichia coli*) ou *Desulfovibrionaceae*, mais n'en demeurant pas moins de puissants stimulateurs du système immunitaire inné (469,470).

Contrairement aux taux d'AG 3-OH, des taux plus élevés de LBP à l'inclusion étaient associés à un sur-risque de développer une maladie d'Alzheimer dans les 12 ans, indépendamment de nombreux facteurs de confusion dont l'IL-6. Étant donné le rôle crucial de la LBP dans l'initiation de la réponse immunitaire et inflammatoire face aux endotoxines, celle-ci est

considérée comme un biomarqueur cliniquement pertinent de l'exposition cellulaire effective des endotoxines. Plusieurs études ont en effet démontré le rôle critique de la LBP dans la réponse pro-inflammatoire liée aux endotoxines (471). Nos résultats suggéreraient que la qualité des endotoxines circulantes, et en particulier leur potentiel immunostimulant, serait d'autant plus importante que la quantité circulante dans la pathologie d'Alzheimer.

Les taux de LBP observés dans notre étude, de l'ordre de 30-35 µg/mL, apparaissent plus élevés que chez des participants sains (*c.-à-d.*, de l'ordre de 7 à 20 µg/mL (306,307)). Ces valeurs s'approcheraient de celles observées dans le cas d'obésité ou de syndrome de réponse inflammatoire systémique (SIRS) (307,314) tout en restant en deçà des valeurs observées dans les cas de bactériémies (*c.-à-d.*, 101,4 µg/mL en moyenne (311)). Ainsi, les valeurs de LBP observées au sein des participants de cette présente étude laisseraient suggérer un état inflammatoire de bas grade.

Confortant l'hypothèse d'un potentiel rôle de l'endotoxémie dans la santé cognitive, une précédente étude menée auprès de 44 adultes a notamment mis en évidence que des niveaux plus élevés de LBP étaient associés à une altération de l'intégrité de la substance blanche et des performances cognitives (mémoire de travail et mémoire verbale) indépendamment de l'âge, du biomarqueur inflammatoire CRP ou encore de l'IMC (314). Des taux élevés de LBP (*c.-à-d.*, dans le quartile supérieur de distribution comparativement au quartile inférieur) ont également été associés à de plus faibles performances d'attention et de la vitesse de réponse lors d'un test de reconnaissance de stimuli cibles et non-cibles auprès de 51 femmes âgées de 53 ans en moyenne (402). Toutefois, une récente étude n'a pas rapporté de différence entre les niveaux circulants de LBP chez des participants présentant une maladie d'Alzheimer, atteints de troubles cognitifs légers ou cognitivement sains (406).

Alors que de très faibles doses de LPS sont capables d'activer le système immunitaire et d'initier une réponse périphérique et centrale, la pertinence clinique de la différence de LBP observée entre les cas et les témoins dans notre étude doit être discutée. En l'absence de seuil établi permettant de discriminer des niveaux de LBP considérés comme pathologiques de ceux considérés comme physiologiques, en particulier pour les personnes âgées, les analyses de sensibilité effectuées dans notre étude (*c.-à-d.*, avec les terciles de LBP) ont suggéré un effet dose-réponse entre les niveaux de LBP à l'inclusion et le risque de survenue d'une maladie d'Alzheimer. Des études complémentaires, notamment chez les personnes âgées, sont nécessaires afin de tirer une conclusion définitive et de proposer un seuil cliniquement pertinent de LBP. Enfin, une dysbiose du microbiote intestinal a été observée chez les patients atteints de maladie d'Alzheimer comparativement à des sujets témoins, qui pourrait moduler partiellement le caractère pro-inflammatoire des endotoxines et expliquer certains de nos résultats (296,299,472). Par ailleurs, il est de plus en plus évoqué que la maladie d'Alzheimer pourrait s'initier dans l'intestin et serait étroitement liée au déséquilibre du microbiote intestinal (473).

Contrairement à la LBP, aucune association n'a été observée entre les taux plasmatiques de sCD14 et le risque de maladie d'Alzheimer dans cette présente étude ; des résultant allant à l'encontre d'une étude plus récente, portant sur plus de 4700 participants âgés d'environ 70 ans et issus de 2 cohortes Européennes, rapportant que l'augmentation d'un écart-type de sCD14

était associée à une plus forte atrophie cérébrale, à un déclin cognitif accéléré ainsi qu'un risque accru de 12% de développer une démence incidente dans les années ultérieures (en moyenne de 6 à 10 ans selon la cohorte), indépendamment de l'âge, du sexe, du génotype ApoE-ε4 et de facteurs de risques vasculaires (474). Toutefois, les taux de sCD14 rapportés dans cette étude étaient très hétérogènes entre les 2 cohortes (*c.-à-d.*, taux médians de sCD14 : 16,6 ng/mL (Q1 - Q3 : 14,5 – 19,2 ng/mL) dans la cohorte *Framingham Heart Study* et de 1,6 ng/mL (Q1 - Q3 : 1,4 – 1,8 ng/mL) dans la cohorte *Cardiovascular Health Study*) ; des taux qui apparaissaient largement inférieurs à ceux de la littérature actuelle (de l'ordre du µg/mL). Une possible explication proviendrait de la différence de méthode de quantification utilisée (*c.-à-d.*, test multiplex à base de billes Luminex (Austin, TX) contrairement au dosage classique par méthode Elisa). Étant donné l'absence d'autres marqueurs inflammatoires dans cette étude, il est difficile de juger si les cas incidents de démence présentaient un état inflammatoire exacerbé à l'inclusion contrairement aux sujets indemnes de démence.

L'étude concomitante du mCD14, complémentaire à celle du sCD14, pourrait permettre d'évaluer l'exposition globale au CD14 ; cependant, cette mesure n'était pas disponible dans notre étude.

En ce qui concerne le marqueur inflammatoire IL-6, aucune association n'a été observée entre les niveaux à l'inclusion et le risque de maladie d'Alzheimer dans notre échantillon ; un résultat qui apparaît partiellement en désaccord avec la littérature actuelle. En effet, alors que la plupart des études ont rapporté qu'une élévation des taux d'IL-6 était associée au risque de développer une maladie d'Alzheimer (198,203,475–477), d'autres travaux dont une récente méta-analyse ne rapportent aucune association (211,212,478) voire seulement une association avec la forme précoce de la maladie d'Alzheimer, survenant avant 65 ans (479). Des résultats globalement inconsistants mettant en lumière la complexité des relations entre mécanismes inflammatoires et maladie d'Alzheimer et la nécessité de poursuivre les investigations sur la problématique de l'inflammation dans la maladie d'Alzheimer, depuis les sources d'inflammation potentielles jusqu'à la mise en place des processus inflammatoires mis en évidence par les niveaux de cytokines pro-inflammatoires.

Étant donné que la production d'IL-6 résulte en partie des voies de signalisation induites par les endotoxines, nous nous attendions à observer des niveaux d'IL-6 plus élevés chez les cas incidents de maladie d'Alzheimer à l'instar des taux de LBP. Du fait que la demi-vie de la LBP est plus élevée (12 à 24h) que celle de l'IL-6 (4 à 6h), ces résultats pourraient suggérer l'implication de facteurs environnementaux tel que l'alimentation, augmentant seulement transitoirement l'endotoxémie plasmatique et l'inflammation associée dans la période postprandiale (333,480). Les échantillons sanguins étant obtenus après un jeûne d'une nuit, cette période de jeun pourrait avoir influencée les niveaux de l'IL-6 à la baisse contrairement aux niveaux de LBP demeurant élevés plus d'une dizaine d'heures après. Toutefois inhérent à une quantité importante de données nutritionnelles manquantes (*c.-à-d.*, plus de 30% de l'échantillon dans le projet spécifique EnIMA), l'hypothèse de l'alimentation n'a pas pu être spécifiquement testée dans les analyses d'association avec la LBP due à un manque de puissance statistique, toutefois l'ajustement sur le score d'adhérence au régime Méditerranéen

ne changeait pas l'association avec les AG 3-OH. Par ailleurs, le stockage à -80°C pendant plusieurs années a pu altérer la stabilité de ce biomarqueurs (440).

Alors que ces études s'inscrivent dans les prémices de l'hypothèse de l'exposition aux endotoxines dans la pathogenèse du syndrome démentiel, certaines limites doivent être soulignées. La limite majeure provient de la mesure unique des biomarqueurs à l'inclusion ne permettant pas de refléter d'éventuelles variations dans l'exposition aux endotoxines sur le long terme. Citronberg et collaborateurs (481) ont fourni des informations sur la fiabilité temporelle satisfaisante de la LBP plasmatique à moyen terme, sur plusieurs mois ; cependant la pertinence et la variation sur plusieurs années reste inconnue. Dans le cas où les mesures de LBP seraient impactées après plusieurs années de congélation, on pourrait toutefois s'attendre à un biais non différentiel (*c.-à-d.*, une variation de la même importance) entre les cas et les témoins, n'impactant donc pas les mesures d'associations observées dans cette présente étude. Par ailleurs, un seul marqueur de l'inflammation a pu être utilisé dans notre étude. Un autre marqueur inflammatoire, le TNF α , a été considéré et mesuré mais ses taux étant inférieurs à la limite de détection du kit ELISA, ce biomarqueur n'a donc pas pu être analysé dans la présente étude. Enfin, en raison d'une multitude de molécules LPS dont les effets biologiques diffèrent selon leur structure, les taux d'AG 3-OH évalués par LC-MS/MS (quantification totale des formes actives et inactives) ne permettent pas d'estimer le potentiel immunostimulant des endotoxines. Cependant, alors que la fraction biologiquement active diminue rapidement suite à une exposition aiguë aux LPS, les taux d'AG 3-OH restent stables dans le temps et pourraient ainsi représenter un biomarqueur de l'exposition aux endotoxines à plus long terme (330,331).

Les atouts évidents de ces études reposent notamment sur leur conception longitudinale avec un suivi de plus d'une décennie, minimisant les risques de causalité inverse - sans toutefois pouvoir les annihiler entièrement - la taille importante des échantillons d'études et la prise en considération d'un large panel de facteurs socio-économiques, cliniques, biologiques et de mode de vie dans les analyses contribuant à limiter les biais de confusion potentiels. Par ailleurs, le diagnostic de démence ou de maladie d'Alzheimer étant activement recherché et selon une méthodologie commune aux études et tout au long des suivis, cela a permis de limiter considérablement le biais d'information inhérent aux diagnostics.

Conclusion

Alors qu'aucune association n'a été mise en évidence entre les taux plasmatiques d'AG 3-OH à l'inclusion, reflet de la quantité totale en endotoxines, et le risque de survenue d'une maladie d'Alzheimer, des taux plasmatiques plus élevés de LBP, reflet de l'activation du système immunitaire en réponse aux endotoxines, étaient associés à un sur-risque de maladie d'Alzheimer plus d'une décennie après. Ces résultats suggèreraient l'implication des voies de l'endotoxémie dans la pathogenèse de la maladie d'Alzheimer, dont les mécanismes complexes mériteraient une plus large investigation.

Les résultats du projet EnIMA ont été valorisés lors de congrès Européens et internationaux (voir partie valorisation scientifique) et sous la forme d'un article scientifique (excepté pour les analyses relatives aux acides gras 3-hydroxylés dont les données n'étaient pas encore disponibles au moment de la rédaction et de la soumission de l'article). Cet article a été publié dans *Journal of Alzheimer's Disease* en 2019 :

André P, Samieri C, Buisson C, Dartigues JF, Helmer C, Laugerette F, Féart C. Lipopolysaccharide-Binding Protein, Soluble CD14, and the Long-Term Risk of Alzheimer's Disease: A Nested Case-Control Pilot Study of Older Community Dwellers from the Three-City Cohort. *J Alzheimers Dis.* 2019;71(3):751-761. DOI : 0.3233/JAD-190295 (Annexe 7).

Les autres résultats présentés dans ces travaux de thèse feront l'objet d'une valorisation ultérieure.

CHAPITRE VI. DISCUSSION GÉNÉRALE ET PERSPECTIVES

D'après le rapport mondial Alzheimer 2019 (482), deux personnes sur trois pensent que la démence est la résultante d'un vieillissement normal et une personne sur quatre estime qu'il n'y a rien que l'on puisse faire pour prévenir la démence ; un constat qui met en exergue le fait que les messages de santé publique sur la réduction des risques ne parviennent pas à toucher l'ensemble de la population (483). Une stratégie de plus en plus considérée serait de placer les personnes au cœur de leur santé, de leur prise en charge et du système de santé à plus large échelle, pour qu'elles puissent disposer de l'ensemble des connaissances scientifiques - vulgarisées - leur permettant de faire des choix éclairés pour leur santé, y compris cérébrale, tout au long de la vie.

L'étiologie de la maladie d'Alzheimer étant multifactorielle, nombreux sont les leviers d'action potentiels permettant de limiter la survenue ou la progression de la maladie. Bien que les mécanismes sous-jacents de la pathogenèse de la maladie restent peu élucidés, leur compréhension pourrait permettre d'apporter des arguments supplémentaires visant à appuyer des recommandations efficaces pour maintenir une bonne santé cérébrale dans un modèle d'exposition vie-entière.

En ce sens, ces travaux de thèse ont été menés afin d'approfondir les connaissances d'une part de l'influence de l'alimentation dans l'exposition aux endotoxines, ces dernières étant considérées comme de puissants facteurs pro-inflammatoires, et d'autre part du rôle de l'exposition aux endotoxines dans le cadre du vieillissement cognitif pathologique de la maladie d'Alzheimer.

“Let food be thy medicine and medicine be thy food”

Cet adage souvent cité d'Hippocrate, traditionnellement considéré comme le « père de la médecine », et datant d'il y a plus de deux mille ans pourrait être toujours aussi pertinent aujourd'hui, à une époque où l'on devient de plus en plus conscient de l'importance de l'alimentation pour maintenir la santé. Toutefois, appliqué à la santé cérébrale, l'intérêt de l'alimentation reste encore largement sous-estimé.

Pourtant, de par ses effets pléiotropiques la rendant théoriquement capable d'agir sur de multiples composantes à la fois périphériques et centrales de l'organisme, l'alimentation apparaît comme un facteur contrôlable prometteur dans des perspectives préventives voire même thérapeutiques visant à retarder la sénescence et l'apparition de maladies, dont la démence.

Apportant pas moins de 25 000 composés, la complexité de l'alimentation ne peut toutefois se résumer à une approche visant à étudier les nutriments ou les aliments de manière isolée. À cet effet, ces dernières décennies ont été marquées par l'émergence de l'approche par profils alimentaires, qui peuvent être définis selon deux types d'approches. D'une part, l'approche dite « confirmatoire » consistant à évaluer l'adhérence à un régime alimentaire *a priori* basé sur les connaissances scientifiques actuelles, et d'autre part, l'approche plus « exploratoire » permettant de prendre en compte une plus large diversité des apports alimentaires.

En s'appuyant sur cette double approche de l'exposition alimentaire, ces travaux de thèse suggèrent qu'une alimentation riche en produits d'origine végétale pourrait contribuer à maintenir un environnement systémique favorable en ciblant l'endotoxémie comme source substantielle d'inflammation. Loin de stigmatiser un aliment préjudiciable ou bénéfique en particulier, ces travaux mettent en exergue l'importance de l'effet matrice de l'alimentation et inciteraient plutôt à favoriser la transition d'une alimentation de type pro-obésogène (notamment riche en lipides saturés, sucres raffinés et alcool) vers une alimentation plus saine et diversifiée, riche en fibres et en lipides polyinsaturés (principalement apportés par les poissons gras), dans le but de limiter l'émergence ou le maintien d'un état inflammatoire de bas grade.

Il convient cependant de noter que les retombées de ces travaux en termes de santé publique ne sont pas immédiates ; l'approche du lien entre alimentation et biomarqueur de l'endotoxémie s'inscrivant dans une démarche exploratoire visant à améliorer les connaissances scientifiques. Néanmoins nos résultats apportent des preuves supplémentaires de l'importance de l'alimentation notamment chez les personnes âgées, davantage sujettes aux complications liées à l'inflamm'aging. Étant donné que l'état postprandial représente une condition stressante dans laquelle notre société actuelle passe la plupart de son temps, la portée de ces travaux, sous réserve de réplification, pourrait s'étendre au-delà de la population âgée. Si l'on suppose que l'apport en termes de bénéfices puisse être d'autant plus important que l'intervention est menée précocement dans la vie, l'identification d'un régime alimentaire adapté à l'individu (ex. tenant compte de ses préférences, de la présence éventuelle de comorbidité voire même de son microbiote intestinal) et associé à un moindre profil pro-inflammatoire représente une opportunité prometteuse pour de futures recherches axées sur le large panel que représente les maladies métaboliques ou chroniques à composante inflammatoire. Dans ce contexte, l'utilisation de profil alimentaire basé selon une approche *a priori* dans ces travaux de thèse, et dont les seuils de consommation ne sont pas dépendants de la population d'étude, favorisera la reproductibilité et la comparabilité de futures études avec la nôtre dans un objectif commun d'améliorer les connaissances dans ce domaine émergent.

Ces résultats sont également à intégrer dans un contexte d'évolution constante des tendances alimentaires qui accompagne les transitions technologiques, scientifiques, sociologiques, économiques mais aussi culturelles de notre société. La tendance à l'industrialisation des repas et au prêt-à-consommer, la prise de compléments alimentaires, de pro- et prébiotiques, ou encore l'émergence croissante de pratiques alimentaires limitant (fléxitarisme) ou excluant la consommation de chair animale (végétarisme) voire de tous produits d'origine animale (véganisme), sont susceptibles d'entraîner des changements majeurs dans la santé dans les

prochaines décennies. À l'interface entre les facteurs environnementaux (et en particulier l'alimentation) et la santé, la recherche sur le microbiote intestinal est en plein essor et pourrait offrir de nouvelles possibilités prometteuses dans un contexte de médecine personnalisée. Pour n'en citer qu'un exemple, chez les personnes végétariennes ou véganes, l'apport élevé en fibres provenant de la consommation accrue de produits d'origine végétale résulterait en l'augmentation de la production d'AGCC par les bactéries commensales ayant pour conséquence de réduire le pH local (484). Or, la réduction d'une unité de pH (de 6,5 à 5,5) contribuerait à prévenir le développement d'une flore pathogène (*ex. Escherichia coli* et autres bactéries de la famille *Enterobacteriaceae*) (485). Toutefois, il convient de rappeler qu'une alimentation riche en produits d'origine végétale n'est pas forcément synonyme de qualité nutritionnelle (*ex. mode de cuisson, transformation industrielle*), renforçant la complexité de l'évaluation de l'exposition alimentaire (486). En ce sens, les recommandations de santé publique actuelles, au-delà de promouvoir une alimentation équilibrée et la pratique d'une activité physique régulière, encouragent le « fait-maison », la consommation de produits peu voire non-transformés, issus de l'agriculture biologique ou de productivités locales.

Alors que l'évaluation de l'exposition alimentaire peut être soumise à un biais de mémorisation ou de désirabilité sociale (*c.-à-d.*, omission ou réponse erronée en vue de projeter une image valorisante de soi se ramenant à des normes sociales), l'approche non-ciblée de type métabolomique (*c.-à-d.*, l'identification et la quantification non-ciblées de tous les métabolites dérivés de la digestion et de la biotransformation des aliments et de leurs constituants, présents dans un échantillon biologique) (487,488) pourrait être envisagée comme une perspective à moyen terme de ces travaux de thèse dans l'identification de profils multi-nutriments ou dérivés de l'exposome alimentaire en association avec une plus faible endotoxémie.

« *Les graines d'un vieillissement en bonne santé se sèment tôt* »
(Kofi Annan, 2001, Assemblée mondiale sur le vieillissement)

Bien que les endotoxines émergent en tant que facteur préjudiciable dans de nombreuses et diverses pathologies, il existe un réel besoin de recherche pour comprendre dans quelle mesure l'exposition aux endotoxines pourrait impacter le système nerveux central sur le long terme et contribuer à la pathogenèse ou la progression de la maladie d'Alzheimer. Dans ce contexte, ces travaux de thèse apportent des premiers éléments de réponse en suggérant que l'activation du système immunitaire en réponse aux endotoxines pourrait représenter une composante non négligeable dans la pathogenèse de la maladie d'Alzheimer, sur laquelle il serait possible d'agir en amont (notamment par l'alimentation). Par ailleurs, nos travaux soutiendraient que le potentiel immunostimulant (estimé par la LBP), plus que la quantité en elle-même d'endotoxines (estimée par les AG 3-OH), s'avèrerait davantage préjudiciable dans cette maladie neurodégénérative. Toutefois, ces résultats seraient à confirmer dans d'autres études. Une perspective à court-terme de ce projet de thèse est d'évaluer l'impact des niveaux de biomarqueurs de l'endotoxémie à l'inclusion sur le déclin cognitif, qu'il soit d'origine

pathologique ou non, et l'évolution de biomarqueurs de l'atrophie cérébrale. En effet, les dommages neurologiques, et le déclin des performances cognitives qu'ils suscitent, peuvent débuter précocement dans le vieillissement, bien que plus présents à un âge avancé, et impacter différents domaines cognitifs aspécifiques de la maladie d'Alzheimer. Ils apparaissent généralement concomitants à une qualité de vie défavorable, impactant les activités de la vie quotidienne ou encore la prise de décision.

En l'absence de seuil considéré comme préjudiciable ou pathologique, la répétition de mesures de biomarqueurs de l'endotoxémie au cours du temps permettrait de mieux modéliser l'exposition chronique aux endotoxines ; l'évolution chez une personne prévalant, d'un point de vue clinique, sur une mesure d'exposition unique qui serait dans le spectre « normal » ou « pathologique » de valeurs. Par ailleurs, l'origine des endotoxines étant multifactorielle, les biomarqueurs dont on dispose aujourd'hui ne permettent pas de faire la part entre l'endotoxémie issue du microbiote intestinal, et influencée par l'alimentation, de l'endotoxémie induite par la dissémination à partir d'un foyer infectieux insidieux. En conséquence, l'hypothèse d'une relation de causalité inverse ne peut être exclue malgré l'utilisation d'études au *design* longitudinal ; les personnes âgées et notamment celles en phase préclinique de la démence étant davantage susceptibles de présenter des infections bactériennes. En réalité, il s'agit probablement d'un mix entre causalité vraie et causalité inverse, mais nos résultats étant basés sur des études de cohortes observationnelles, aucune conclusion définitive sur la causalité ne peut être établie.

En théorie, seules les études d'intervention permettent de répondre aux préoccupations de causalité. Classiquement mises en œuvre pour évaluer les effets individuels d'une intervention dans un cadre strict (*c.-à-d.*, étude contrôlée, randomisée et généralement en double insu), elles s'avèrent difficiles à mettre en place dans le domaine de la démence, nécessitant une évaluation de l'intervention sur le très long terme (*c.-à-d.*, plusieurs années voire dizaines d'années avant de mettre en évidence un potentiel bénéfique) qui peut être onéreuse et peu réalisable (*ex.* perte de vue des participants, données manquantes, difficulté de suivre l'observance à l'intervention). Le recours aux études longitudinales s'avère donc aujourd'hui essentiel pour améliorer la compréhension des processus sous-jacents à la maladie d'Alzheimer.

Enfin, l'intégration de l'épidémiologie qualitative à l'épidémiologie quantitative mérite à mon sens d'être plus largement considérée. Du latin « *patiens* » signifiant « celui qui endure » ou « celui qui souffre », la médecine du XXI^{ème} siècle, ou médecine « 5P » (préventive, prédictive, participative, personnalisée, et des preuves) se veut de placer le patient en tant qu'acteur clé de sa santé et non plus comme un acteur passif. En effet, lorsqu'il est question d'apporter des preuves scientifiques permettant de formuler des recommandations auprès des décideurs politiques, l'apport du patient, de ses besoins ou de ses préférences est encore trop souvent considéré comme ayant peu de valeur (489).

Conclusion générale

Alors que de plus en plus d'arguments sont en faveur d'un rôle majeur de l'alimentation dans la qualité du vieillissement cérébral, les mécanismes sous-jacents restent peu compris. Par une approche épidémiologique et exploratoire, ces travaux de thèse contribuent à étayer les connaissances liant l'alimentation, l'exposition aux endotoxines et le vieillissement cérébral pathologique de la maladie d'Alzheimer ; des résultats qui doivent s'intégrer dans une vision holistique de la santé, selon laquelle l'Homme doit être considéré comme un tout, interagissant tout au long de la vie avec son environnement. Une relation bidirectionnelle qui contribuera à façonner la qualité du vieillissement.

« Un état de complet bien-être physique, mental et social, [qui] ne consiste pas seulement en une absence de maladie ou d'infirmité », définition de la santé, OMS.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Alzheimer's Disease International (ADI). World Alzheimer Report 2018 - The state of the art of dementia research: New frontiers. Londres: Alzheimer's Disease International (ADI); septembre 2018.
2. Vieillir en restant actif : cadre d'orientation. Genève, Organisation mondiale de la santé, 2002 (http://whqlibdoc.who.int/hq/2002/WHO_NMH_NPH_02.8_fre.pdf).
3. American Psychiatric Association. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders: DSM-IV. Washington DC: American Psychiatric Association; 1994.
4. Schneider JA, Arvanitakis Z, Bang W, Bennett DA. Mixed brain pathologies account for most dementia cases in community-dwelling older persons. *Neurology*. 2007 Dec 11;69(24):2197–204.
5. Iturria-Medina Y, Sotero RC, Toussaint PJ, Mateos-Pérez JM, Evans AC, Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. Early role of vascular dysregulation on late-onset Alzheimer's disease based on multifactorial data-driven analysis. *Nat Commun*. 2016 21;7:11934.
6. Prince MJ. World Alzheimer Report 2009 [Internet]. 2009 [cited 2020 Sep 23]. Available from: <https://www.alz.co.uk/research/world-report-2009>
7. Beach TG, Monsell SE, Phillips LE, Kukull W. Accuracy of the clinical diagnosis of Alzheimer disease at National Institute on Aging Alzheimer Disease Centers, 2005-2010. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2012 Apr;71(4):266–73.
8. Rogaev EI, Sherrington R, Rogaeva EA, Levesque G, Ikeda M, Liang Y, et al. Familial Alzheimer's disease in kindreds with missense mutations in a gene on chromosome 1 related to the Alzheimer's disease type 3 gene. *Nature*. 1995 Aug 31;376(6543):775–8.
9. Goate A, Chartier-Harlin MC, Mullan M, Brown J, Crawford F, Fidani L, et al. Segregation of a missense mutation in the amyloid precursor protein gene with familial Alzheimer's disease. *Nature*. 1991 Feb 21;349(6311):704–6.
10. Zhu X-C, Tan L, Wang H-F, Jiang T, Cao L, Wang C, et al. Rate of early onset Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis. *Ann Transl Med*. 2015 Mar;3(3):38.
11. McKhann G, Drachman D, Folstein M, Katzman R, Price D, Stadlan EM. Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: report of the NINCDS-ADRDA Work Group under the auspices of Department of Health and Human Services Task Force on Alzheimer's Disease. *Neurology*. 1984 Jul;34(7):939–44.
12. Sperling RA, Aisen PS, Beckett LA, Bennett DA, Craft S, Fagan AM, et al. Toward defining the preclinical stages of Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement J Alzheimers Assoc*. 2011 May;7(3):280–92.

13. McKhann GM, Knopman DS, Chertkow H, Hyman BT, Jack CR, Kawas CH, et al. The diagnosis of dementia due to Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement J Alzheimers Assoc.* 2011 May;7(3):263–9.
14. Jack CR, Knopman DS, Jagust WJ, Petersen RC, Weiner MW, Aisen PS, et al. Tracking pathophysiological processes in Alzheimer's disease: an updated hypothetical model of dynamic biomarkers. *Lancet Neurol.* 2013 Feb;12(2):207–16.
15. Musiek ES, Holtzman DM. Three dimensions of the amyloid hypothesis: time, space and “wingmen.” *Nat Neurosci.* 2015 Jun;18(6):800–6.
16. Herrup K. The case for rejecting the amyloid cascade hypothesis. *Nat Neurosci.* 2015 Jun;18(6):794–9.
17. Streit WJ, Braak H, Del Tredici K, Leyh J, Lier J, Khoshbouei H, et al. Microglial activation occurs late during preclinical Alzheimer's disease. *Glia.* 2018;66(12):2550–62.
18. Zotova E, Nicoll JA, Kalara R, Holmes C, Boche D. Inflammation in Alzheimer's disease: relevance to pathogenesis and therapy. *Alzheimers Res Ther.* 2010 Jan 22;2(1):1.
19. Brown GC. The endotoxin hypothesis of neurodegeneration. *J Neuroinflammation.* 2019 Sep 13;16(1):180.
20. Zhan X, Stamova B, Sharp FR. Lipopolysaccharide Associates with Amyloid Plaques, Neurons and Oligodendrocytes in Alzheimer's Disease Brain: A Review. *Front Aging Neurosci.* 2018;10:42.
21. World Alzheimer Reports | Alzheimer's Disease International [Internet]. 2018 [cited 2020 Sep 23]. Available from: <https://www.alz.co.uk/research/world-report>
22. médicale (Inserm) I national de la santé et de la recherche. Maladie d'Alzheimer : Enjeux scientifiques, médicaux et sociétaux [Internet]. Les éditions Inserm; 2007 [cited 2020 Sep 23]. Available from: <http://www.ipubli.inserm.fr/handle/10608/113>
23. Jacqmin-Gadda H, Alperovitch A, Montlahuc C, Commenges D, Leffondre K, Dufouil C, et al. 20-Year prevalence projections for dementia and impact of preventive policy about risk factors. *Eur J Epidemiol.* 2013 Jun;28(6):493–502.
24. Mura T, Dartigues J-F, Berr C. How many dementia cases in France and Europe? Alternative projections and scenarios 2010-2050. *Eur J Neurol.* 2010 Feb;17(2):252–9.
25. GBD 2016 Dementia Collaborators. Global, regional, and national burden of Alzheimer's disease and other dementias, 1990-2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet Neurol.* 2019;18(1):88–106.
26. Commenges D, Joly P, Letenneur L, Dartigues JF. Incidence and mortality of Alzheimer's disease or dementia using an illness-death model. *Stat Med.* 2004 Jan 30;23(2):199–210.
27. United Nations, Department of Economic and Social Affairs, Population Division (2019). World Population Ageing 2019: Highlights (ST/ESA/SER.A/430).

28. Dodge HH, Buracchio TJ, Fisher GG, Kiyohara Y, Meguro K, Tanizaki Y, et al. Trends in the prevalence of dementia in Japan. *Int J Alzheimers Dis*. 2012;2012:956354.
29. Chan KY, Wang W, Wu JJ, Liu L, Theodoratou E, Car J, et al. Epidemiology of Alzheimer's disease and other forms of dementia in China, 1990-2010: a systematic review and analysis. *Lancet Lond Engl*. 2013 Jun 8;381(9882):2016–23.
30. Wu Y-T, Beiser AS, Breteler MMB, Fratiglioni L, Helmer C, Hendrie HC, et al. The changing prevalence and incidence of dementia over time - current evidence. *Nat Rev Neurol*. 2017 Jun;13(6):327–39.
31. Grasset L, Brayne C, Joly P, Jacqmin-Gadda H, Peres K, Foubert-Samier A, et al. Trends in dementia incidence: Evolution over a 10-year period in France. *Alzheimers Dement J Alzheimers Assoc*. 2016 Mar;12(3):272–80.
32. Norton S, Matthews FE, Barnes DE, Yaffe K, Brayne C. Potential for primary prevention of Alzheimer's disease: an analysis of population-based data. *Lancet Neurol*. 2014 Aug;13(8):788–94.
33. Vermunt L, Sikkes SAM, van den Hout A, Handels R, Bos I, van der Flier WM, et al. Duration of preclinical, prodromal, and dementia stages of Alzheimer's disease in relation to age, sex, and APOE genotype. *Alzheimers Dement J Alzheimers Assoc*. 2019;15(7):888–98.
34. Arrighi HM, Neumann PJ, Lieberburg IM, Townsend RJ. Lethality of Alzheimer disease and its impact on nursing home placement. *Alzheimer Dis Assoc Disord*. 2010 Mar;24(1):90–5.
35. Wattmo C, Londos E, Minthon L. Risk factors that affect life expectancy in Alzheimer's disease: a 15-year follow-up. *Dement Geriatr Cogn Disord*. 2014;38(5–6):286–99.
36. Fitzpatrick AL, Kuller LH, Lopez OL, Kawas CH, Jagust W. Survival following dementia onset: Alzheimer's disease and vascular dementia. *J Neurol Sci*. 2005 Mar 15;229–230:43–9.
37. Ganguli M, Dodge HH, Shen C, Pandav RS, DeKosky ST. Alzheimer disease and mortality: a 15-year epidemiological study. *Arch Neurol*. 2005 May;62(5):779–84.
38. Wimo A, Guerchet M, Ali G-C, Wu Y-T, Prina AM, Winblad B, et al. The worldwide costs of dementia 2015 and comparisons with 2010. *Alzheimers Dement*. 2017 Jan;13(1):1.
39. Mohammad D, Chan P, Bradley J, Lanctôt K, Herrmann N. Acetylcholinesterase inhibitors for treating dementia symptoms - a safety evaluation. *Expert Opin Drug Saf*. 2017 Sep;16(9):1009–19.
40. Arrêté du 29 mai 2018 portant radiation de spécialités pharmaceutiques de la liste mentionnée au premier alinéa de l'article L. 162-17 du code de la sécurité sociale.
41. Cummings JL, Morstorf T, Zhong K. Alzheimer's disease drug-development pipeline: few candidates, frequent failures. *Alzheimers Res Ther*. 2014 Jul 3;6(4):37.

42. Sperling RA, Jack CR, Aisen PS. Testing the Right Target and the Right Drug at the Right Stage. *Sci Transl Med*. 2011 Nov 30;3(111):111cm33.
43. Sevigny J, Chiao P, Bussière T, Weinreb PH, Williams L, Maier M, et al. The antibody aducanumab reduces A β plaques in Alzheimer's disease. *Nature*. 2016 01;537(7618):50–6.
44. Sperling RA, Rentz DM, Johnson KA, Karlawish J, Donohue M, Salmon DP, et al. The A4 study: stopping AD before symptoms begin? *Sci Transl Med*. 2014 Mar 19;6(228):228fs13.
45. Bateman RJ, Benzinger TL, Berry S, Clifford DB, Duggan C, Fagan AM, et al. The DIAN-TU Next Generation Alzheimer's prevention trial: Adaptive design and disease progression model. *Alzheimers Dement J Alzheimers Assoc*. 2017;13(1):8–19.
46. Tramonti F, Bonfiglio L, Bongioanni P, Belviso C, Fanciullacci C, Rossi B, et al. Caregiver burden and family functioning in different neurological diseases. *Psychol Health Med*. 2019;24(1):27–34.
47. Li S, Yan F, Li G, Chen C, Zhang W, Liu J, et al. Is the dementia rate increasing in Beijing? Prevalence and incidence of dementia 10 years later in an urban elderly population. *Acta Psychiatr Scand*. 2007 Jan;115(1):73–9.
48. Fiest KM, Jetté N, Roberts JI, Maxwell CJ, Smith EE, Black SE, et al. The Prevalence and Incidence of Dementia: a Systematic Review and Meta-analysis. *Can J Neurol Sci J Can Sci Neurol*. 2016 Apr;43 Suppl 1:S3–50.
49. Canadian study of health and aging: study methods and prevalence of dementia. *CMAJ Can Med Assoc J J Assoc Medicale Can*. 1994 Mar 15;150(6):899–913.
50. Corrada MM, Brookmeyer R, Paganini-Hill A, Berlau D, Kawas CH. Dementia incidence continues to increase with age in the oldest old: the 90+ study. *Ann Neurol*. 2010 Jan;67(1):114–21.
51. Podcasy JL, Epperson CN. Considering sex and gender in Alzheimer disease and other dementias. *Dialogues Clin Neurosci*. 2016;18(4):437–46.
52. Seshadri S, Wolf PA, Beiser A, Au R, McNulty K, White R, et al. Lifetime risk of dementia and Alzheimer's disease. The impact of mortality on risk estimates in the Framingham Study. *Neurology*. 1997 Dec;49(6):1498–504.
53. Farrer LA, Cupples LA, Haines JL, Hyman B, Kukull WA, Mayeux R, et al. 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 Oct 22;278(16):1349–56.
54. Genin E, Hannequin D, Wallon D, Sleegers K, Hiltunen M, Combarros O, et al. APOE and Alzheimer disease: a major gene with semi-dominant inheritance. *Mol Psychiatry*. 2011 Sep;16(9):903–7.
55. Sadigh-Eteghad S, Talebi M, Farhoudi M. Association of apolipoprotein E epsilon 4 allele with sporadic late onset Alzheimer's disease. A meta-analysis. *Neurosci Riyadh Saudi Arab*. 2012 Oct;17(4):321–6.

56. Corder EH, Saunders AM, Strittmatter WJ, Schmechel DE, Gaskell PC, Small GW, et al. Gene dose of apolipoprotein E type 4 allele and the risk of Alzheimer's disease in late onset families. *Science*. 1993 Aug 13;261(5123):921–3.
57. Tanzi RE. The genetics of Alzheimer disease. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2012 Oct 1;2(10).
58. Scheltens P, Blennow K, Breteler MMB, de Strooper B, Frisoni GB, Salloway S, et al. Alzheimer's disease. *Lancet Lond Engl*. 2016 Jul 30;388(10043):505–17.
59. Livingston G, Sommerlad A, Orgeta V, Costafreda SG, Huntley J, Ames D, et al. Dementia prevention, intervention, and care. *Lancet Lond Engl*. 2017 Dec 16;390(10113):2673–734.
60. Kandimalla R, Thirumala V, Reddy PH. Is Alzheimer's disease a Type 3 Diabetes? A Critical Appraisal. *Biochim Biophys Acta*. 2017 May;1863(5):1078–89.
61. Mittal K, Katare DP. Shared links between type 2 diabetes mellitus and Alzheimer's disease: A review. *Diabetes Metab Syndr*. 2016 Jun;10(2 Suppl 1):S144–149.
62. Biessels GJ, Staekenborg S, Brunner E, Brayne C, Scheltens P. Risk of dementia in diabetes mellitus: a systematic review. *Lancet Neurol*. 2006 Jan;5(1):64–74.
63. Kivipelto M, Ngandu T, Fratiglioni L, Viitanen M, Kåreholt I, Winblad B, et al. Obesity and vascular risk factors at midlife and the risk of dementia and Alzheimer disease. *Arch Neurol*. 2005 Oct;62(10):1556–60.
64. Anstey KJ, Cherbuin N, Budge M, Young J. Body mass index in midlife and late-life as a risk factor for dementia: a meta-analysis of prospective studies. *Obes Rev Off J Int Assoc Study Obes*. 2011 May;12(5):e426–437.
65. Pedditzi E, Peters R, Beckett N. The risk of overweight/obesity in mid-life and late life for the development of dementia: a systematic review and meta-analysis of longitudinal studies. *Age Ageing*. 2016;45(1):14–21.
66. Cova I, Clerici F, Maggiore L, Pomati S, Cucumo V, Ghirelli R, et al. Body Mass Index Predicts Progression of Mild Cognitive Impairment to Dementia. *Dement Geriatr Cogn Disord*. 2016;41(3–4):172–80.
67. Wagner M, Grodstein F, Proust-Lima C, Samieri C. Long-Term Trajectories of Body Weight, Diet, and Physical Activity From Midlife Through Late Life and Subsequent Cognitive Decline in Women. *Am J Epidemiol*. 2020 02;189(4):305–13.
68. Ikeda M, Brown J, Holland AJ, Fukuhara R, Hodges JR. Changes in appetite, food preference, and eating habits in frontotemporal dementia and Alzheimer's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2002 Oct;73(4):371–6.
69. Droogsma E, van Asselt D, De Deyn PP. Weight loss and undernutrition in community-dwelling patients with Alzheimer's dementia: From population based studies to clinical management. *Z Gerontol Geriatr*. 2015 Jun;48(4):318–24.
70. Whitmer RA, Sidney S, Selby J, Johnston SC, Yaffe K. Midlife cardiovascular risk factors and risk of dementia in late life. *Neurology*. 2005 Jan 25;64(2):277–81.

71. Hughes D, Judge C, Murphy R, Loughlin E, Costello M, Whiteley W, et al. Association of Blood Pressure Lowering With Incident Dementia or Cognitive Impairment: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA*. 2020 19;323(19):1934–44.
72. Iadecola C. The pathobiology of vascular dementia. *Neuron*. 2013 Nov 20;80(4):844–66.
73. Ma Y, Wolters FJ, Chibnik LB, Licher S, Ikram MA, Hofman A, et al. Variation in blood pressure and long-term risk of dementia: A population-based cohort study. *PLoS Med*. 2019;16(11):e1002933.
74. Anstey KJ, Ashby-Mitchell K, Peters R. Updating the Evidence on the Association between Serum Cholesterol and Risk of Late-Life Dementia: Review and Meta-Analysis. *J Alzheimers Dis JAD*. 2017;56(1):215–28.
75. Schilling S, Tzourio C, Soumaré A, Kaffashian S, Dartigues J-F, Ancelin M-L, et al. Differential associations of plasma lipids with incident dementia and dementia subtypes in the 3C Study: A longitudinal, population-based prospective cohort study. *PLoS Med*. 2017 Mar;14(3):e1002265.
76. Power MC, Rawlings A, Sharrett AR, Bandeen-Roche K, Coresh J, Ballantyne CM, et al. Association of midlife lipids with 20-year cognitive change: A cohort study. *Alzheimers Dement J Alzheimers Assoc*. 2018;14(2):167–77.
77. Ancelin M-L, Ripoche E, Dupuy A-M, Barberger-Gateau P, Auriacombe S, Rouaud O, et al. Sex differences in the associations between lipid levels and incident dementia. *J Alzheimers Dis JAD*. 2013;34(2):519–28.
78. Reitz C, Tang M-X, Schupf N, Manly JJ, Mayeux R, Luchsinger JA. Association of higher levels of high-density lipoprotein cholesterol in elderly individuals and lower risk of late-onset Alzheimer disease. *Arch Neurol*. 2010 Dec;67(12):1491–7.
79. Liu H-H, Li J-J. Aging and dyslipidemia: a review of potential mechanisms. *Ageing Res Rev*. 2015 Jan;19:43–52.
80. Jeong W, Lee H, Cho S, Seo J. ApoE4-Induced Cholesterol Dysregulation and Its Brain Cell Type-Specific Implications in the Pathogenesis of Alzheimer’s Disease. *Mol Cells*. 2019 Nov 30;42(11):739–46.
81. Xu W, Tan L, Wang H-F, Tan M-S, Tan L, Li J-Q, et al. Education and Risk of Dementia: Dose-Response Meta-Analysis of Prospective Cohort Studies. *Mol Neurobiol*. 2016;53(5):3113–23.
82. Meng X, D’Arcy C. Education and dementia in the context of the cognitive reserve hypothesis: a systematic review with meta-analyses and qualitative analyses. *PloS One*. 2012;7(6):e38268.
83. Diniz BS, Butters MA, Albert SM, Dew MA, Reynolds CF. Late-life depression and risk of vascular dementia and Alzheimer’s disease: systematic review and meta-analysis of community-based cohort studies. *Br J Psychiatry*. 2013 May;202(5):329–35.

84. Fuhrer R, Dufouil C, Dartigues JF, PAQUID Study. Exploring sex differences in the relationship between depressive symptoms and dementia incidence: prospective results from the PAQUID Study. *J Am Geriatr Soc*. 2003 Aug;51(8):1055–63.
85. Jorm AF. History of depression as a risk factor for dementia: an updated review. *Aust N Z J Psychiatry*. 2001 Dec;35(6):776–81.
86. Bennett S, Thomas AJ. Depression and dementia: cause, consequence or coincidence? *Maturitas*. 2014 Oct;79(2):184–90.
87. Durazzo TC, Meyerhoff DJ, Nixon SJ. Chronic Cigarette Smoking: Implications for Neurocognition and Brain Neurobiology. *Int J Environ Res Public Health*. 2010 Oct;7(10):3760–91.
88. Sharma A, Brody AL. In vivo Brain Imaging of Human Exposure to Nicotine and Tobacco. *Handb Exp Pharmacol*. 2009;(192):145.
89. Anstey KJ, von Sanden C, Salim A, O’Kearney R. Smoking as a risk factor for dementia and cognitive decline: a meta-analysis of prospective studies. *Am J Epidemiol*. 2007 Aug 15;166(4):367–78.
90. Rusanen M, Kivipelto M, Quesenberry CP, Zhou J, Whitmer RA. Heavy smoking in midlife and long-term risk of Alzheimer disease and vascular dementia. *Arch Intern Med*. 2011 Feb 28;171(4):333–9.
91. Sabia S, Elbaz A, Dugravot A, Head J, Shipley M, Hagger-Johnson G, et al. Impact of smoking on cognitive decline in early old age: the Whitehall II cohort study. *Arch Gen Psychiatry*. 2012 Jun;69(6):627–35.
92. Choi D, Choi S, Park SM. Effect of smoking cessation on the risk of dementia: a longitudinal study. *Ann Clin Transl Neurol*. 2018 Oct;5(10):1192–9.
93. Swan GE, Lessov-Schlaggar CN. The effects of tobacco smoke and nicotine on cognition and the brain. *Neuropsychol Rev*. 2007 Sep;17(3):259–73.
94. Durazzo TC, Mattsson N, Weiner MW, Alzheimer’s Disease Neuroimaging Initiative. Smoking and increased Alzheimer’s disease risk: a review of potential mechanisms. *Alzheimers Dement J Alzheimers Assoc*. 2014 Jun;10(3 Suppl):S122-145.
95. Letenneur L, Larrieu S, Barberger-Gateau P. Alcohol and tobacco consumption as risk factors of dementia: a review of epidemiological studies. *Biomed Pharmacother Biomedecine Pharmacother*. 2004 Mar;58(2):95–9.
96. Rehm J, Hasan OSM, Black SE, Shield KD, Schwarzing M. Alcohol use and dementia: a systematic scoping review. *Alzheimers Res Ther [Internet]*. 2019 Jan 5 [cited 2020 Sep 23];11. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6320619/>
97. Xu W, Wang H, Wan Y, Tan C, Li J, Tan L, et al. Alcohol consumption and dementia risk: a dose-response meta-analysis of prospective studies. *Eur J Epidemiol*. 2017;32(1):31–42.

98. Lefèvre-Arbogast S, Gaudout D, Bensalem J, Letenneur L, Dartigues J-F, Hejblum BP, et al. Pattern of polyphenol intake and the long-term risk of dementia in older persons. *Neurology*. 2018 29;90(22):e1979–88.
99. Piazza-Gardner AK, Gaffud TJB, Barry AE. The impact of alcohol on Alzheimer’s disease: a systematic review. *Aging Ment Health*. 2013;17(2):133–46.
100. Blondell SJ, Hammersley-Mather R, Veerman JL. Does physical activity prevent cognitive decline and dementia?: A systematic review and meta-analysis of longitudinal studies. *BMC Public Health*. 2014 May 27;14:510.
101. Guure CB, Ibrahim NA, Adam MB, Said SM. Impact of Physical Activity on Cognitive Decline, Dementia, and Its Subtypes: Meta-Analysis of Prospective Studies. *BioMed Res Int*. 2017;2017:9016924.
102. Sofi F, Valecchi D, Bacci D, Abbate R, Gensini GF, Casini A, et al. Physical activity and risk of cognitive decline: a meta-analysis of prospective studies. *J Intern Med*. 2011 Jan;269(1):107–17.
103. Wahid A, Manek N, Nichols M, Kelly P, Foster C, Webster P, et al. Quantifying the Association Between Physical Activity and Cardiovascular Disease and Diabetes: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Am Heart Assoc*. 2016 14;5(9).
104. Stephen R, Hongisto K, Solomon A, Lönnroos E. Physical Activity and Alzheimer’s Disease: A Systematic Review. *J Gerontol Ser A*. 2017 Jun 1;72(6):733–9.
105. Vauzour D, Camprubi-Robles M, Miquel-Kergoat S, Andres-Lacueva C, Bánáti D, Barberger-Gateau P, et al. Nutrition for the ageing brain: Towards evidence for an optimal diet. *Ageing Res Rev*. 2017 May;35:222–40.
106. Scarmeas N, Anastasiou CA, Yannakoulia M. Nutrition and prevention of cognitive impairment. *Lancet Neurol*. 2018;17(11):1006–15.
107. Dyllal SC. Long-chain omega-3 fatty acids and the brain: a review of the independent and shared effects of EPA, DPA and DHA. *Front Aging Neurosci*. 2015;7:52.
108. Landel V, Annweiler C, Millet P, Morello M, Féron F. Vitamin D, Cognition and Alzheimer’s Disease: The Therapeutic Benefit is in the D-Tails. *J Alzheimers Dis JAD*. 2016 11;53(2):419–44.
109. Hossein-nezhad A, Holick MF. Vitamin D for health: a global perspective. *Mayo Clin Proc*. 2013 Jul;88(7):720–55.
110. Vauzour D. Dietary polyphenols as modulators of brain functions: biological actions and molecular mechanisms underpinning their beneficial effects. *Oxid Med Cell Longev*. 2012;2012:914273.
111. Moretti M, Fraga DB, Rodrigues ALS. Preventive and therapeutic potential of ascorbic acid in neurodegenerative diseases. *CNS Neurosci Ther*. 2017 Dec;23(12):921–9.
112. Lee GY, Han SN. The Role of Vitamin E in Immunity. *Nutrients*. 2018 Nov 1;10(11).

113. Obulesu M, Dowlathabad MR, Bramhachari PV. Carotenoids and Alzheimer's disease: an insight into therapeutic role of retinoids in animal models. *Neurochem Int.* 2011 Oct;59(5):535–41.
114. Singh B, Parsaik AK, Mielke MM, Erwin PJ, Knopman DS, Petersen RC, et al. Association of mediterranean diet with mild cognitive impairment and Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis. *J Alzheimers Dis JAD.* 2014;39(2):271–82.
115. Solfrizzi V, Custodero C, Lozupone M, Imbimbo BP, Valiani V, Agosti P, et al. Relationships of Dietary Patterns, Foods, and Micro- and Macronutrients with Alzheimer's Disease and Late-Life Cognitive Disorders: A Systematic Review. *J Alzheimers Dis JAD.* 2017;59(3):815–49.
116. van den Brink AC, Brouwer-Brolsma EM, Berendsen AAM, van de Rest O. The Mediterranean, Dietary Approaches to Stop Hypertension (DASH), and Mediterranean-DASH Intervention for Neurodegenerative Delay (MIND) Diets Are Associated with Less Cognitive Decline and a Lower Risk of Alzheimer's Disease-A Review. *Adv Nutr Bethesda Md.* 2019 01;10(6):1040–65.
117. Barbaresko J, Koch M, Schulze MB, Nöthlings U. Dietary pattern analysis and biomarkers of low-grade inflammation: a systematic literature review. *Nutr Rev.* 2013 Aug;71(8):511–27.
118. Deschamps V, Barberger-Gateau P, Peuchant E, Orgogozo JM. Nutritional factors in cerebral aging and dementia: epidemiological arguments for a role of oxidative stress. *Neuroepidemiology.* 2001 Feb;20(1):7–15.
119. Dai J, Jones DP, Goldberg J, Ziegler TR, Bostick RM, Wilson PW, et al. Association between adherence to the Mediterranean diet and oxidative stress. *Am J Clin Nutr.* 2008 Nov;88(5):1364–70.
120. Sacks FM, Obarzanek E, Windhauser MM, Svetkey LP, Vollmer WM, McCullough M, et al. Rationale and design of the Dietary Approaches to Stop Hypertension trial (DASH). A multicenter controlled-feeding study of dietary patterns to lower blood pressure. *Ann Epidemiol.* 1995 Mar;5(2):108–18.
121. Appel LJ, Moore TJ, Obarzanek E, Vollmer WM, Svetkey LP, Sacks FM, et al. A clinical trial of the effects of dietary patterns on blood pressure. DASH Collaborative Research Group. *N Engl J Med.* 1997 Apr 17;336(16):1117–24.
122. Morris MC, Tangney CC, Wang Y, Sacks FM, Bennett DA, Aggarwal NT. MIND diet associated with reduced incidence of Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement J Alzheimers Assoc.* 2015 Sep;11(9):1007–14.
123. Akbaraly TN, Singh-Manoux A, Dugravot A, Brunner EJ, Kivimäki M, Sabia S. Association of Midlife Diet With Subsequent Risk for Dementia. *JAMA.* 2019 12;321(10):957–68.
124. Martínez-Lapiscina EH, Clavero P, Toledo E, Estruch R, Salas-Salvadó J, San Julián B, et al. Mediterranean diet improves cognition: the PREDIMED-NAVARRA randomised trial. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2013 Dec;84(12):1318–25.

125. Gelber RP, Petrovitch H, Masaki KH, Abbott RD, Ross GW, Launer LJ, et al. Lifestyle and the risk of dementia in Japanese-american men. *J Am Geriatr Soc.* 2012 Jan;60(1):118–23.
126. Pase MP, Beiser A, Enserro D, Xanthakis V, Aparicio H, Satizabal CL, et al. Association of Ideal Cardiovascular Health With Vascular Brain Injury and Incident Dementia. *Stroke.* 2016;47(5):1201–6.
127. Samieri C, Perier M-C, Gaye B, Proust-Lima C, Helmer C, Dartigues J-F, et al. Association of Cardiovascular Health Level in Older Age With Cognitive Decline and Incident Dementia. *JAMA.* 2018 21;320(7):657–64.
128. González HM, Tarraf W, Harrison K, Windham BG, Tingle J, Alonso A, et al. Midlife cardiovascular health and 20-year cognitive decline: Atherosclerosis Risk in Communities Study results. *Alzheimers Dement J Alzheimers Assoc.* 2018;14(5):579–89.
129. Lourida I, Hannon E, Littlejohns TJ, Langa KM, Hyppönen E, Kuzma E, et al. Association of Lifestyle and Genetic Risk With Incidence of Dementia. *JAMA.* 2019 Jul 14;
130. Medzhitov R, Janeway CA. Innate immunity: the virtues of a nonclonal system of recognition. *Cell.* 1997 Oct 31;91(3):295–8.
131. Rivest S. Regulation of innate immune responses in the brain. *Nat Rev Immunol.* 2009 Jun;9(6):429–39.
132. Rock KL, Latz E, Ontiveros F, Kono H. The sterile inflammatory response. *Annu Rev Immunol.* 2010;28:321–42.
133. Franceschi C, Bonafè M, Valensin S, Olivieri F, De Luca M, Ottaviani E, et al. Inflamm-aging: An Evolutionary Perspective on Immunosenescence. *Ann N Y Acad Sci.* 2000 Jun 1;908(1):244–54.
134. Xu W, Larbi A. Immunity and Inflammation: From Jekyll to Hyde. *Exp Gerontol.* 2018 01;107:98–101.
135. Carson MJ. The two faces of CNS inflammation: can we tell Dr. Jekyll from Mr. Hyde? *Brain Behav Immun.* 2003 Dec;17(6):415–6.
136. Ransohoff RM. How neuroinflammation contributes to neurodegeneration. *Science.* 2016 Aug 19;353(6301):777–83.
137. Niranjan R. Recent advances in the mechanisms of neuroinflammation and their roles in neurodegeneration. *Neurochem Int.* 2018;120:13–20.
138. Krstic D, Knuesel I. Deciphering the mechanism underlying late-onset Alzheimer disease. *Nat Rev Neurol.* 2013 Jan;9(1):25–34.
139. Audinat E, Arnoux I. [Microglia: immune cells sculpting and controlling neuronal synapses]. *Med Sci MS.* 2014 Feb;30(2):153–9.

140. Nimmerjahn A, Kirchhoff F, Helmchen F. Resting microglial cells are highly dynamic surveillants of brain parenchyma in vivo. *Science*. 2005 May 27;308(5726):1314–8.
141. Streit WJ. Microglia as neuroprotective, immunocompetent cells of the CNS. *Glia*. 2002 Nov;40(2):133–9.
142. Holmes C. Review: systemic inflammation and Alzheimer’s disease. *Neuropathol Appl Neurobiol*. 2013 Feb;39(1):51–68.
143. Perry VH, Holmes C. Microglial priming in neurodegenerative disease. *Nat Rev Neurol*. 2014 Apr;10(4):217–24.
144. Blum-Degen D, Müller T, Kuhn W, Gerlach M, Przuntek H, Riederer P. Interleukin-1 beta and interleukin-6 are elevated in the cerebrospinal fluid of Alzheimer’s and de novo Parkinson’s disease patients. *Neurosci Lett*. 1995 Dec 29;202(1–2):17–20.
145. Tarkowski E, Blennow K, Wallin A, Tarkowski A. Intracerebral production of tumor necrosis factor-alpha, a local neuroprotective agent, in Alzheimer disease and vascular dementia. *J Clin Immunol*. 1999 Jul;19(4):223–30.
146. Xia MQ, Hyman BT. Chemokines/chemokine receptors in the central nervous system and Alzheimer’s disease. *J Neurovirol*. 1999 Feb;5(1):32–41.
147. Wood LB, Winslow AR, Proctor EA, McGuone D, Mordes DA, Frosch MP, et al. Identification of neurotoxic cytokines by profiling Alzheimer’s disease tissues and neuron culture viability screening. *Sci Rep*. 2015 Nov 13;5:16622.
148. Calsolaro V, Edison P. Neuroinflammation in Alzheimer’s disease: Current evidence and future directions. *Alzheimers Dement J Alzheimers Assoc*. 2016;12(6):719–32.
149. Okello A, Edison P, Archer HA, Turkheimer FE, Kennedy J, Bullock R, et al. Microglial activation and amyloid deposition in mild cognitive impairment: a PET study. *Neurology*. 2009 Jan 6;72(1):56–62.
150. Cagnin A, Brooks DJ, Kennedy AM, Gunn RN, Myers R, Turkheimer FE, et al. In-vivo measurement of activated microglia in dementia. *Lancet Lond Engl*. 2001 Aug 11;358(9280):461–7.
151. Griffin WS, Stanley LC, Ling C, White L, MacLeod V, Perrot LJ, et al. Brain interleukin 1 and S-100 immunoreactivity are elevated in Down syndrome and Alzheimer disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1989 Oct;86(19):7611–5.
152. Sheng JG, Jones RA, Zhou XQ, McGinness JM, Van Eldik LJ, Mrak RE, et al. Interleukin-1 promotion of MAPK-p38 overexpression in experimental animals and in Alzheimer’s disease: potential significance for tau protein phosphorylation. *Neurochem Int*. 2001 Dec;39(5–6):341–8.
153. Akiyama H, Schwab C, Kondo H, Mori H, Kametani F, Ikeda K, et al. Granules in glial cells of patients with Alzheimer’s disease are immunopositive for C-terminal sequences of beta-amyloid protein. *Neurosci Lett*. 1996 Mar 15;206(2–3):169–72.

154. Perlmutter LS, Scott SA, Barrón E, Chui HC. MHC class II-positive microglia in human brain: association with Alzheimer lesions. *J Neurosci Res*. 1992 Dec;33(4):549–58.
155. Rozemuller JM, Eikelenboom P, Stam FC. Role of microglia in plaque formation in senile dementia of the Alzheimer type. An immunohistochemical study. *Virchows Arch B Cell Pathol Incl Mol Pathol*. 1986;51(3):247–54.
156. Rogers J, Lubner-Narod J, Styren SD, Civin WH. Expression of immune system-associated antigens by cells of the human central nervous system: relationship to the pathology of Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*. 1988 Aug;9(4):339–49.
157. Griffin WS, Sheng JG, Roberts GW, Mrak RE. Interleukin-1 expression in different plaque types in Alzheimer's disease: significance in plaque evolution. *J Neuropathol Exp Neurol*. 1995 Mar;54(2):276–81.
158. Frackowiak J, Wisniewski HM, Wegiel J, Merz GS, Iqbal K, Wang KC. Ultrastructure of the microglia that phagocytose amyloid and the microglia that produce beta-amyloid fibrils. *Acta Neuropathol (Berl)*. 1992;84(3):225–33.
159. Hamelin L, Lagarde J, Dorothée G, Leroy C, Labit M, Comley RA, et al. Early and protective microglial activation in Alzheimer's disease: a prospective study using 18F-DPA-714 PET imaging. *Brain J Neurol*. 2016 Apr;139(Pt 4):1252–64.
160. Phillips EC, Croft CL, Kurbatskaya K, O'Neill MJ, Hutton ML, Hanger DP, et al. Astrocytes and neuroinflammation in Alzheimer's disease. *Biochem Soc Trans*. 2014 Oct;42(5):1321–5.
161. Yong VW. Inflammation in Neurological Disorders: A Help or a Hindrance?: The Neuroscientist [Internet]. 2010 Sep 3 [cited 2020 Sep 23]; Available from: <https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/1073858410371379>
162. Edison P, Brooks DJ. Role of Neuroinflammation in the Trajectory of Alzheimer's Disease and in vivo Quantification Using PET. *J Alzheimers Dis JAD*. 2018;64(s1):S339–51.
163. Fan Z, Aman Y, Ahmed I, Chetelat G, Landeau B, Ray Chaudhuri K, et al. Influence of microglial activation on neuronal function in Alzheimer's and Parkinson's disease dementia. *Alzheimers Dement J Alzheimers Assoc*. 2015 Jun;11(6):608–621.e7.
164. Mizuno T. The biphasic role of microglia in Alzheimer's disease. *Int J Alzheimers Dis*. 2012;2012:737846.
165. Heneka MT, Carson MJ, El Khoury J, Landreth GE, Brosseron F, Feinstein DL, et al. Neuroinflammation in Alzheimer's disease. *Lancet Neurol*. 2015 Apr;14(4):388–405.
166. DiSabato DJ, Quan N, Godbout JP. Neuroinflammation: the devil is in the details. *J Neurochem*. 2016;139 Suppl 2:136–53.
167. Nägga K, Wattmo C, Zhang Y, Wahlund L-O, Palmqvist S. Cerebral inflammation is an underlying mechanism of early death in Alzheimer's disease: a 13-year cause-specific multivariate mortality study. *Alzheimers Res Ther*. 2014;6(4):41.

168. Gibson RM, Rothwell NJ, Le Feuvre RA. CNS injury: the role of the cytokine IL-1. *Vet J Lond Engl* 1997. 2004 Nov;168(3):230–7.
169. Rao JS, Kellom M, Kim H-W, Rapoport SI, Reese EA. Neuroinflammation and synaptic loss. *Neurochem Res*. 2012 May;37(5):903–10.
170. Akiyama H, Barger S, Barnum S, Bradt B, Bauer J, Cole GM, et al. Inflammation and Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*. 2000 May;21(3):383–421.
171. Hong S, Beja-Glasser VF, Nfonoyim BM, Frouin A, Li S, Ramakrishnan S, et al. Complement and microglia mediate early synapse loss in Alzheimer mouse models. *Science*. 2016 May 6;352(6286):712–6.
172. Hickman SE, Allison EK, El Khoury J. Microglial dysfunction and defective beta-amyloid clearance pathways in aging Alzheimer's disease mice. *J Neurosci Off J Soc Neurosci*. 2008 Aug 13;28(33):8354–60.
173. Nagele RG, D'Andrea MR, Lee H, Venkataraman V, Wang H-Y. Astrocytes accumulate A beta 42 and give rise to astrocytic amyloid plaques in Alzheimer disease brains. *Brain Res*. 2003 May 9;971(2):197–209.
174. Liao Y-F, Wang B-J, Cheng H-T, Kuo L-H, Wolfe MS. Tumor necrosis factor-alpha, interleukin-1beta, and interferon-gamma stimulate gamma-secretase-mediated cleavage of amyloid precursor protein through a JNK-dependent MAPK pathway. *J Biol Chem*. 2004 Nov 19;279(47):49523–32.
175. Yamamoto M, Kiyota T, Horiba M, Buescher JL, Walsh SM, Gendelman HE, et al. Interferon-gamma and tumor necrosis factor-alpha regulate amyloid-beta plaque deposition and beta-secretase expression in Swedish mutant APP transgenic mice. *Am J Pathol*. 2007 Feb;170(2):680–92.
176. Gorlovoy P, Larionov S, Pham TTH, Neumann H. Accumulation of tau induced in neurites by microglial proinflammatory mediators. *FASEB J Off Publ Fed Am Soc Exp Biol*. 2009 Aug;23(8):2502–13.
177. Glass CK, Saijo K, Winner B, Marchetto MC, Gage FH. Mechanisms Underlying Inflammation in Neurodegeneration. *Cell*. 2010 Mar 19;140(6):918–34.
178. Gamba P, Testa G, Gargiulo S, Staurengi E, Poli G, Leonarduzzi G. Oxidized cholesterol as the driving force behind the development of Alzheimer's disease. *Front Aging Neurosci*. 2015;7:119.
179. Daneman R, Prat A. The blood-brain barrier. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2015 Jan 5;7(1):a020412.
180. Dantzer R. Cytokine-induced sickness behavior: where do we stand? *Brain Behav Immun*. 2001 Mar;15(1):7–24.
181. Watkins LR, Maier SF, Goehler LE. Cytokine-to-brain communication: a review & analysis of alternative mechanisms. *Life Sci*. 1995;57(11):1011–26.

182. Stitt JT. Passage of immunomodulators across the blood-brain barrier. *Yale J Biol Med.* 1990 Apr;63(2):121–31.
183. Nadeau S, Rivest S. Role of microglial-derived tumor necrosis factor in mediating CD14 transcription and nuclear factor kappa B activity in the brain during endotoxemia. *J Neurosci Off J Soc Neurosci.* 2000 May 1;20(9):3456–68.
184. Matsumura K, Kobayashi S. Signaling the brain in inflammation: the role of endothelial cells. *Front Biosci J Virtual Libr.* 2004 Sep 1;9:2819–26.
185. Quan N, Banks WA. Brain-immune communication pathways. *Brain Behav Immun.* 2007 Aug;21(6):727–35.
186. Rezaie P, Male D. Mesoglia & microglia--a historical review of the concept of mononuclear phagocytes within the central nervous system. *J Hist Neurosci.* 2002 Dec;11(4):325–74.
187. Banks WA, Kastin AJ. Blood to brain transport of interleukin links the immune and central nervous systems. *Life Sci.* 1991;48(25):PL117-121.
188. Banks WA, Ortiz L, Plotkin SR, Kastin AJ. Human interleukin (IL) 1 alpha, murine IL-1 alpha and murine IL-1 beta are transported from blood to brain in the mouse by a shared saturable mechanism. *J Pharmacol Exp Ther.* 1991 Dec;259(3):988–96.
189. Gutierrez EG, Banks WA, Kastin AJ. Murine tumor necrosis factor alpha is transported from blood to brain in the mouse. *J Neuroimmunol.* 1993 Sep;47(2):169–76.
190. Ek M, Kurosawa M, Lundeberg T, Ericsson A. Activation of vagal afferents after intravenous injection of interleukin-1beta: role of endogenous prostaglandins. *J Neurosci Off J Soc Neurosci.* 1998 Nov 15;18(22):9471–9.
191. Walker KA, Ficek BN, Westbrook R. Understanding the Role of Systemic Inflammation in Alzheimer's Disease. *ACS Chem Neurosci.* 2019 21;10(8):3340–2.
192. Farrall AJ, Wardlaw JM. Blood-brain barrier: ageing and microvascular disease--systematic review and meta-analysis. *Neurobiol Aging.* 2009 Mar;30(3):337–52.
193. Montagne A, Barnes SR, Sweeney MD, Halliday MR, Sagare AP, Zhao Z, et al. Blood-brain barrier breakdown in the aging human hippocampus. *Neuron.* 2015 Jan 21;85(2):296–302.
194. Wang H, Golob EJ, Su M-Y. Vascular volume and blood-brain barrier permeability measured by dynamic contrast enhanced MRI in hippocampus and cerebellum of patients with MCI and normal controls. *J Magn Reson Imaging JMRI.* 2006 Sep;24(3):695–700.
195. van de Haar HJ, Jansen JFA, van Osch MJP, van Buchem MA, Muller M, Wong SM, et al. Neurovascular unit impairment in early Alzheimer's disease measured with magnetic resonance imaging. *Neurobiol Aging.* 2016;45:190–6.
196. Takechi R, Lam V, Brook E, Giles C, Fimognari N, Mooranian A, et al. Blood-Brain Barrier Dysfunction Precedes Cognitive Decline and Neurodegeneration in Diabetic Insulin

- Resistant Mouse Model: An Implication for Causal Link. *Front Aging Neurosci.* 2017;9:399.
197. Popescu BO, Toescu EC, Popescu LM, Bajenaru O, Muresanu DF, Schultzberg M, et al. Blood-brain barrier alterations in ageing and dementia. *J Neurol Sci.* 2009 Aug 15;283(1–2):99–106.
 198. Swardfager W, Lanctôt K, Rothenburg L, Wong A, Cappell J, Herrmann N. A meta-analysis of cytokines in Alzheimer's disease. *Biol Psychiatry.* 2010 Nov 15;68(10):930–41.
 199. Mitchell AJ, Shiri-Feshki M. Rate of progression of mild cognitive impairment to dementia--meta-analysis of 41 robust inception cohort studies. *Acta Psychiatr Scand.* 2009 Apr;119(4):252–65.
 200. Roberts RO, Geda YE, Knopman DS, Boeve BF, Christianson TJH, Pankratz VS, et al. Association of C-reactive protein with mild cognitive impairment. *Alzheimers Dement J Alzheimers Assoc.* 2009 Sep;5(5):398–405.
 201. Bruunsgaard H, Andersen-Ranberg K, Jeune B, Pedersen AN, Skinhøj P, Pedersen BK. A high plasma concentration of TNF-alpha is associated with dementia in centenarians. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 1999 Jul;54(7):M357–364.
 202. Fillit H, Ding WH, Buee L, Kalman J, Altstiel L, Lawlor B, et al. Elevated circulating tumor necrosis factor levels in Alzheimer's disease. *Neurosci Lett.* 1991 Aug 19;129(2):318–20.
 203. Singh VK, Guthikonda P. Circulating cytokines in Alzheimer's disease. *J Psychiatr Res.* 1997 Dec;31(6):657–60.
 204. Kuo H-K, Yen C-J, Chang C-H, Kuo C-K, Chen J-H, Sorond F. Relation of C-reactive protein to stroke, cognitive disorders, and depression in the general population: systematic review and meta-analysis. *Lancet Neurol.* 2005 Jun;4(6):371–80.
 205. Engelhart MJ, Geerlings MI, Meijer J, Kiliaan A, Ruitenberg A, van Swieten JC, et al. Inflammatory proteins in plasma and the risk of dementia: the rotterdam study. *Arch Neurol.* 2004 May;61(5):668–72.
 206. Tilvis RS, Kähönen-Väre MH, Jolkkonen J, Valvanne J, Pitkala KH, Strandberg TE. Predictors of cognitive decline and mortality of aged people over a 10-year period. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2004 Mar;59(3):268–74.
 207. Walker KA, Gottesman RF, Wu A, Knopman DS, Gross AL, Mosley TH, et al. Systemic inflammation during midlife and cognitive change over 20 years: The ARIC Study. *Neurology.* 2019 12;92(11):e1256–67.
 208. Laurin D, David Curb J, Masaki KH, White LR, Launer LJ. Midlife C-reactive protein and risk of cognitive decline: a 31-year follow-up. *Neurobiol Aging.* 2009 Nov;30(11):1724–7.

209. Holmes C, Cunningham C, Zotova E, Woolford J, Dean C, Kerr S, et al. Systemic inflammation and disease progression in Alzheimer disease. *Neurology*. 2009 Sep 8;73(10):768–74.
210. Tan ZS, Beiser AS, Vasan RS, Roubenoff R, Dinarello CA, Harris TB, et al. Inflammatory markers and the risk of Alzheimer disease: the Framingham Study. *Neurology*. 2007 May 29;68(22):1902–8.
211. Ng A, Tam WW, Zhang MW, Ho CS, Husain SF, McIntyre RS, et al. IL-1 β , IL-6, TNF- α and CRP in Elderly Patients with Depression or Alzheimer’s disease: Systematic Review and Meta-Analysis. *Sci Rep*. 2018 13;8(1):12050.
212. van Duijn CM, Hofman A, Nagelkerken L. Serum levels of interleukin-6 are not elevated in patients with Alzheimer’s disease. *Neurosci Lett*. 1990 Jan 22;108(3):350–4.
213. Cacabelos R, Alvarez XA, Franco-Maside A, Fernández-Novoa L, Caamaño J. Serum tumor necrosis factor (TNF) in Alzheimer’s disease and multi-infarct dementia. *Methods Find Exp Clin Pharmacol*. 1994 Feb;16(1):29–35.
214. Sochocka M, Zwolińska K, Leszek J. The Infectious Etiology of Alzheimer’s Disease. *Curr Neuroparmacol*. 2017;15(7):996–1009.
215. Lim SL, Rodriguez-Ortiz CJ, Kitazawa M. Infection, systemic inflammation, and Alzheimer’s disease. *Microbes Infect*. 2015 Aug;17(8):549–56.
216. Dunn N, Mullee M, Perry VH, Holmes C. Association between dementia and infectious disease: evidence from a case-control study. *Alzheimer Dis Assoc Disord*. 2005 Jun;19(2):91–4.
217. Kumar S, Shah S, Budhiraja S, Desai K, Shah C, Mehta D. The effect of periodontal treatment on C-reactive protein: A clinical study. *J Nat Sci Biol Med*. 2013 Jul;4(2):379–82.
218. Choi S, Kim K, Chang J, Kim SM, Kim SJ, Cho H-J, et al. Association of Chronic Periodontitis on Alzheimer’s Disease or Vascular Dementia. *J Am Geriatr Soc*. 2019;67(6):1234–9.
219. Gaur S, Agnihotri R. Alzheimer’s disease and chronic periodontitis: is there an association? *Geriatr Gerontol Int*. 2015 Apr;15(4):391–404.
220. Ide M, Harris M, Stevens A, Sussams R, Hopkins V, Culliford D, et al. Periodontitis and Cognitive Decline in Alzheimer’s Disease. *PloS One*. 2016;11(3):e0151081.
221. Doulberis M, Kotronis G, Thomann R, Polyzos SA, Boziki M, Gialamprinou D, et al. Review: Impact of *Helicobacter pylori* on Alzheimer’s disease: What do we know so far? *Helicobacter*. 2018 Feb;23(1).
222. Beydoun MA, Beydoun HA, Elbejjani M, Dore GA, Zonderman AB. *Helicobacter pylori* seropositivity and its association with incident all-cause and Alzheimer’s disease dementia in large national surveys. *Alzheimers Dement J Alzheimers Assoc*. 2018;14(9):1148–58.

223. Contaldi F, Capuano F, Fulgione A, Aiese Cigliano R, Sanseverino W, Iannelli D, et al. The hypothesis that *Helicobacter pylori* predisposes to Alzheimer's disease is biologically plausible. *Sci Rep*. 2017 10;7(1):7817.
224. Fani L, Wolters FJ, Ikram MK, Bruno MJ, Hofman A, Koudstaal PJ, et al. *Helicobacter pylori* and the risk of dementia: A population-based study. *Alzheimers Dement J Alzheimers Assoc*. 2018;14(10):1377–82.
225. Bu X-L, Yao X-Q, Jiao S-S, Zeng F, Liu Y-H, Xiang Y, et al. A study on the association between infectious burden and Alzheimer's disease. *Eur J Neurol*. 2015 Dec;22(12):1519–25.
226. Bone RC. Gram-negative sepsis. Background, clinical features, and intervention. *Chest*. 1991 Sep;100(3):802–8.
227. Sharshar T, Annane D, de la Grandmaison GL, Brouland JP, Hopkinson NS, Françoise G. The neuropathology of septic shock. *Brain Pathol Zurich Switz*. 2004 Jan;14(1):21–33.
228. Lemstra AW, Groen in't Woud JCM, Hoozemans JJM, van Haastert ES, Rozemuller AJM, Eikelenboom P, et al. Microglia activation in sepsis: a case-control study. *J Neuroinflammation*. 2007 Jan 15;4:4.
229. Franceschi C, Capri M, Monti D, Giunta S, Olivieri F, Sevini F, et al. Inflammaging and anti-inflammaging: a systemic perspective on aging and longevity emerged from studies in humans. *Mech Ageing Dev*. 2007 Jan;128(1):92–105.
230. Golden TR, Hinerfeld DA, Melov S. Oxidative stress and aging: beyond correlation. *Aging Cell*. 2002 Dec;1(2):117–23.
231. Galland L. Diet and inflammation. *Nutr Clin Pract Off Publ Am Soc Parenter Enter Nutr*. 2010 Dec;25(6):634–40.
232. Belkaid Y, Hand TW. Role of the microbiota in immunity and inflammation. *Cell*. 2014 Mar 27;157(1):121–41.
233. Petersen AMW, Pedersen BK. The anti-inflammatory effect of exercise. *J Appl Physiol Bethesda Md 1985*. 2005 Apr;98(4):1154–62.
234. Castanon N, Lasselin J, Capuron L. Neuropsychiatric comorbidity in obesity: role of inflammatory processes. *Front Endocrinol*. 2014;5:74.
235. Lasselin J, Capuron L. Chronic low-grade inflammation in metabolic disorders: relevance for behavioral symptoms. *Neuroimmunomodulation*. 2014;21(2–3):95–101.
236. Dantzer R, O'Connor JC, Freund GG, Johnson RW, Kelley KW. From inflammation to sickness and depression: when the immune system subjugates the brain. *Nat Rev Neurosci*. 2008 Jan;9(1):46–56.
237. Golia E, Limongelli G, Natale F, Fimiani F, Maddaloni V, Pariggiano I, et al. Inflammation and cardiovascular disease: from pathogenesis to therapeutic target. *Curr Atheroscler Rep*. 2014 Sep;16(9):435.

238. Sherva R, Farrer LA. Power and pitfalls of the genome-wide association study approach to identify genes for Alzheimer's disease. *Curr Psychiatry Rep*. 2011 Apr;13(2):138–46.
239. Bell RD, Winkler EA, Singh I, Sagare AP, Deane R, Wu Z, et al. Apolipoprotein E controls cerebrovascular integrity via cyclophilin A. *Nature*. 2012 May 16;485(7399):512–6.
240. Nishitsuji K, Hosono T, Nakamura T, Bu G, Michikawa M. Apolipoprotein E regulates the integrity of tight junctions in an isoform-dependent manner in an in vitro blood-brain barrier model. *J Biol Chem*. 2011 May 20;286(20):17536–42.
241. Frost GR, Jonas LA, Li Y-M. Friend, Foe or Both? Immune Activity in Alzheimer's Disease. *Front Aging Neurosci*. 2019;11:337.
242. Lambert JC, Ibrahim-Verbaas CA, Harold D, Naj AC, Sims R, Bellenguez C, et al. Meta-analysis of 74,046 individuals identifies 11 new susceptibility loci for Alzheimer's disease. *Nat Genet*. 2013 Dec;45(12):1452–8.
243. Karch CM, Goate AM. Alzheimer's disease risk genes and mechanisms of disease pathogenesis. *Biol Psychiatry*. 2015 Jan 1;77(1):43–51.
244. Gerrish A, Russo G, Richards A, Moskvina V, Ivanov D, Harold D, et al. The role of variation at A β PP, PSEN1, PSEN2, and MAPT in late onset Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis JAD*. 2012;28(2):377–87.
245. Guerreiro R, Wojtas A, Bras J, Carrasquillo M, Rogaeva E, Majounie E, et al. TREM2 variants in Alzheimer's disease. *N Engl J Med*. 2013 Jan 10;368(2):117–27.
246. Jonsson T, Stefansson H, Steinberg S, Jonsdottir I, Jonsson PV, Snaedal J, et al. Variant of TREM2 associated with the risk of Alzheimer's disease. *N Engl J Med*. 2013 Jan 10;368(2):107–16.
247. Reitz C. Genetic diagnosis and prognosis of Alzheimer's disease: challenges and opportunities. *Expert Rev Mol Diagn*. 2015 Mar;15(3):339–48.
248. Zhao L. CD33 in Alzheimer's Disease - Biology, Pathogenesis, and Therapeutics: A Mini-Review. *Gerontology*. 2019;65(4):323–31.
249. Jiang T, Yu J-T, Hu N, Tan M-S, Zhu X-C, Tan L. CD33 in Alzheimer's disease. *Mol Neurobiol*. 2014 Feb;49(1):529–35.
250. Zhang Z-G, Li Y, Ng CT, Song Y-Q. Inflammation in Alzheimer's Disease and Molecular Genetics: Recent Update. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*. 2015 Oct;63(5):333–44.
251. Thambisetty M, Simmons A, Velayudhan L, Hye A, Campbell J, Zhang Y, et al. Association of plasma clusterin concentration with severity, pathology, and progression in Alzheimer disease. *Arch Gen Psychiatry*. 2010 Jul;67(7):739–48.
252. Sahlbom C, Davidsson P, Sjögren M, Wahlund L-O, Nilsson CL. Structural and quantitative comparison of cerebrospinal fluid glycoproteins in Alzheimer's disease patients and healthy individuals. *Neurochem Res*. 2008 Jul;33(7):1332–40.

253. Haddick PCG, Larson JL, Rathore N, Bhangale TR, Phung QT, Srinivasan K, et al. A Common Variant of IL-6R is Associated with Elevated IL-6 Pathway Activity in Alzheimer's Disease Brains. *J Alzheimers Dis JAD*. 2017;56(3):1037–54.
254. Papassotiropoulos A, Bagli M, Jessen F, Bayer TA, Maier W, Rao ML, et al. A genetic variation of the inflammatory cytokine interleukin-6 delays the initial onset and reduces the risk for sporadic Alzheimer's disease. *Ann Neurol*. 1999 May;45(5):666–8.
255. Nicoll JA, Mrak RE, Graham DI, Stewart J, Wilcock G, MacGowan S, et al. Association of interleukin-1 gene polymorphisms with Alzheimer's disease. *Ann Neurol*. 2000 Mar;47(3):365–8.
256. McCusker SM, Curran MD, Dynan KB, McCullagh CD, Urquhart DD, Middleton D, et al. Association between polymorphism in regulatory region of gene encoding tumour necrosis factor alpha and risk of Alzheimer's disease and vascular dementia: a case-control study. *Lancet Lond Engl*. 2001 Feb 10;357(9254):436–9.
257. Perry RT, Collins JS, Wiener H, Acton R, Go RC. The role of TNF and its receptors in Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*. 2001 Dec;22(6):873–83.
258. Policicchio S, Ahmad AN, Powell JF, Proitsi P. Rheumatoid arthritis and risk for Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis and a Mendelian Randomization study. *Sci Rep*. 2017 09;7(1):12861.
259. Azam F, Alabdullah NH, Ehmedat HM, Abulifa AR, Taban I, Upadhyayula S. NSAIDs as potential treatment option for preventing amyloid β toxicity in Alzheimer's disease: an investigation by docking, molecular dynamics, and DFT studies. *J Biomol Struct Dyn*. 2018 Jun;36(8):2099–117.
260. McGeer PL, McGeer EG. NSAIDs and Alzheimer disease: epidemiological, animal model and clinical studies. *Neurobiol Aging*. 2007 May;28(5):639–47.
261. Etminan M, Gill S, Samii A. Effect of non-steroidal anti-inflammatory drugs on risk of Alzheimer's disease: systematic review and meta-analysis of observational studies. *BMJ*. 2003 Jul 19;327(7407):128.
262. de Craen AJM, Gussekloo J, Vrijksen B, Westendorp RGJ. Meta-analysis of nonsteroidal antiinflammatory drug use and risk of dementia. *Am J Epidemiol*. 2005 Jan 15;161(2):114–20.
263. Xu W, Tan L, Wang H-F, Jiang T, Tan M-S, Tan L, et al. Meta-analysis of modifiable risk factors for Alzheimer's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2015 Dec;86(12):1299–306.
264. Szekely CA, Thorne JE, Zandi PP, Ek M, Messias E, Breitner JCS, et al. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs for the prevention of Alzheimer's disease: a systematic review. *Neuroepidemiology*. 2004 Aug;23(4):159–69.
265. Wang J, Tan L, Wang H-F, Tan C-C, Meng X-F, Wang C, et al. Anti-inflammatory drugs and risk of Alzheimer's disease: an updated systematic review and meta-analysis. *J Alzheimers Dis JAD*. 2015;44(2):385–96.

266. Vlad SC, Miller DR, Kowall NW, Felson DT. Protective effects of NSAIDs on the development of Alzheimer disease. *Neurology*. 2008 May 6;70(19):1672–7.
267. Jordan F, Quinn TJ, McGuinness B, Passmore P, Kelly JP, Tudur Smith C, et al. Aspirin and other non-steroidal anti-inflammatory drugs for the prevention of dementia. *Cochrane Database Syst Rev*. 2020 30;4:CD011459.
268. Jaturapatporn D, Isaac MGEKN, McCleery J, Tabet N. Aspirin, steroidal and non-steroidal anti-inflammatory drugs for the treatment of Alzheimer's disease. *Cochrane Database Syst Rev*. 2012 Feb 15;(2):CD006378.
269. Raetz R, Whitfield W. Lipopolysaccharide Endotoxins [Internet]. Vol. 71, Annual review of biochemistry. *Annu Rev Biochem*; 2002 [cited 2020 Jun 10]. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12045108/?from_term=Lipopolysaccharide+Endotoxins+raetz&from_pos=1
270. Goldman-Rakic PS, Selemon LD. New frontiers in basal ganglia research. Introduction. *Trends Neurosci*. 1990 Jul;13(7):241–4.
271. Sender R, Fuchs S, Milo R. Are We Really Vastly Outnumbered? Revisiting the Ratio of Bacterial to Host Cells in Humans. *Cell*. 2016 Jan 28;164(3):337–40.
272. Eckburg PB, Bik EM, Bernstein CN, Purdom E, Dethlefsen L, Sargent M, et al. Diversity of the human intestinal microbial flora. *Science*. 2005 Jun 10;308(5728):1635–8.
273. Tremaroli V, Bäckhed F. Functional interactions between the gut microbiota and host metabolism. *Nature*. 2012 Sep 13;489(7415):242–9.
274. Ley RE, Peterson DA, Gordon JI. Ecological and evolutionary forces shaping microbial diversity in the human intestine. *Cell*. 2006 Feb 24;124(4):837–48.
275. Flint HJ, Bayer EA, Rincon MT, Lamed R, White BA. Polysaccharide utilization by gut bacteria: potential for new insights from genomic analysis. *Nat Rev Microbiol*. 2008 Feb;6(2):121–31.
276. Wong JMW, de Souza R, Kendall CWC, Emam A, Jenkins DJA. Colonic health: fermentation and short chain fatty acids. *J Clin Gastroenterol*. 2006 Mar;40(3):235–43.
277. Qin J, Li R, Raes J, Arumugam M, Burgdorf KS, Manichanh C, et al. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature*. 2010 Mar 4;464(7285):59–65.
278. Ridlon JM, Kang D-J, Hylemon PB. Bile salt biotransformations by human intestinal bacteria. *J Lipid Res*. 2006 Feb;47(2):241–59.
279. Gérard P, Lepercq P, Leclerc M, Gavini F, Raibaud P, Juste C. *Bacteroides* sp. strain D8, the first cholesterol-reducing bacterium isolated from human feces. *Appl Environ Microbiol*. 2007 Sep;73(18):5742–9.
280. Frankel WL, Zhang W, Singh A, Klurfeld DM, Don S, Sakata T, et al. Mediation of the trophic effects of short-chain fatty acids on the rat jejunum and colon. *Gastroenterology*. 1994 Feb;106(2):375–80.

281. Neish AS. Microbes in gastrointestinal health and disease. *Gastroenterology*. 2009 Jan;136(1):65–80.
282. Liévin V, Peiffer I, Hudault S, Rochat F, Brassart D, Neeser JR, et al. Bifidobacterium strains from resident infant human gastrointestinal microflora exert antimicrobial activity. *Gut*. 2000 Nov;47(5):646–52.
283. Bernet MF, Brassart D, Neeser JR, Servin AL. Lactobacillus acidophilus LA 1 binds to cultured human intestinal cell lines and inhibits cell attachment and cell invasion by enterovirulent bacteria. *Gut*. 1994 Apr;35(4):483–9.
284. Bibbò S, Ianiro G, Giorgio V, Scaldaferri F, Masucci L, Gasbarrini A, et al. The role of diet on gut microbiota composition. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2016;20(22):4742–9.
285. Brown K, DeCoffe D, Molcan E, Gibson DL. Diet-induced dysbiosis of the intestinal microbiota and the effects on immunity and disease. *Nutrients*. 2012;4(8):1095–119.
286. Arumugam M, Raes J, Pelletier E, Le Paslier D, Yamada T, Mende DR, et al. Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature*. 2011 May 12;473(7346):174–80.
287. Wu GD, Chen J, Hoffmann C, Bittinger K, Chen Y-Y, Keilbaugh SA, et al. Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes. *Science*. 2011 Oct 7;334(6052):105–8.
288. David LA, Maurice CF, Carmody RN, Gootenberg DB, Button JE, Wolfe BE, et al. Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome. *Nature*. 2014 Jan 23;505(7484):559–63.
289. Gérard P. Gut microbiota and obesity. *Cell Mol Life Sci CMLS*. 2016 Jan;73(1):147–62.
290. Patterson E, Ryan PM, Cryan JF, Dinan TG, Ross RP, Fitzgerald GF, et al. Gut microbiota, obesity and diabetes. *Postgrad Med J*. 2016 May;92(1087):286–300.
291. Bibbò S, Dore MP, Pes GM, Delitala G, Delitala AP. Is there a role for gut microbiota in type 1 diabetes pathogenesis? *Ann Med*. 2017;49(1):11–22.
292. D'Aversa F, Tortora A, Ianiro G, Ponziani FR, Annicchiarico BE, Gasbarrini A. Gut microbiota and metabolic syndrome. *Intern Emerg Med*. 2013 Apr;8 Suppl 1:S11-15.
293. Cammarota G, Ianiro G, Cianci R, Bibbò S, Gasbarrini A, Currò D. The involvement of gut microbiota in inflammatory bowel disease pathogenesis: potential for therapy. *Pharmacol Ther*. 2015 May;149:191–212.
294. Li Q, Zhou J-M. The microbiota-gut-brain axis and its potential therapeutic role in autism spectrum disorder. *Neuroscience*. 2016 Jun 2;324:131–9.
295. Valles-Colomer M, Falony G, Darzi Y, Tigchelaar EF, Wang J, Tito RY, et al. The neuroactive potential of the human gut microbiota in quality of life and depression. *Nat Microbiol*. 2019;4(4):623–32.

296. Jiang C, Li G, Huang P, Liu Z, Zhao B. The Gut Microbiota and Alzheimer's Disease. *J Alzheimers Dis JAD*. 2017;58(1):1–15.
297. Bostanciklioğlu M. The role of gut microbiota in pathogenesis of Alzheimer's disease. *J Appl Microbiol*. 2019 Oct;127(4):954–67.
298. Hu X, Wang T, Jin F. Alzheimer's disease and gut microbiota. *Sci China Life Sci*. 2016 Oct;59(10):1006–23.
299. Szablewski L. Human Gut Microbiota in Health and Alzheimer's Disease. *J Alzheimers Dis JAD*. 2018;62(2):549–60.
300. Ghoshal S, Witta J, Zhong J, de Villiers W, Eckhardt E. Chylomicrons promote intestinal absorption of lipopolysaccharides. *J Lipid Res*. 2009 Jan;50(1):90–7.
301. Laugerette F, Vors C, Géoën A, Chauvin M-A, Soulage C, Lambert-Porcheron S, et al. Emulsified lipids increase endotoxemia: possible role in early postprandial low-grade inflammation. *J Nutr Biochem*. 2011 Jan;22(1):53–9.
302. Laugerette F, Furet J-P, Debarb C, Daira P, Loizon E, Géoën A, et al. Oil composition of high-fat diet affects metabolic inflammation differently in connection with endotoxin receptors in mice. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2012 Feb 1;302(3):E374–386.
303. Cani PD, Bibiloni R, Knauf C, Waget A, Neyrinck AM, Delzenne NM, et al. Changes in Gut Microbiota Control Metabolic Endotoxemia-Induced Inflammation in High-Fat Diet-Induced Obesity and Diabetes in Mice. *Diabetes*. 2008 Jun 1;57(6):1470–81.
304. Neal MD, Leaphart C, Levy R, Prince J, Billiar TR, Watkins S, et al. Enterocyte TLR4 mediates phagocytosis and translocation of bacteria across the intestinal barrier. *J Immunol Baltim Md 1950*. 2006 Mar 1;176(5):3070–9.
305. Moreno-Navarrete JM, Escoté X, Ortega F, Serino M, Campbell M, Michalski M-C, et al. A role for adipocyte-derived lipopolysaccharide-binding protein in inflammation- and obesity-associated adipose tissue dysfunction. *Diabetologia*. 2013 Nov;56(11):2524–37.
306. Serrano M, Moreno-Navarrete JM, Puig J, Moreno M, Guerra E, Ortega F, et al. Serum lipopolysaccharide-binding protein as a marker of atherosclerosis. *Atherosclerosis*. 2013 Oct;230(2):223–7.
307. Myc A, Buck J, Gonin J, Reynolds B, Hammerling U, Emanuel D. The level of lipopolysaccharide-binding protein is significantly increased in plasma in patients with the systemic inflammatory response syndrome. *Clin Diagn Lab Immunol*. 1997 Mar;4(2):113–6.
308. Mirmajidi S, Izadi A, Saghafi-Asl M, Vahid F, Karamzad N, Amiri P, et al. Inflammatory Potential of Diet: Association With Chemerin, Omentin, Lipopolysaccharide-Binding Protein, and Insulin Resistance in the Apparently Healthy Obese. *J Am Coll Nutr*. 2019 Jun;38(4):302–10.
309. Kong Y, Li Z, Tang T, Wu H, Liu J, Gu L, et al. The level of lipopolysaccharide-binding protein is elevated in adult patients with obstructive sleep apnea. *BMC Pulm Med*. 2018 May 29;18(1):90.

310. Lim PS, Chang Y-K, Wu T-K. Serum Lipopolysaccharide-Binding Protein is Associated with Chronic Inflammation and Metabolic Syndrome in Hemodialysis Patients. *Blood Purif.* 2019;47(1–3):28–36.
311. Gaïni S, Koldkjaer OG, Møller HJ, Pedersen C, Pedersen SS. A comparison of high-mobility group-box 1 protein, lipopolysaccharide-binding protein and procalcitonin in severe community-acquired infections and bacteraemia: a prospective study. *Crit Care Lond Engl.* 2007;11(4):R76.
312. Gonzalez-Quintela A, Alonso M, Campos J, Vizcaino L, Loidi L, Gude F. Determinants of serum concentrations of lipopolysaccharide-binding protein (LBP) in the adult population: the role of obesity. *PloS One.* 2013;8(1):e54600.
313. Stehle JR, Leng X, Kitzman DW, Nicklas BJ, Kritchevsky SB, High KP. Lipopolysaccharide-Binding Protein, a Surrogate Marker of Microbial Translocation, Is Associated With Physical Function in Healthy Older Adults. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2012 Nov;67(11):1212–8.
314. Moreno-Navarrete JM, Blasco G, Puig J, Biarnés C, Rivero M, Gich J, et al. Neuroinflammation in obesity: circulating lipopolysaccharide-binding protein associates with brain structure and cognitive performance. *Int J Obes.* 2017 Nov;41(11):1627.
315. Kim KE, Heo JS, Han S, Kwon S-K, Kim S-Y, Kim JH, et al. Blood concentrations of lipopolysaccharide-binding protein, high-sensitivity C-reactive protein, tumor necrosis factor- α , and Interleukin-6 in relation to insulin resistance in young adolescents. *Clin Chim Acta Int J Clin Chem.* 2018 Nov;486:115–21.
316. Hudgins LC, Parker TS, Levine DM, Gordon BR, Saal SD, Jiang X-C, et al. A single intravenous dose of endotoxin rapidly alters serum lipoproteins and lipid transfer proteins in normal volunteers. *J Lipid Res.* 2003 Aug;44(8):1489–98.
317. Tuomi K, Logomarsino JV. Bacterial Lipopolysaccharide, Lipopolysaccharide-Binding Protein, and Other Inflammatory Markers in Obesity and After Bariatric Surgery. *Metab Syndr Relat Disord.* 2016;14(6):279–88.
318. Schumann RR. Old and new findings on lipopolysaccharide-binding protein: a soluble pattern-recognition molecule. *Biochem Soc Trans.* 2011 Aug;39(4):989–93.
319. Tobias PS, Mathison JC, Ulevitch RJ. A family of lipopolysaccharide binding proteins involved in responses to gram-negative sepsis. *J Biol Chem.* 1988 Sep 25;263(27):13479–81.
320. Hailman E, Lichenstein HS, Wurfel MM, Miller DS, Johnson DA, Kelley M, et al. Lipopolysaccharide (LPS)-binding protein accelerates the binding of LPS to CD14. *J Exp Med.* 1994 Jan 1;179(1):269–77.
321. Tobias PS, Ulevitch RJ. Lipopolysaccharide binding protein and CD14 in LPS dependent macrophage activation. *Immunobiology.* 1993 Apr;187(3–5):227–32.
322. Schumann RR, Leong SR, Flaggs GW, Gray PW, Wright SD, Mathison JC, et al. Structure and function of lipopolysaccharide binding protein. *Science.* 1990 Sep 21;249(4975):1429–31.

323. Schröder NWJ, Schumann RR. Non-LPS targets and actions of LPS binding protein (LBP). *J Endotoxin Res.* 2005;11(4):237–42.
324. Haziot A, Ferrero E, Köntgen F, Hijiya N, Yamamoto S, Silver J, et al. Resistance to endotoxin shock and reduced dissemination of gram-negative bacteria in CD14-deficient mice. *Immunity.* 1996 Apr;4(4):407–14.
325. Park BS, Lee J-O. Recognition of lipopolysaccharide pattern by TLR4 complexes. *Exp Mol Med.* 2013 Dec;45(12):e66.
326. Tomlinson JE, Blikslager AT. Interactions between lipopolysaccharide and the intestinal epithelium. *J Am Vet Med Assoc.* 2004 May 1;224(9):1446–52.
327. Heumann D, Roger T. Initial responses to endotoxins and Gram-negative bacteria. *Clin Chim Acta Int J Clin Chem.* 2002 Sep;323(1–2):59–72.
328. Marcos V, Latzin P, Hector A, Sonanini S, Hoffmann F, Lacher M, et al. Expression, regulation and clinical significance of soluble and membrane CD14 receptors in pediatric inflammatory lung diseases. *Respir Res.* 2010 Mar 19;11:32.
329. Boutagy NE, McMillan RP, Frisard MI, Hulver MW. Metabolic endotoxemia with obesity: Is it real and is it relevant? *Biochimie.* 2016 May;124:11–20.
330. Pearce K, Estanislao D, Fareed S, Tremellen K. Metabolic Endotoxemia, Feeding Studies and the Use of the Limulus Amebocyte (LAL) Assay; Is It Fit for Purpose? *Diagn Basel Switz.* 2020 Jun 24;10(6).
331. Pais de Barros J-P, Gautier T, Sali W, Adrie C, Choubley H, Charron E, et al. Quantitative lipopolysaccharide analysis using HPLC/MS/MS and its combination with the limulus amebocyte lysate assay. *J Lipid Res.* 2015 Jul;56(7):1363–9.
332. Weil D, Pais de Barros J-P, Mourey G, Laheurte C, Cypriani B, Badet N, et al. Circulating levels of 3-hydroxymyristate, a direct quantification of endotoxaemia in noninfected cirrhotic patients. *Liver Int Off J Int Assoc Study Liver.* 2019;39(1):106–14.
333. Wan Y, Freeswick PD, Khemlani LS, Kispert PH, Wang SC, Su GL, et al. Role of lipopolysaccharide (LPS), interleukin-1, interleukin-6, tumor necrosis factor, and dexamethasone in regulation of LPS-binding protein expression in normal hepatocytes and hepatocytes from LPS-treated rats. *Infect Immun.* 1995 Jan 7;63(7):2435–42.
334. Hiki N, Berger D, Dentener MA, Mimura Y, Buurman WA, Prigl C, et al. Changes in endotoxin-binding proteins during major elective surgery: important role for soluble CD14 in regulation of biological activity of systemic endotoxin. *Clin Diagn Lab Immunol.* 1999 Nov;6(6):844–50.
335. Kopp F, Kupsch S, Schromm AB. Lipopolysaccharide-binding protein is bound and internalized by host cells and colocalizes with LPS in the cytoplasm: Implications for a role of LBP in intracellular LPS-signaling. *Biochim Biophys Acta.* 2016 Apr;1863(4):660–72.
336. Laugerette F, Alligier M, Bastard J-P, Draï J, Chanséaume E, Lambert-Porcheron S, et al. Overfeeding increases postprandial endotoxemia in men: Inflammatory outcome may depend on LPS transporters LBP and sCD14. *Mol Nutr Food Res.* 2014 Jul;58(7):1513–8.

337. Pardon MC. Lipopolysaccharide hyporesponsiveness: protective or damaging response to the brain? *Romanian J Morphol Embryol Rev Roum Morphol Embryol*. 2015;56(3):903–13.
338. Lindberg AA, Weintraub A, Zähringer U, Rietschel ET. Structure-activity relationships in lipopolysaccharides of *Bacteroides fragilis*. *Rev Infect Dis*. 1990 Feb;12 Suppl 2:S133–141.
339. Hakansson A, Molin G. Gut microbiota and inflammation. *Nutrients*. 2011;3(6):637–82.
340. Zweigner J, Gramm H-J, Singer OC, Wegscheider K, Schumann RR. High concentrations of lipopolysaccharide-binding protein in serum of patients with severe sepsis or septic shock inhibit the lipopolysaccharide response in human monocytes. *Blood*. 2001 Dec 15;98(13):3800–8.
341. Schumann RR, Latz E. Lipopolysaccharide-binding protein. *Chem Immunol*. 2000;74:42–60.
342. Wurfel MM, Kunitake ST, Lichenstein H, Kane JP, Wright SD. Lipopolysaccharide (LPS)-binding protein is carried on lipoproteins and acts as a cofactor in the neutralization of LPS. *J Exp Med*. 1994 Sep 1;180(3):1025–35.
343. Harris HW, Rockey DC, Chau P. Chylomicrons alter the hepatic distribution and cellular response to endotoxin in rats. *Hepatology*. 1998 May;27(5):1341–8.
344. Vreugdenhil ACE, Rousseau CH, Hartung T, Greve JWM, van 't Veer C, Buurman WA. Lipopolysaccharide (LPS)-binding protein mediates LPS detoxification by chylomicrons. *J Immunol*. 2003 Feb 1;170(3):1399–405.
345. Marra MN, Wilde CG, Griffith JE, Snable JL, Scott RW. Bactericidal/permeability-increasing protein has endotoxin-neutralizing activity. *J Immunol*. 1990 Jan 15;144(2):662–6.
346. Gautier T, Klein A, Deckert V, Desrumaux C, Ogier N, Sberna A-L, et al. Effect of plasma phospholipid transfer protein deficiency on lethal endotoxemia in mice. *J Biol Chem*. 2008 Jul 4;283(27):18702–10.
347. Brown BI. Nutritional Management of Metabolic Endotoxemia: A Clinical Review. *Altern Ther Health Med*. 2017 Jul;23(4):42–54.
348. Opal SM, Scannon PJ, Vincent J-L, White M, Carroll SF, Palardy JE, et al. Relationship between Plasma Levels of Lipopolysaccharide (LPS) and LPS-Binding Protein in Patients with Severe Sepsis and Septic Shock. *J Infect Dis*. 1999 Nov 1;180(5):1584–9.
349. Shen J, Obin MS, Zhao L. The gut microbiota, obesity and insulin resistance. *Mol Aspects Med*. 2013 Feb;34(1):39–58.
350. Cani PD, Amar J, Iglesias MA, Poggi M, Knauf C, Bastelica D, et al. Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance. *Diabetes*. 2007 Jul;56(7):1761–72.

351. Organisation Mondiale de la Santé - Principaux repère sur l'obésité et le surpoids [Internet]. 2020 [cited 2020 sept 23]. Available from: <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>.
352. INSERM - Diabète de type 2 [Internet]. 2019 [cited 2020 sep 23]. Available from: <https://www.inserm.fr/information-en-sante/dossiers-information/diabete-type-2>.
353. O'Neill S, O'Driscoll L. Metabolic syndrome: a closer look at the growing epidemic and its associated pathologies. *Obes Rev Off J Int Assoc Study Obes*. 2015 Jan;16(1):1–12.
354. Galassi A, Reynolds K, He J. Metabolic syndrome and risk of cardiovascular disease: a meta-analysis. *Am J Med*. 2006 Oct;119(10):812–9.
355. Piya MK, Harte AL, McTernan PG. Metabolic endotoxaemia: is it more than just a gut feeling? *Curr Opin Lipidol*. 2013 Feb;24(1):78–85.
356. Cox AJ, West NP, Cripps AW. Obesity, inflammation, and the gut microbiota. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2015 Mar 1;3(3):207–15.
357. Gomes JMG, Costa J de A, Alfenas R de CG. Metabolic endotoxemia and diabetes mellitus: A systematic review. *Metabolism*. 2017 Mar 1;68:133–44.
358. Lontchi-Yimagou E, Sobngwi E, Matsha TE, Kengne AP. Diabetes mellitus and inflammation. *Curr Diab Rep*. 2013 Jun;13(3):435–44.
359. Creely SJ, McTernan PG, Kusminski CM, Fisher ff M, Da Silva NF, Khanolkar M, et al. Lipopolysaccharide activates an innate immune system response in human adipose tissue in obesity and type 2 diabetes. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2007 Mar;292(3):E740–747.
360. Pussinen PJ, Havulinna AS, Lehto M, Sundvall J, Salomaa V. Endotoxemia is associated with an increased risk of incident diabetes. *Diabetes Care*. 2011 Feb;34(2):392–7.
361. Chen X, Devaraj S. Monocytes from metabolic syndrome subjects exhibit a proinflammatory M1 phenotype. *Metab Syndr Relat Disord*. 2014 Sep;12(7):362–6.
362. Miller MA, McTernan PG, Harte AL, Silva NF da, Strazzullo P, Alberti KGMM, et al. Ethnic and sex differences in circulating endotoxin levels: A novel marker of atherosclerotic and cardiovascular risk in a British multi-ethnic population. *Atherosclerosis*. 2009 Apr;203(2):494–502.
363. Pussinen PJ, Tuomisto K, Jousilahti P, Havulinna AS, Sundvall J, Salomaa V. Endotoxemia, immune response to periodontal pathogens, and systemic inflammation associate with incident cardiovascular disease events. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2007 Jun;27(6):1433–9.
364. Patel PN, Shah RY, Ferguson JF, Reilly MP. Human experimental endotoxemia in modeling the pathophysiology, genomics, and therapeutics of innate immunity in complex cardiometabolic diseases. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2015 Mar;35(3):525–34.

365. Mehta NN, Heffron SP, Patel PN, Ferguson J, Shah RD, Hinkle CC, et al. A human model of inflammatory cardio-metabolic dysfunction; a double blind placebo-controlled crossover trial. *J Transl Med.* 2012 Jun 18;10:124.
366. GBD 2013 Mortality and Causes of Death Collaborators. Global, regional, and national age-sex specific all-cause and cause-specific mortality for 240 causes of death, 1990-2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *Lancet Lond Engl.* 2015 Jan 10;385(9963):117–71.
367. Wiedermann CJ, Kiechl S, Dunzendorfer S, Schratzberger P, Egger G, Oberhollenzer F, et al. Association of endotoxemia with carotid atherosclerosis and cardiovascular disease: prospective results from the Bruneck Study. *J Am Coll Cardiol.* 1999 Dec;34(7):1975–81.
368. Kallio KAE, Hätönen KA, Lehto M, Salomaa V, Männistö S, Pussinen PJ. Endotoxemia, nutrition, and cardiometabolic disorders. *Acta Diabetol.* 2015 Apr;52(2):395–404.
369. van Lier D, Geven C, Leijte GP, Pickkers P. Experimental human endotoxemia as a model of systemic inflammation. *Biochimie.* 2019 Apr;159:99–106.
370. Batista CRA, Gomes GF, Candelario-Jalil E, Fiebich BL, de Oliveira ACP. Lipopolysaccharide-Induced Neuroinflammation as a Bridge to Understand Neurodegeneration. *Int J Mol Sci.* 2019 May 9;20(9).
371. Zakaria R, Wan Yaacob WM, Othman Z, Long I, Ahmad AH, Al-Rahbi B. Lipopolysaccharide-induced memory impairment in rats: a model of Alzheimer's disease. *Physiol Res.* 2017 22;66(4):553–65.
372. Tufekci KU, Genc S, Genc K. The endotoxin-induced neuroinflammation model of Parkinson's disease. *Park Dis.* 2011 Jan 18;2011:487450.
373. Deng X, Li M, Ai W, He L, Lu D, Patrylo PR, et al. Lipolysaccharide-Induced Neuroinflammation Is Associated with Alzheimer-Like Amyloidogenic Axonal Pathology and Dendritic Degeneration in Rats. *Adv Alzheimers Dis.* 2014 Jun;3(2):78–93.
374. Deng X-H, Ai W-M, Lei D-L, Luo X-G, Yan X-X, Li Z. Lipopolysaccharide induces paired immunoglobulin-like receptor B (PirB) expression, synaptic alteration, and learning-memory deficit in rats. *Neuroscience.* 2012 May 3;209:161–70.
375. Hauss-Wegrzyniak B, Dobrzanski P, Stoehr JD, Wenk GL. Chronic neuroinflammation in rats reproduces components of the neurobiology of Alzheimer's disease. *Brain Res.* 1998 Jan 12;780(2):294–303.
376. Tanaka S, Ide M, Shibutani T, Ohtaki H, Numazawa S, Shioda S, et al. Lipopolysaccharide-induced microglial activation induces learning and memory deficits without neuronal cell death in rats. *J Neurosci Res.* 2006 Mar;83(4):557–66.
377. Qiao X, Cummins DJ, Paul SM. Neuroinflammation-induced acceleration of amyloid deposition in the APPV717F transgenic mouse. *Eur J Neurosci.* 2001 Aug;14(3):474–82.

378. Sheng JG, Bora SH, Xu G, Borchelt DR, Price DL, Koliatsos VE. Lipopolysaccharide-induced-neuroinflammation increases intracellular accumulation of amyloid precursor protein and amyloid beta peptide in APPswe transgenic mice. *Neurobiol Dis.* 2003 Oct;14(1):133–45.
379. Kitazawa M, Oddo S, Yamasaki TR, Green KN, LaFerla FM. Lipopolysaccharide-induced inflammation exacerbates tau pathology by a cyclin-dependent kinase 5-mediated pathway in a transgenic model of Alzheimer's disease. *J Neurosci Off J Soc Neurosci.* 2005 Sep 28;25(39):8843–53.
380. Qin L, Wu X, Block ML, Liu Y, Breese GR, Hong J-S, et al. Systemic LPS causes chronic neuroinflammation and progressive neurodegeneration. *Glia.* 2007 Apr 1;55(5):453–62.
381. Qin L, Liu Y, Hong J-S, Crews FT. NADPH oxidase and aging drive microglial activation, oxidative stress, and dopaminergic neurodegeneration following systemic LPS administration. *Glia.* 2013 Jun;61(6):855–68.
382. Bossù P, Cutuli D, Palladino I, Caporali P, Angelucci F, Laricchiuta D, et al. A single intraperitoneal injection of endotoxin in rats induces long-lasting modifications in behavior and brain protein levels of TNF- α and IL-18. *J Neuroinflammation.* 2012 May 29;9:101.
383. Lee J, Chan SL, Mattson MP. Adverse effect of a presenilin-1 mutation in microglia results in enhanced nitric oxide and inflammatory cytokine responses to immune challenge in the brain. *Neuromolecular Med.* 2002;2(1):29–45.
384. Quan N, Sundar SK, Weiss JM. Induction of interleukin-1 in various brain regions after peripheral and central injections of lipopolysaccharide. *J Neuroimmunol.* 1994 Jan;49(1–2):125–34.
385. Sly LM, Krzesicki RF, Brashler JR, Buhl AE, McKinley DD, Carter DB, et al. Endogenous brain cytokine mRNA and inflammatory responses to lipopolysaccharide are elevated in the Tg2576 transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *Brain Res Bull.* 2001 Dec;56(6):581–8.
386. Godbout JP, Johnson RW. Age and neuroinflammation: a lifetime of psychoneuroimmune consequences. *Immunol Allergy Clin North Am.* 2009 May;29(2):321–37.
387. Bahador M, Cross AS. From therapy to experimental model: a hundred years of endotoxin administration to human subjects. *J Endotoxin Res.* 2007;13(5):251–79.
388. Sender R, Fuchs S, Milo R. Revised Estimates for the Number of Human and Bacteria Cells in the Body. *PLoS Biol.* 2016;14(8):e1002533.
389. Erridge C, Attina T, Spickett CM, Webb DJ. A high-fat meal induces low-grade endotoxemia: evidence of a novel mechanism of postprandial inflammation. *Am J Clin Nutr.* 2007 Nov;86(5):1286–92.
390. Krabbe KS, Reichenberg A, Yirmiya R, Smed A, Pedersen BK, Bruunsgaard H. Low-dose endotoxemia and human neuropsychological functions. *Brain Behav Immun.* 2005 Sep;19(5):453–60.

391. Grigoleit J-S, Oberbeck JR, Lichte P, Kobbe P, Wolf OT, Montag T, et al. Lipopolysaccharide-induced experimental immune activation does not impair memory functions in humans. *Neurobiol Learn Mem*. 2010 Nov;94(4):561–7.
392. Grigoleit J-S, Kullmann JS, Wolf OT, Hammes F, Wegner A, Jablonowski S, et al. Dose-dependent effects of endotoxin on neurobehavioral functions in humans. *PloS One*. 2011;6(12):e28330.
393. Reichenberg A, Yirmiya R, Schuld A, Kraus T, Haack M, Morag A, et al. Cytokine-associated emotional and cognitive disturbances in humans. *Arch Gen Psychiatry*. 2001 May;58(5):445–52.
394. Cohen O, Reichenberg A, Perry C, Ginzberg D, Pollmächer T, Soreq H, et al. Endotoxin-induced changes in human working and declarative memory associate with cleavage of plasma “readthrough” acetylcholinesterase. *J Mol Neurosci MN*. 2003;21(3):199–212.
395. Sandiego CM, Gallezot J-D, Pittman B, Nabulsi N, Lim K, Lin S-F, et al. Imaging robust microglial activation after lipopolysaccharide administration in humans with PET. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2015 Oct 6;112(40):12468–73.
396. Zhang R, Miller RG, Gascon R, Champion S, Katz J, Lancero M, et al. Circulating endotoxin and systemic immune activation in sporadic amyotrophic lateral sclerosis (sALS). *J Neuroimmunol*. 2009 Jan 3;206(1–2):121–4.
397. van den Boogaard M, Ramakers BP, van Alfen N, van der Werf SP, Fick WF, Hoedemaekers CW, et al. Endotoxemia-induced inflammation and the effect on the human brain. *Crit Care Lond Engl*. 2010;14(3):R81.
398. Vassallo M, Dunais B, Durant J, Carsenti-Dellamonica H, Harvey-Langton A, Cottalorda J, et al. Relevance of lipopolysaccharide levels in HIV-associated neurocognitive impairment: the Neuradapt study. *J Neurovirol*. 2013 Aug;19(4):376–82.
399. Lyons JL, Uno H, Ancuta P, Kamat A, Moore DJ, Singer EJ, et al. Plasma sCD14 is a biomarker associated with impaired neurocognitive test performance in attention and learning domains in HIV infection. *J Acquir Immune Defic Syndr* 1999. 2011 Aug 15;57(5):371–9.
400. Jespersen S, Pedersen KK, Anesten B, Zetterberg H, Fuchs D, Gisslén M, et al. Soluble CD14 in cerebrospinal fluid is associated with markers of inflammation and axonal damage in untreated HIV-infected patients: a retrospective cross-sectional study. *BMC Infect Dis*. 2016 Apr 21;16:176.
401. Monnig MA, Kahler CW, Cioe PA, Monti PM, Mayer KH, Pantalone DW, et al. Markers of Microbial Translocation and Immune Activation Predict Cognitive Processing Speed in Heavy-Drinking Men Living with HIV. *Microorganisms*. 2017 Sep 21;5(4).
402. Madison AA, Belury MA, Andridge R, Shrout MR, Renna ME, Malarkey WB, et al. Afternoon distraction: a high-saturated-fat meal and endotoxemia impact postmeal attention in a randomized crossover trial. *Am J Clin Nutr*. 2020 01;111(6):1150–8.

403. Imp BM, Rubin LH, Tien PC, Plankey MW, Golub ET, French AL, et al. Monocyte Activation Is Associated With Worse Cognitive Performance in HIV-Infected Women With Virologic Suppression. *J Infect Dis.* 2017 Jan 1;215(1):114–21.
404. Royal W, Cherner M, Burdo TH, Umlauf A, Letendre SL, Jumare J, et al. Associations between Cognition, Gender and Monocyte Activation among HIV Infected Individuals in Nigeria. *PloS One.* 2016;11(2):e0147182.
405. Ancuta P, Kamat A, Kunstman KJ, Kim E-Y, Autissier P, Wurcel A, et al. Microbial translocation is associated with increased monocyte activation and dementia in AIDS patients. *PloS One.* 2008 Jun 25;3(6):e2516.
406. Wang X, Niu Y, Yue C-X, Fu S, Wang R-T. Increased ileal bile acid binding protein and galectin-9 are associated with mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *J Psychiatr Res.* 2019;119:102–6.
407. Zhan X, Stamova B, Jin L-W, DeCarli C, Phinney B, Sharp FR. Gram-negative bacterial molecules associate with Alzheimer disease pathology. *Neurology.* 2016 Nov 29;87(22):2324–32.
408. Zhao Y, Jaber V, Lukiw WJ. Secretory Products of the Human GI Tract Microbiome and Their Potential Impact on Alzheimer's Disease (AD): Detection of Lipopolysaccharide (LPS) in AD Hippocampus. *Front Cell Infect Microbiol.* 2017;7:318.
409. Deopurkar R, Ghanim H, Friedman J, Abuaysheh S, Sia CL, Mohanty P, et al. Differential effects of cream, glucose, and orange juice on inflammation, endotoxin, and the expression of Toll-like receptor-4 and suppressor of cytokine signaling-3. *Diabetes Care.* 2010 May;33(5):991–7.
410. Schmid A, Petry N, Walther B, Bütikofer U, Luginbühl W, Gille D, et al. Inflammatory and metabolic responses to high-fat meals with and without dairy products in men. *Br J Nutr.* 2015 Jun 28;113(12):1853–61.
411. Schwander F, Kopf-Bolanz KA, Buri C, Portmann R, Egger L, Chollet M, et al. A dose-response strategy reveals differences between normal-weight and obese men in their metabolic and inflammatory responses to a high-fat meal. *J Nutr.* 2014 Oct;144(10):1517–23.
412. Vors C, Pineau G, Draï J, Meugnier E, Pesenti S, Laville M, et al. Postprandial Endotoxemia Linked With Chylomicrons and Lipopolysaccharides Handling in Obese Versus Lean Men: A Lipid Dose-Effect Trial. *J Clin Endocrinol Metab.* 2015 Sep;100(9):3427–35.
413. Lyte JM, Gabler NK, Hollis JH. Postprandial serum endotoxin in healthy humans is modulated by dietary fat in a randomized, controlled, cross-over study. *Lipids Health Dis.* 2016 Nov 5;15(1):186.
414. Vors C, Draï J, Pineau G, Laville M, Vidal H, Laugerette F, et al. Emulsifying dietary fat modulates postprandial endotoxemia associated with chylomicronemia in obese men: a pilot randomized crossover study. *Lipids Health Dis.* 2017 May 25;16(1):97.

415. Ghanim H, Batra M, Abuaysheh S, Green K, Makdissi A, Kuhadiya ND, et al. Antiinflammatory and ROS Suppressive Effects of the Addition of Fiber to a High-Fat High-Calorie Meal. *J Clin Endocrinol Metab.* 2017 Mar 1;102(3):858–69.
416. Ghanim H, Abuaysheh S, Sia CL, Korzeniewski K, Chaudhuri A, Fernandez-Real JM, et al. Increase in plasma endotoxin concentrations and the expression of Toll-like receptors and suppressor of cytokine signaling-3 in mononuclear cells after a high-fat, high-carbohydrate meal: implications for insulin resistance. *Diabetes Care.* 2009 Dec;32(12):2281–7.
417. Milan AM, Pundir S, Pileggi CA, Markworth JF, Lewandowski PA, Cameron-Smith D. Comparisons of the Postprandial Inflammatory and Endotoxaemic Responses to Mixed Meals in Young and Older Individuals: A Randomised Trial. *Nutrients.* 2017 Apr 2;9(4).
418. Moreira APB, Teixeira TFS, Alves RDM, Peluzio MCG, Costa NMB, Bressan J, et al. Effect of a high-fat meal containing conventional or high-oleic peanuts on post-prandial lipopolysaccharide concentrations in overweight/obese men. *J Hum Nutr Diet Off J Br Diet Assoc.* 2016 Feb;29(1):95–104.
419. Harte AL, Varma MC, Tripathi G, McGee KC, Al-Daghri NM, Al-Attas OS, et al. High fat intake leads to acute postprandial exposure to circulating endotoxin in type 2 diabetic subjects. *Diabetes Care.* 2012 Feb;35(2):375–82.
420. Clemente-Postigo M, Queipo-Ortuño MI, Murri M, Boto-Ordoñez M, Perez-Martinez P, Andres-Lacueva C, et al. Endotoxin increase after fat overload is related to postprandial hypertriglyceridemia in morbidly obese patients. *J Lipid Res.* 2012 May;53(5):973–8.
421. Al-Disi DA, Al-Daghri NM, Khan N, Alfadda AA, Sallam RM, Alsaif M, et al. Postprandial Effect of a High-Fat Meal on Endotoxemia in Arab Women with and without Insulin-Resistance-Related Diseases. *Nutrients.* 2015 Aug 4;7(8):6375–89.
422. Lopez-Moreno J, Garcia-Carpintero S, Gomez-Delgado F, Jimenez-Lucena R, Vals-Delgado C, Alcala-Diaz JF, et al. Endotoxemia is modulated by quantity and quality of dietary fat in older adults. *Exp Gerontol.* 2018;109:119–25.
423. López-Moreno J, García-Carpintero S, Jimenez-Lucena R, Haro C, Rangel-Zúñiga OA, Blanco-Rojo R, et al. Effect of Dietary Lipids on Endotoxemia Influences Postprandial Inflammatory Response. *J Agric Food Chem.* 2017 Sep 6;65(35):7756–63.
424. Pendyala S, Walker JM, Holt PR. A high-fat diet is associated with endotoxemia that originates from the gut. *Gastroenterology.* 2012 May;142(5):1100-1101.e2.
425. Breusing N, Lagerpusch M, Engstler AJ, Bergheim I, Mueller MJ, Bosy-Westphal A. Influence of Energy Balance and Glycemic Index on Metabolic Endotoxemia in Healthy Men. *J Am Coll Nutr.* 2017;36(1):72–9.
426. Amar J, Burcelin R, Ruidavets JB, Cani PD, Fauvel J, Alessi MC, et al. Energy intake is associated with endotoxemia in apparently healthy men. *Am J Clin Nutr.* 2008 May;87(5):1219–23.

427. R  yti   H, Mokkala K, Vahlberg T, Laitinen K. Dietary intake of fat and fibre according to reference values relates to higher gut microbiota richness in overweight pregnant women. *Br J Nutr.* 2017 Sep;118(5):343–52.
428. Ahola AJ, Lassenius MI, Forsblom C, Harjutsalo V, Lehto M, Groop P-H. Dietary patterns reflecting healthy food choices are associated with lower serum LPS activity. *Sci Rep.* 2017 26;7(1):6511.
429. Pastori D, Carnevale R, Nocella C, Novo M, Santulli M, Cammisotto V, et al. Gut-Derived Serum Lipopolysaccharide is Associated With Enhanced Risk of Major Adverse Cardiovascular Events in Atrial Fibrillation: Effect of Adherence to Mediterranean Diet. *J Am Heart Assoc.* 2017 Jun 5;6(6).
430. Makki K, Deehan EC, Walter J, Bäckhed F. The Impact of Dietary Fiber on Gut Microbiota in Host Health and Disease. *Cell Host Microbe.* 2018 13;23(6):705–15.
431. Dogan S, Celikbilek M, Guven K. High fructose consumption can induce endotoxemia. *Gastroenterology.* 2012 Sep;143(3):e29.
432. 3C Study Group. Vascular factors and risk of dementia: design of the Three-City Study and baseline characteristics of the study population. *Neuroepidemiology.* 2003 Dec;22(6):316–25.
433. 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 Nov;12(3):189–98.
434. Benton AL. Manuel du test de r  tention visuelle: applications cliniques et expérimentales. Paris: Editions du Centre de psychologie appliquée; 1953.
435. Isaacs B, Kennie AT. The Set test as an aid to the detection of dementia in old people. *Br J Psychiatry J Ment Sci.* 1973 Oct;123(575):467–70.
436. Reitan RM. Validity of the Trail Making Test as an Indicator of Organic Brain Damage. *Percept Mot Skills.* 1958;8(3):271–6. DOI: 10.2466/pms.1958.8.3.271.
437. Samieri C, Sonawane AR, Lefèvre-Arbogast S, Helmer C, Grodstein F, Glass K. Using network science tools to identify novel diet patterns in prodromal dementia. *Neurology.* 2020 12;94(19):e2014–25.
438. Samieri C, Jutand M-A, F  art C, Capuron L, Letenneur L, Barberger-Gateau P. Dietary patterns derived by hybrid clustering method in older people: association with cognition, mood, and self-rated health. *J Am Diet Assoc.* 2008 Sep;108(9):1461–71.
439. F  art C, Jutand MA, Larrieu S, Letenneur L, Delcourt C, Combe N, et al. Energy, macronutrient and fatty acid intake of French elderly community dwellers and association with socio-demographic characteristics: data from the Bordeaux sample of the Three-City Study. *Br J Nutr.* 2007 Nov;98(5):1046–57.
440. de Jager W, Bourcier K, Rijkers GT, Prakken BJ, Seyfert-Margolis V. Prerequisites for cytokine measurements in clinical trials with multiplex immunoassays. *BMC Immunol.* 2009 Sep 28;10:52.

441. Delcourt C, Korobelnik J-F, Barberger-Gateau P, Delyfer M-N, Rougier M-B, Le Goff M, et al. Nutrition and age-related eye diseases: the Alienor (Antioxydants, Lipides Essentiels, Nutrition et maladies OculaiRes) Study. *J Nutr Health Aging*. 2010 Dec;14(10):854–61.
442. Sofi F, Macchi C, Abbate R, Gensini GF, Casini A. Mediterranean diet and health status: an updated meta-analysis and a proposal for a literature-based adherence score. *Public Health Nutr*. 2014 Dec;17(12):2769–82.
443. Guigoz Y, Vellas B, Garry PJ. Assessing the nutritional status of the elderly: The Mini Nutritional Assessment as part of the geriatric evaluation. *Nutr Rev*. 1996 Jan;54(1 Pt 2):S59-65.
444. Guigoz Y, Lauque S, Vellas BJ. Identifying the elderly at risk for malnutrition. The Mini Nutritional Assessment. *Clin Geriatr Med*. 2002 Nov;18(4):737–57.
445. Torres MJ, Dorigny B, Kuhn M, Berr C, Barberger-Gateau P, Letenneur L. Nutritional status in community-dwelling elderly in France in urban and rural areas. *PloS One*. 2014;9(8):e105137.
446. Raffaitin C, Gin H, Empana J-P, Helmer C, Berr C, Tzourio C, et al. Metabolic syndrome and risk for incident Alzheimer’s disease or vascular dementia: the Three-City Study. *Diabetes Care*. 2009 Jan;32(1):169–74.
447. Grundy SM, Cleeman JI, Daniels SR, Donato KA, Eckel RH, Franklin BA, et al. Diagnosis and management of the metabolic syndrome: an American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement. *Circulation*. 2005 Oct 25;112(17):2735–52.
448. FUHRER R, ROUILLON F, Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale. (I.N.S.E.R.M.). Unité 169. Villejuif. FRA. La version française de l’échelle CES-D (Center for Epidemiologic Studies-Depression Scale). Description et traduction de l’échelle d’autoévaluation. *Psychiatr Psychobiol*. 1989;(4):163–6.
449. Heiat A, Vaccarino V, Krumholz HM. An evidence-based assessment of federal guidelines for overweight and obesity as they apply to elderly persons. *Arch Intern Med*. 2001 May 14;161(9):1194–203.
450. Centritto F, Iacoviello L, di Giuseppe R, De Curtis A, Costanzo S, Zito F, et al. Dietary patterns, cardiovascular risk factors and C-reactive protein in a healthy Italian population. *Nutr Metab Cardiovasc Dis NMCD*. 2009 Dec;19(10):697–706.
451. Lopez-Garcia E, Schulze MB, Fung TT, Meigs JB, Rifai N, Manson JE, et al. Major dietary patterns are related to plasma concentrations of markers of inflammation and endothelial dysfunction. *Am J Clin Nutr*. 2004 Oct;80(4):1029–35.
452. Nanri H, Nakamura K, Hara M, Higaki Y, Imaizumi T, Taguchi N, et al. Association between dietary pattern and serum C-reactive protein in Japanese men and women. *J Epidemiol*. 2011;21(2):122–31.
453. Nettleton JA, Steffen LM, Mayer-Davis EJ, Jenny NS, Jiang R, Herrington DM, et al. Dietary patterns are associated with biochemical markers of inflammation and endothelial

- activation in the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). *Am J Clin Nutr.* 2006 Jun;83(6):1369–79.
454. Meyer J, Döring A, Herder C, Roden M, Koenig W, Thorand B. Dietary patterns, subclinical inflammation, incident coronary heart disease and mortality in middle-aged men from the MONICA/KORA Augsburg cohort study. *Eur J Clin Nutr.* 2011 Jul;65(7):800–7.
 455. Lam YY, Ha CWY, Campbell CR, Mitchell AJ, Dinudom A, Oscarsson J, et al. Increased gut permeability and microbiota change associate with mesenteric fat inflammation and metabolic dysfunction in diet-induced obese mice. *PloS One.* 2012;7(3):e34233.
 456. Wong VW-S, Wong GL-H, Chan H-Y, Yeung DK-W, Chan RS-M, Chim AM-L, et al. Bacterial endotoxin and non-alcoholic fatty liver disease in the general population: a prospective cohort study. *Aliment Pharmacol Ther.* 2015 Sep;42(6):731–40.
 457. Clemente-Postigo M, Queipo-Ortuño MI, Boto-Ordoñez M, Coin-Aragüez L, Roca-Rodriguez MDM, Delgado-Lista J, et al. Effect of acute and chronic red wine consumption on lipopolysaccharide concentrations. *Am J Clin Nutr.* 2013 May;97(5):1053–61.
 458. Parlesak A, Schäfer C, Schütz T, Bode JC, Bode C. Increased intestinal permeability to macromolecules and endotoxemia in patients with chronic alcohol abuse in different stages of alcohol-induced liver disease. *J Hepatol.* 2000 May;32(5):742–7.
 459. Bajaj JS. Alcohol, liver disease and the gut microbiota. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2019;16(4):235–46.
 460. Slyepchenko A, Maes M, Machado-Vieira R, Anderson G, Solmi M, Sanz Y, et al. Intestinal Dysbiosis, Gut Hyperpermeability and Bacterial Translocation: Missing Links Between Depression, Obesity and Type 2 Diabetes. *Curr Pharm Des.* 2016;22(40):6087–106.
 461. Hawkesworth S, Moore SE, Fulford AJC, Barclay GR, Darboe AA, Mark H, et al. Evidence for metabolic endotoxemia in obese and diabetic Gambian women. *Nutr Diabetes.* 2013 Aug 26;3:e83.
 462. Monte SV, Caruana JA, Ghanim H, Sia CL, Korzeniewski K, Schentag JJ, et al. Reduction in endotoxemia, oxidative and inflammatory stress, and insulin resistance after Roux-en-Y gastric bypass surgery in patients with morbid obesity and type 2 diabetes mellitus. *Surgery.* 2012 Apr;151(4):587–93.
 463. Festi D, Schiumerini R, Eusebi LH, Marasco G, Taddia M, Colecchia A. Gut microbiota and metabolic syndrome. *World J Gastroenterol.* 2014 Nov 21;20(43):16079–94.
 464. Jialal I, Rajamani U. Endotoxemia of metabolic syndrome: a pivotal mediator of meta-inflammation. *Metab Syndr Relat Disord.* 2014 Nov;12(9):454–6.
 465. Kasubuchi M, Hasegawa S, Hiramatsu T, Ichimura A, Kimura I. Dietary gut microbial metabolites, short-chain fatty acids, and host metabolic regulation. *Nutrients.* 2015 Apr 14;7(4):2839–49.

466. Joseph SV, Edirisinghe I, Burton-Freeman BM. Fruit Polyphenols: A Review of Anti-inflammatory Effects in Humans. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2016;56(3):419–44.
467. Ding JL, Ho B. Endotoxin detection--from limulus amebocyte lysate to recombinant factor C. *Subcell Biochem*. 2010;53:187–208.
468. Hurley JC. Endotoxemia: methods of detection and clinical correlates. *Clin Microbiol Rev*. 1995 Apr;8(2):268–92.
469. Poxton IR, Edmond DM. Biological activity of *Bacteroides* lipopolysaccharide--reappraisal. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. 1995 Jun;20 Suppl 2:S149-153.
470. Berezow AB, Ernst RK, Coats SR, Braham PH, Karimi-Naser LM, Darveau RP. The structurally similar, penta-acylated lipopolysaccharides of *Porphyromonas gingivalis* and *Bacteroides* elicit strikingly different innate immune responses. *Microb Pathog*. 2009 Aug;47(2):68–77.
471. Mathison JC, Tobias PS, Wolfson E, Ulevitch RJ. Plasma lipopolysaccharide (LPS)-binding protein. A key component in macrophage recognition of gram-negative LPS. *J Immunol Baltim Md 1950*. 1992 Jul 1;149(1):200–6.
472. Kowalski K, Mulak A. Brain-Gut-Microbiota Axis in Alzheimer's Disease. *J Neurogastroenterol Motil*. 2019 Jan 31;25(1):48–60.
473. Sochocka M, Donskow-Łysoniewska K, Diniz BS, Kurpas D, Brzozowska E, Leszek J. The Gut Microbiome Alterations and Inflammation-Driven Pathogenesis of Alzheimer's Disease-a Critical Review. *Mol Neurobiol*. 2019 Mar;56(3):1841–51.
474. Pase MP, Himali JJ, Beiser AS, DeCarli C, McGrath ER, Satizabal CL, et al. Association of CD14 with incident dementia and markers of brain aging and injury. *Neurology*. 2020 21;94(3):e254–66.
475. Licastro F, Pedrini S, Caputo L, Annoni G, Davis LJ, Ferri C, et al. Increased plasma levels of interleukin-1, interleukin-6 and alpha-1-antichymotrypsin in patients with Alzheimer's disease: peripheral inflammation or signals from the brain? *J Neuroimmunol*. 2000 Feb 1;103(1):97–102.
476. Angelopoulos P, Agouridaki H, Vaiopoulos H, Siskou E, Doutsou K, Costa V, et al. Cytokines in Alzheimer's disease and vascular dementia. *Int J Neurosci*. 2008 Dec;118(12):1659–72.
477. Wu Y-Y, Hsu J-L, Wang H-C, Wu S-J, Hong C-J, Cheng IH-J. Alterations of the Neuroinflammatory Markers IL-6 and TRAIL in Alzheimer's Disease. *Dement Geriatr Cogn Disord Extra*. 2015 Dec;5(3):424–34.
478. Bonotis K, Krikki E, Holeva V, Aggouridaki C, Costa V, Baloyannis S. Systemic immune aberrations in Alzheimer's disease patients. *J Neuroimmunol*. 2008 Jan;193(1–2):183–7.
479. Dursun E, Gezen-Ak D, Hanağası H, Bilgiç B, Lohmann E, Ertan S, et al. The interleukin 1 alpha, interleukin 1 beta, interleukin 6 and alpha-2-macroglobulin serum

- levels in patients with early or late onset Alzheimer's disease, mild cognitive impairment or Parkinson's disease. *J Neuroimmunol.* 2015 Jun 15;283:50–7.
480. Sun R, Zhu Z, Su Q, Li T, Song Q. Toll-like receptor 4 is involved in bacterial endotoxin-induced endothelial cell injury and SOC-mediated calcium regulation. *Cell Biol Int.* 2012 May 1;36(5):475–81.
 481. Citronberg JS, Wilkens LR, Lim U, Hullar MAJ, White E, Newcomb PA, et al. Reliability of plasma lipopolysaccharide-binding protein (LBP) from repeated measures in healthy adults. *Cancer Causes Control CCC.* 2016 Sep;27(9):1163–6.
 482. Alzheimer's Disease International. 2019. Rapport Mondial Alzheimer 2019 : Attitudes à l'égard de la démence. Londres : Alzheimer's Disease International.
 483. World Health Organisation 2019. Risk reduction of cognitive decline and dementia: WHO guidelines. Geneva: World Health Organization; 2019.
 484. Zimmer J, Lange B, Frick J-S, Sauer H, Zimmermann K, Schwietz A, et al. A vegan or vegetarian diet substantially alters the human colonic faecal microbiota. *Eur J Clin Nutr.* 2012 Jan;66(1):53–60.
 485. Duncan SH, Louis P, Thomson JM, Flint HJ. The role of pH in determining the species composition of the human colonic microbiota. *Environ Microbiol.* 2009 Aug;11(8):2112–22.
 486. Satija A, Bhupathiraju SN, Rimm EB, Spiegelman D, Chiuve SE, Borgi L, et al. Plant-Based Dietary Patterns and Incidence of Type 2 Diabetes in US Men and Women: Results from Three Prospective Cohort Studies. *PLoS Med* [Internet]. 2016 Jun 14 [cited 2020 Sep 26];13(6). Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4907448/>
 487. Scalbert A, Brennan L, Manach C, Andres-Lacueva C, Dragsted LO, Draper J, et al. The food metabolome: a window over dietary exposure. *Am J Clin Nutr.* 2014 Jun;99(6):1286–308.
 488. Low DY, Lefèvre-Arbogast S, González-Domínguez R, Urpi-Sarda M, Micheau P, Petera M, et al. Diet-Related Metabolites Associated with Cognitive Decline Revealed by Untargeted Metabolomics in a Prospective Cohort. *Mol Nutr Food Res.* 2019;63(18):e1900177.
 489. Nelson AM. Addressing the threat of evidence-based practice to qualitative inquiry through increasing attention to quality: a discussion paper. *Int J Nurs Stud.* 2008 Feb;45(2):316–22.
 490. Coyle SM, Calvano SE, Lowry SF. Gender influences in vivo human responses to endotoxin. *Shock Augusta Ga.* 2006 Dec;26(6):538–43.
 491. van Eijk LT, Dorresteyn MJ, Smits P, van der Hoeven JG, Netea MG, Pickkers P. Gender differences in the innate immune response and vascular reactivity following the administration of endotoxin to human volunteers. *Crit Care Med.* 2007 Jun;35(6):1464–9.

ANNEXES

ANNEXE 1

Annexe 1. Critères diagnostiques de la démence de type Alzheimer du DSM-IV-TR (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 4th edition, Text Revision), American Psychiatric Association 2000.

A. Apparition de déficits cognitifs multiples, comme en témoignent à la fois :

1. une altération de la mémoire (altération de la capacité à apprendre des informations nouvelles ou à se rappeler les informations apprises antérieurement) ;
2. une (ou plusieurs) des perturbations cognitives suivantes :
 - a. aphasie (perturbation du langage)
 - b. apraxie (altération de la capacité à réaliser une activité motrice malgré des fonctions motrices intactes)
 - c. agnosie (impossibilité de reconnaître ou d'identifier des objets malgré des fonctions sensorielles intactes)
 - d. perturbation des fonctions exécutives (faire des projets, organiser, ordonner dans le temps, avoir une pensée abstraite).

B. Les déficits cognitifs des critères A1 et A2 sont tous les deux à l'origine d'une altération significative du fonctionnement social ou professionnel et représentent un déclin significatif par rapport au niveau de fonctionnement antérieur.

C. L'évolution est caractérisée par un début progressif et un déclin cognitif continu.

D. Les déficits cognitifs des critères A1 et A2 ne sont pas dus :

1. à d'autres affections du système nerveux central qui peuvent entraîner des déficits progressifs de la mémoire et du fonctionnement cognitif (par exemple : maladie cérébro-vasculaire, maladie de Parkinson, maladie de Huntington, hématome sous-dural, hydrocéphalie à pression normale, tumeur cérébrale) ;
2. à des affections générales pouvant entraîner une démence (par exemple : hypothyroïdie, carence en vitamine B12 ou en folates, pellagre, hypercalcémie, neurosyphilis, infection par le VIH) ;
3. à des affections induites par une substance.

E. Les déficits ne surviennent pas de façon exclusive au cours de l'évolution d'un syndrome confusionnel.

F. La perturbation n'est pas mieux expliquée par un trouble de l'Axe I (par exemple : trouble dépressif majeur, schizophrénie).

Codification fondée sur la présence ou l'absence d'une perturbation cliniquement significative du comportement :

Sans perturbation du comportement : si les troubles cognitifs ne s'accompagnent d'aucune perturbation cliniquement significative du comportement.

Avec perturbation du comportement : si les troubles cognitifs s'accompagnent d'une perturbation cliniquement significative (par exemple : errance, agitation) du comportement.

Préciser le sous-type :

À début précoce : si le début se situe à 65 ans ou avant.

À début tardif : si le début se situe après 65 ans.

ANNEXE 2

Annexe 2 Critères diagnostiques de la maladie d'Alzheimer, NINCDS-ADRDA (National Institute for the Neurological and Communication Disorders and Stroke - Alzheimer's Disease and Related Diseases Association), McKhann 1984.

1. Critères de maladie d'Alzheimer probable :

- syndrome démentiel établi sur des bases cliniques et documenté par le *Mini-Mental State Examination*, le *Blessed Dementia Scale* ou tout autre test équivalent et confirmé par des preuves neuropsychologiques
- déficit d'au moins deux fonctions cognitives
- altérations progressives de la mémoire et des autres fonctions cognitives
- absence de trouble de conscience
- survenue entre 40 et 90 ans, le plus souvent au-delà de 65 ans
- en l'absence de désordres systémiques ou d'une autre maladie cérébrale pouvant rendre compte par eux-mêmes, des déficits mnésiques et cognitifs progressifs

2. Ce diagnostic de maladie d'Alzheimer probable est renforcé par :

- la détérioration progressive des fonctions telles que le langage (aphasie), les habilités motrices (apraxie) et perceptives (agnosie)
- la perturbation des activités de la vie quotidienne et la présence de troubles du comportement
- une histoire familiale de troubles similaires surtout si confirmés histologiquement
- le résultat aux examens standards suivants :
 - normalité du liquide céphalo-rachidien
 - EEG normal ou siège de perturbations non spécifiques comme la présence d'ondes lentes
 - présence d'atrophie cérébrale d'aggravation progressive

3. Autres caractéristiques cliniques compatibles avec le diagnostic de maladie d'Alzheimer probable après exclusion d'autres causes :

- période de plateaux au cours de l'évolution
- présence de symptômes tels que dépression, insomnie, incontinence, idées délirantes, illusions, hallucinations, réactions de catastrophe, désordres sexuels et perte de poids. Des anomalies neurologiques sont possibles surtout aux stades évolués de la maladie, notamment des signes moteurs tels qu'une hypertonie, des myoclonies ou des troubles de la marche.
- crises comitiales aux stades tardifs
- scanner cérébral normal pour l'âge

4. Signes rendant le diagnostic de maladie d'Alzheimer probable incertain ou improbable :

- début brutal
- déficit neurologique focal tel que hémiparésie, hypoesthésie, déficit du champ visuel, incoordination motrice à un stade précoce
- crises convulsives ou troubles de la marche en tout début de maladie

5. Le diagnostic clinique de la maladie d'Alzheimer possible :

- peut être porté sur la base du syndrome démentiel, en l'absence d'autre désordre neurologique, psychiatrique ou systémique susceptible de causer une démence, en présence de variante dans la survenue, la présentation ou le cours de la maladie ;
- peut être porté en présence d'une seconde maladie systémique ou cérébrale susceptible de produire un syndrome démentiel mais qui n'est pas considérée comme la cause de cette démence ;
- et pourrait être utilisé en recherche clinique quand un déficit cognitif sévère progressif est identifié en l'absence d'autre cause identifiable.

6. Les critères pour le diagnostic de maladie d'Alzheimer certaine sont :

- les critères cliniques de la maladie d'Alzheimer probable ;
- et la preuve histologique apportée par la biopsie ou l'autopsie.

ANNEXE 3

Annexe 3 Metabolic endotoxemia: a potential underlying mechanism of the relationship between dietary fat intake and risk for cognitive impairments in humans?

Communication

Metabolic Endotoxemia: A Potential Underlying Mechanism of the Relationship between Dietary Fat Intake and Risk for Cognitive Impairments in Humans?

Perrine André ^{1,*}, Fabienne Laugerette ² and Catherine Féart ¹

¹ Team Lifelong Exposure Health and Aging, Inserm, Bordeaux Population Health Research Center, Univ. Bordeaux U1219, F-33000 Bordeaux, France

² Univ-Lyon, CarMeN Laboratory, INRA U1397, Inserm U1060, Université Claude Bernard Lyon 1, INSA Lyon, Charles Mérieux Medical School, FR-69600 Oullins, France

* Correspondence: perrine.andre@u-bordeaux.fr; Tel.: +33-5-57-57-12-99

Received: 31 May 2019; Accepted: 9 August 2019; Published: 13 August 2019



Abstract: (1) Background: Nutrition is a major lifestyle factor that can prevent the risk of cognitive impairment and dementia. Diet-induced metabolic endotoxemia has been proposed as a major root cause of inflammation and these pathways emerge as detrimental factors of healthy ageing. The aim of this paper was to update research focusing on the relationship between a fat-rich diet and endotoxemia, and to discuss the potential role of endotoxemia in cognitive performances. (2) Methods: We conducted a non-systematic literature review based on the PubMed database related to fat-rich meals, metabolic endotoxemia and cognitive disorders including dementia in humans. A total of 40 articles out of 942 in the first screening met the inclusion criteria. (3) Results: Evidence suggested that a fat-rich diet, depending on its quality, quantity and concomitant healthy food components, could influence metabolic endotoxemia. Since only heterogeneous cross-sectional studies are available, it remains unclear to what extent endotoxemia could be associated or not with cognitive disorders and dementia. (4) Conclusions: A fat-rich diet has the capability to provide significant increases in circulating endotoxins, which highlights nutritional strategies as a promising area for future research on inflammatory-associated diseases. The role of endotoxemia in cognitive disorders and dementia remains unclear and deserves further investigation.

Keywords: nutrition; dietary fat; high-fat; endotoxemia; lipopolysaccharide; Alzheimer's disease; dementia; humans

1. Introduction

As a consequence of the ageing population, the prevalence of dementia, characterized by a progressive deterioration of cognitive performances in multiple domains (i.e., memory, reasoning, judgement and ability to perform daily activities) that evolves into a pathological diagnosis, is increasing [1]. The aetiology of dementia is multi-factorial and consists of a dynamic interaction between genetic susceptibility, non-modifiable factors (i.e., age and sex), pathological processes and environmental factors, some of them being potentially preventable [2,3].

In this context, nutrition—a major lifelong environmental factor—is of growing interest and offers an interesting strategy for the prevention of cognitive decline and subsequent dementia [4]. Numerous studies have suggested a benefit of higher adherence to healthy dietary patterns, with a beneficial balance in favour of unsaturated fatty acids to the detriment of saturated fatty acids such as

the plant-based Mediterranean diet, on age-related cognitive impairments, whether they are due to degenerative or vascular origin [5–8].

Conversely, the Western diet, characterized among other factors by a high intake of saturated and trans fatty acids, has been associated with an increased risk of developing dementia [5,7]. Moreover, adopting this fat-rich dietary pattern can lead to metabolic disorders such as obesity or Type 2 Diabetes Mellitus (T2DM), these latter being associated with a higher risk of developing dementia in later life [9,10].

Nutritional strategies represent a promising area to prevent neurocognitive impairments and subsequent dementia. While the precise mechanisms underlying the relationships between these dietary habits on age-related cognitive disorders are not yet completely understood (for instance, inflammatory pathways, vascular factors, oxidative stress or amyloidogenesis [11–14]), we suggest that the activation of the innate immune system by endotoxins—which are still poorly described—could be considered as one potential cellular mechanism involved in these relationships.

Endotoxins (Lipopolysaccharides, LPS), a major component of the outer membrane of Gram-negative bacteria, are now well as contributors to the inflammation [15]. Although LPS may originate from skin and mucous membranes or local sites of bacterial infection for instance, the gut microbiota is considered the main natural reservoir of pro-inflammatory endotoxins in the body [16]. Endotoxins are released when bacteria die, and then dissociated endotoxins are able to cross the gastro-intestinal barrier to end up in the bloodstream. The presence of LPS in the bloodstream is defined as endotoxemia. Briefly, the endotoxic metabolic pathway includes the binding of circulating LPS to LPS-Binding Protein (LBP) and its transfer to the CD14 receptor, which is present both in a membrane-anchored form (mCD14) and in a soluble circulating form (sCD14) [17]. The complex LPS–LBP–CD14 initiates the secretion of pro-inflammatory cytokines, such as Interleukin-6 (IL-6) or Tumor Necrosis Factor α (TNF α), through a TLR4-dependent mechanism [18].

Although LPS is detectable at low concentrations in the circulation of healthy individuals, there is evidence that LPS levels transiently increase following ingestion of fat-rich meals [19]. Such endotoxemia is defined as “metabolic endotoxemia”, in contrast to other sources of endotoxemia such as exogenous bacterial infection or sepsis. For instance, in mice fed with a four-week high-fat diet, plasma levels of LPS were similar to those observed following a four-week subcutaneous infusion of 300 $\mu\text{g/kg/day}$ of LPS [20]. Metabolic endotoxemia has been proposed as a major cause of inflammation, including chronic low-grade inflammation. Indeed, animal and experimental studies have demonstrated that postprandial state may result in an inflammatory response closely associated with the increase in the circulating levels of LPS [21,22]. Interestingly, not all dietary interventions lead to increased metabolic endotoxemia and the associated postprandial inflammatory status. Data from animal studies have suggested that dietary fats act as the main macronutrients responsible for postprandial endotoxemia, and that both the quantity and the quality of the dietary fat differentially influence metabolic endotoxemia [23–25]. Moreover, healthy diets rich in unsaturated fatty acids have been associated with lower postprandial circulating levels of LPS, closely associated with lower pro-inflammatory markers. Conversely, the consumption of high-energy or high saturated-fat diets has been associated with increased postprandial levels of LPS and increased circulating levels of pro-inflammatory markers [23–25].

Currently, the available literature points out that elevated circulating levels of LPS are detrimental for healthy ageing. More specifically, elevated levels of LPS have been associated with a large range of diseases such as obesity, T2DM, coronary artery disease and depression [19]. In the context of dementia, studies have summarized evidence that neuroinflammation is considered not only an epiphenomenon of Alzheimer’s disease (AD) but also a triggering factor that contributes to exacerbated AD pathology [26,27]. In addition, systemic exposure to an overload of endotoxins is widely used in animal studies to induce neuroinflammation and neurodegeneration and is associated with increased disruption of the amyloid- β precursor, hyperphosphorylated tau and neuronal cell death, which are hallmarks of AD [15,28–31]. Based on the biological plausibility taken from animal studies, we

hypothesized that lifelong exposure to endotoxins, worsened by a chronic consumption of unhealthy diets rich in saturated fat, might exacerbate the detrimental outcomes of endotoxins in the human brain. The aim of this paper is therefore to discuss the potential role of endotoxins, as an underappreciated mechanism that could be involved, at least in part, in the relationship between dietary fat intake and the pathogenesis of dementia in humans.

This article was thus conducted to emphasize research that focused on two major approaches: (i) to determine the impact of fat-rich meal intake on postprandial and fasting endotoxemia and then (ii) to clarify the relationship between LPS and cognitive performances, with a specific emphasis on dementia or AD wherever possible.

2. Methods

We did not follow the strict methodology described for conducting a systematic literature review; since not all selected studies were reviewed by the three co-authors, there was no standardized quality assessment of selected studies and we restricted our research to a single database (i.e., PubMed). The literature search was conducted and closed in February 2019 to encompass the two main aspects described above.

We used the following nutritional search terms: “high-fat”, “fat intake”, “dietary fat”, “(un)saturated fatty acids”, “Western diet”, “(un)healthy diet”, “Mediterranean diet”, “prudent diet” combined with at least one of the search terms relative to LPS, which included “lipopolysaccharide”, “LPS”, “endotoxin”, “endotoxemia”. These search terms were applied for the selection of articles related to the approach focusing on the relation between dietary fat intake and metabolic endotoxemia. Regarding the approach focusing on the relation between endotoxemia and cognitive performances/dementia, identical search terms have been applied for LPS, combined with at least one of the following cognition-related terms: “dementia”, “Alzheimer’s disease”, “cognition”, “memory”, “neurocognitive disorders”. A literature search was also applied with the combination of all three domain terms (i.e., nutritional AND LPS AND cognitive terms) to select any article that would concern the whole approach. Other studies were obtained manually from the reference lists of review or original articles.

Through this research strategy, we identified a total of 942 original articles conducted on human samples (299 related to the relation between dietary fat intake and metabolic endotoxemia and 643 related to the relation between endotoxemia and cognitive performances/dementia).

Article selection was based on a two-step procedure with a first step selection based on the title and a second step selection based on the abstract reading. Articles were selected applying the following inclusion criteria: articles published in English, in scientific journals, original research, conducted on human samples. Articles including animal studies, in vitro and ex vivo studies, studies on vaccination with LPS or other pre-treatment with LPS, population aged less than 18 y, systematic review and meta-analyses were excluded. No restriction was performed on study design or date of publication.

Due to the possible sickness behavior induced by endotoxin injection (e.g., fever, malaise, headache and so forth) which may influence the subjective aspect of well-being and cognitive feeling, we chose not to discuss studies about self-reported feelings of the cognitive aspect or mood disorders. Finally, a total of 40 articles were included to establish this “state-of-the-art” article.

Due to the heterogeneity observed in nutritional intervention studies and regarding the cognitive domains assessed, no meta-analyses were performed in this article.

3. Results

3.1. Dietary Fat and Endotoxemia

3.1.1. Role of Dietary Fat Interventions on Postprandial Metabolic Endotoxemia

The role of dietary fats is of growing interest among macronutrients in many studies on the link between nutrition and metabolic endotoxemia. As described below (Table 1), evidence accumulated

over the past few decades has demonstrated a transient increase in circulating LPS following the consumption of dietary fats.

Dietary Fats

Deopurkar et al. [32] attempted to determine which macronutrient was responsible for postprandial metabolic endotoxemia by comparing isocaloric meals (300 kcal) from a glucose-drink, orange juice or dairy cream among 42 healthy adults. In this study, only dairy cream consumption increased plasma LPS levels, suggesting that dietary fats act as the main macronutrient responsible for postprandial endotoxemia. Among healthy men, postprandial LPS was increased by 35% to 50% following a single acute high-fat bolus [21,33,34].

Amount of Fats

In a comparative study using different caloric doses of a high-fat diet (500, 1000 or 1500 kcal corresponding to 34 to 102 g of fat), Schwander et al. [35] observed a positive association between fat caloric doses and increased LPS levels. Along this line, another study found higher postprandial levels of LPS following ingestion of 40 g of fat compared to 10 g among obese participants [36].

Quality of Fats

More recently, a study suggested that not only the quantity but also the quality of dietary fats may be of importance. In a randomized crossover study among 20 healthy young adults, Lyte et al. [37] demonstrated that serum levels of LPS were decreased by 50% following the consumption n-3 polyunsaturated fatty acids (PUFA) and increased by 60% following the consumption of saturated fatty acids (SFA). A sustained response (until 3 h after meal) was also observed in high-fat diet compared to low-fat-diet (peak at 1 h after meal).

Structure of Fats

Interestingly, beyond the quantity and quality of fat intake, Vors et al. [38] suggested that the structure of lipids could also be one of the determinants of metabolic endotoxemia and compared the effect of 40 g of milk fat, which only differed by fat structure, either spread or emulsified. Compared with spread fat consumption, emulsified fat consumption induced more pronounced postprandial levels of LPS in obese subjects.

Supplementation with Healthy Food Components

Acute peanut consumption within a high-fat meal was associated with lower LPS concentrations 3 h postprandially compared with a control biscuit which provided similar quantities of macronutrients, fibre and energy [39]. This result suggested that the addition of healthy food components to a high-fat diet could contribute to limiting postprandial metabolic endotoxemia. In this line, Ghanim et al. demonstrated that the increased levels of LPS following the intake of a high-fat high-calorie meal [40] could be prevented by the addition of 30 g of fibre, among healthy adults [41]. In parallel, no increase in postprandial endotoxemia was observed after the consumption of a low-fat meal rich in fibre and fruit [40]. Using the same high-fat high-calorie meal as Ghanim et al. [40], Milan et al. [42] explored the postprandial effect of dietary fat intake among healthy younger (20–25 y) and older adults (60–75 y) and failed to reproduce the postprandial effect observed by Ghanim et al., although a trend for higher LPS levels was observed with the high-fat high caloric diet. Moreover, no difference in LPS levels was observed between younger and older adults following meal intake.

Overall, these studies suggested that the matrix effect of foods (i.e., the quantity, the quality, and structure of the ingested fats and the overall food components of the diet) could be a key component of the diet intake-related metabolic endotoxemia response, although no report has specifically developed this hypothesis.

Metabolic Endotoxemia among Different Disease Phenotypes

The acute effects of dietary fats intake on metabolic endotoxemia among different disease phenotypes including obesity, impaired glucose tolerance (IGT) and T2DM have also been explored. Interestingly, the overall results suggested that metabolic endotoxemia was significantly associated with metabolic health as described below.

In 2012, Harte et al. [43] found that metabolic endotoxemia was exacerbated after dietary fat intake among individuals with IGT and T2DM compared with non-obese participants. Following the ingestion of whipping cream, postprandial endotoxin levels were increased by 20% in obese or IGT subjects and by 125% in T2DM individuals compared with non-obese subjects. Among 40 morbidly obese adults (i.e., BMI > 40 kg/m²), the ingestion of a fat overload increased levels of LPS in participants with the highest postprandial hypertriglyceridemia (>80 mg/dL) [44]. More recently, Al-Disi et al. [45] demonstrated that a high-fat diet (75 g of fat per m² body surface) exacerbated the postprandial endotoxemia in normal-weight and T2DM participants, but with a different impact on cardio-metabolic health: non-diabetic subjects appeared to have better metabolic resistance to the insult of a high-fat diet as seen by a postprandial increase in triglycerides and insulin and a decrease in HDL and LDL cholesterol [45].

Overall, evidence suggests that a single high-fat meal, especially one devoid of healthy food components, has an undoubted capacity to enhance transient postprandial endotoxemia in humans, this latter finding appears to be more pronounced in metabolically impaired individuals. To date, only a few studies have investigated the long-term effect of diet on postprandial and fasting levels of LPS, as described below.

Table 1. Selective evidence on the association between a single high-fat meal and metabolic endotoxemia.

Reference	Sample Characteristics	Clinical Trials			
		Endotoxemia Assessment	Nutritional Characteristics	Analysis Design	Results
Lyte JM. et al., Lipids Health Dis, 2016 [37]	20 healthy subjects (mean age 25 y, 60% men)	Serum LPS quantified by LAL	Four meals (35% fat provided from n-3 PUFA (fish oil), 35% fat provided from n-6 PUFA (grapeseed oil), 35% fat provided from SFA (coconut oil) and 20% fat (olive oil, control diet))	Randomized single-blind crossover study	↘ LPS until 5 h after n-3 PUFA meal compared to SFA meal
Al-Disi DA. et al., Nutrients, 2015 [45]	92 lean controls (mean age 24 y), 24 overweight or obese (mean age 32 y) and 50 T2DM (mean age 42 y) subjects, all women	Serum LPS quantified by LAL	High-fat meal (whipping cream with 75 g fat, 5 g carbohydrate and 6 g protein per m ² body surface)	Randomized controlled trial	↗ LPS 3 h after high-fat meal in the lean (compared to baseline) and T2DM (compared to 1 h postprandial) groups
Vors C. et al., J Clin Endocrinol Metab, 2015 [36]	8 normal-weight (mean age 29 y) and 8 obese (mean age 31 y) subjects, all men	Plasma LPS quantified by LAL	Mixed meals containing 10 or 40 g fat (69% SFA, 28% MUFA and 3% PUFA)	Randomized crossover study	↗ LPS only in obese subjects after 40 g fat compared to 10 g fat
Schwander F. et al., J Nutr, 2014 [35]	19 normal-weight (mean age 41 y) and 18 obese (mean age 44 y) subjects, all men	Plasma LPS quantified by LAL	500, 1000 and 1500 kcal of a high-fat meal (61% fat)	Randomized crossover study	↗ LPS with energy intake in both groups No difference in the dose-response of postprandial LPS between normal-weight and obese
Harte AL. et al., Diabetes Care, 2012 [43]	9 non-obese (mean age 40 y, 50% men), 15 obese (mean age 44 y, 50% men), 12 impaired glucose tolerance (IGT, mean age 42 y, 58% men) and 18 T2DM (mean age 45 y, 61% men) subjects	Serum LPS quantified by LAL	High-fat meal (whipping cream with 75 g fat, 5 g carbohydrate and 6 g protein per m ² body surface)	Controlled trial	↗ LPS after high-fat diet in all four groups compared to baseline ↗ LPS by 20% in obese and IGT and by 125% in T2DM subjects compared to non-obese participants
Milan AM. et al., Nutrients, 2017 [42]	15 young adults (mean age 23 y, 40% men) and 15 elderly subjects (mean age 67 y, 40% men)	Plasma LPS quantified by LAL	High-fat (32% fat) or low-fat (11.5% fat) meals	Randomized crossover study	No difference in LPS levels after high-fat diet compared to baseline
Schmid A. et al., Br J Nutr, 2015 [34]	19 healthy subjects (mean age 42 y, all men)	Plasma LPS quantified by LAL	Three meals (High-fat dairy meal, High-fat non-dairy meal supplemented with milk or not, all 60% fat)	Randomized crossover study	↗ LPS after high-fat meal compared to baseline No difference in postprandial LPS levels between the three meals

Table 1. Cont.

Clinical Trials					
Reference	Sample Characteristics	Endotoxemia Assessment	Nutritional Characteristics	Analysis Design	Results
Moreira AP. et al., J Hum Nutr Diet, 2016 [39]	65 overweight and obese subjects (mean age 27 y, all men)	Plasma LPS quantified by LAL	Three meals (shake with conventional peanuts CVP, high-oleic peanuts HOP or control biscuit CT, all 49% fat)	Controlled trial	↗ LPS in the CT diet 3 h after ingestion compared to CVP and HOP meals
Clemente-Postigo M. et al., J Lipid Res, 2012 [44]	10 subjects with HOMA-IR ≤ 5 and TG < 80 mg/dL (group 1, mean age 40 y), 10 subjects with HOMA-IR > 8 and TG < 80 mg/dL (group 2, mean age 39 y), 10 subjects with HOMA-IR ≤ 5 and TG > 80 mg/dL (group 3, mean age 43 y) and 10 subjects with HOMA-IR > 8 and TG > 80 mg/dL (group 4, mean age 42 y), all morbidly obese subjects	Serum LPS quantified by LAL	High-fat meal (50% fat)	Controlled trial	↗ LPS after high-fat meal in groups 3 and 4 (TG > 80 mg/dL) compared to baseline No difference in LPS levels after high-fat diet between groups
Deopurkar R. et al., Diabetes Care, 2010 [32]	48 healthy subjects (range age 25–47 y)	Plasma LPS quantified by LAL	33 g dairy cream (70% SFA, no carbohydrate), 75 g glucose-based drink, orange juice or water	Controlled trial	↗ LPS after ingestion of dairy cream compared to baseline No difference in LPS levels after ingestion of glucose-based drink, orange juice or water
Ghanim H. et al., Diabetes Care, 2009 [40]	20 healthy subjects (range age 20–50 y, 75% men)	Plasma LPS quantified by LAL	High-fat high cholesterol HFHC (42% fat) or American Heart Association (AHA)-recommended (27% fat) meals	Controlled trial	↗ LPS after HFHC meal compared to baseline No difference in LPS levels after AHA diet compared to baseline
Ghanim H. et al., J Clin Endocrinol Metab, 2017 [41]	10 healthy subjects (mean age 33 y, 60% men)	Plasma LPS quantified by LAL	High-fat high-carbohydrate HFHC meal (42% fat) with or without additional 30 g of fibre	Randomized crossover study	↗ LPS after HFHC meal No difference in postprandial LPS levels with additional 30 g of fibre to the HFHC
Erridge C. et al., Am J Clin Nutr, 2007 [33]	12 healthy subjects (mean age 32 y), all men	Plasma LPS quantified by LAL	High-fat meal (toast with 50 g butter)	Randomized crossover study	LPS after high-fat meal
Laugerette F. et al., J Nutr Biochem, 2011 [21]	12 healthy subjects (mean age 27 y, all men)	Plasma LPS quantified by LAL	Mixed meal (33% fat)	Controlled trial	↗ LPS after mixed meal compared to baseline
Vors C. et al., Lipids Health Dis, 2017 [38]	8 normal-weight (mean age 29 y) and 8 obese (mean age 31 y) subjects, all men	Plasma LPS quantified by LAL	Meals with emulsified or spread fat	Randomized crossover study	↗ LPS after emulsified fat meal in obese subjects compared to (i) spread fat and (ii) emulsified or spread fat in normal-weight subjects

Abbreviations: LPS Lipopolysaccharide; LAL Limulus Amebocyte Lysate; SFA Saturated fatty acids; MUFA monounsaturated fatty acids; PUFA polyunsaturated fatty acids; T2DM Type 2 Diabetes Mellitus; HOMA-IR Homeostasis model assessment of insulin resistance; TG Triglycerides; IGT impaired glucose tolerance.

3.1.2. Associations between Long-Term Dietary Interventions and Circulating LPS

In an intervention study, the increase in energy intake (+70 g fat for eight weeks) was associated with an acute rise in endotoxin levels in the postprandial state, but not in the fasting state [46] (Table 2). More recently, three weeks of an intervention based on a low-fat high-carbohydrate diet enriched in n-3 PUFA has been shown to increase the postprandial levels of LPS, but decrease the fasting levels of LPS, compared with a Mediterranean diet enriched in MUFA or a SFA-rich diet, among healthy older subjects [47]. Among 75 metabolically impaired subjects, adherence to a high-fat high-saturated-fatty acid diet for 12 weeks led to an increase in the postprandial levels of LPS, but not the fasting levels [48].

In a crossover study among eight healthy older adults (55 y and over), Pendyala et al. [49] demonstrated that following a Western-type diet for four weeks significantly increased fasting plasma levels of LPS by 71%. In contrast, a 38% decrease in fasting plasma LPS levels was observed after four weeks of adherence to a prudent-type diet with equivalent energy intake to the Western-type diet. Regardless of the source of energy, Breusing et al. [50] observed that the 31% increase in fasting endotoxemia after one week of overfeeding (+50% of the energy requirement) was reversed by three weeks of caloric restriction (−50% of the energy requirement) among 15 healthy adults.

3.1.3. Associations between Lifestyle Dietary Patterns and Circulating LPS (Table 2)

Although of major interest, only very few studies have investigated the relationship between usual diet and circulating levels of LPS, all using a cross-sectional design analysis and exhibiting inconsistent results. In a subsample of 201 healthy men, fat and energy, but not carbohydrate or protein, intake was positively associated with fasting levels of LPS [51]. More recently, Kallio et al. [52] reported an association between energy intake and the levels of LPS observed only among lean subjects. Surprisingly, no association between fat intake and the fasting levels of LPS was observed in this study. On the other hand, two studies did not find an association between nutrient intake and fasting LPS levels among overweight and obese pregnant women [53] or type 1 diabetes patients [54]. In this latter study [54], higher consumption of fish and healthy snacks (including fruits and berries, fresh vegetables, soft drinks, yoghurt and low-fat cheese) and higher adherence to a modern diet (composed of fresh vegetables, pasta and rice, poultry, meat dishes and fried or grilled foods) were all significantly associated with lower fasting LPS levels in serum [54]. Finally, among elderly patients with nonvalvular atrial fibrillation, higher adherence to a Mediterranean-type diet was inversely correlated with fasting circulating LPS levels [55]. Interestingly, among Mediterranean diet food components, higher intake of fruits and legumes showed a major association with lower levels of LPS.

Overall, these results underlined that a transient rise in circulating levels of LPS can be induced by a large variety of high-fat diets, especially those devoid of healthy food components. Moreover, fasting or postprandial assessment of LPS could also partly explain the discrepancies observed in several studies. Considering that exposure to an overload of endotoxins could contribute to the development of adverse health outcomes such as elevated systemic inflammation, neuroinflammation, neurodegeneration and neural death in experimental studies [15,56], we hypothesized that lifelong exposure to endotoxins inherent to adherence to unhealthy diets and to ageing could worsen the detrimental outcomes of endotoxemia. The second part of this state-of-the-art paper describes the few studies focusing on the relationship between endotoxemia and cognitive disorders and dementia in humans.

Table 2. Selective evidence on the association between long-term diet and endotoxemia.

Clinical Trials					
Reference	Sample Characteristics at Baseline	Endotoxemia Assessment	Nutritional Assessment	Analysis Design	Results
Laugerette F. et al., Mol Nutr Food Res, 2014 [46]	18 healthy subjects (mean age 31 y, all men)	Plasma LPS quantified by LAL	Overfeeding with +70 g of lipids to the usual daily diet with 46.3% from saturated fatty acids during 8 weeks	Controlled trial	↗ Postprandial levels of LPS compared to baseline No difference in fasting levels of LPS after overfeeding period compared to baseline
Breusing N. et al., J Am Coll Nutr, 2017 [50]	15 healthy subjects (age 20–29 y, all men)	Plasma LPS quantified by LAL	Overfeeding (+50% of the energy requirement) during 1 week, caloric restriction (−50% of the energy requirement, 3.5% fat) during 3 weeks and hyper-caloric refeeding (+50% of the energy requirement) with either low- or high-glycemic index diet during 2 weeks	Randomized crossover study	↗ Fasting levels of LPS after overfeeding period (+30.8% compared to baseline) Normalization of fasting levels of LPS levels with the caloric restriction diet ↗ Fasting levels of LPS after hyper-caloric refeeding period (+24.7% compared to baseline)
López-Moreno J. et al., J Agric Food Chem, 2017 [48]	75 subjects with metabolic syndrome (mean age 56 y)	Plasma LPS quantified by LAL	Four diets (High-saturated-fatty acids diet (HSFA, 38% fat with 16% SFA, 12% MUFA and 6% PUFA), High MUFA (HMFUFA, 38% fat with 8% SFA, 20% MUFA and 6% PUFA), Low-fat high complex carbohydrate (LFHCC, 28% fat) and LFHCC n-3 supplemented with n-3 PUFA) during 12 weeks	Randomized controlled trial	↗ Postprandial levels of LPS after HSFA diet compared to baseline No difference in postprandial LPS levels after HMFUFA, LFHCC and LFHCC n-3 diets No difference in fasting levels of LPS between all 4 groups of diet after intervention
López-Moreno J. et al., Exp Gerontol, 2018 [47]	20 healthy subjects (mean age 67 y, 50% men)	Plasma LPS quantified by LAL	Mediterranean diet enriched in MUFA with virgin olive oil (38% fat) or SFA-rich diet (38% fat) or low-fat high-carbohydrate diet enriched in n-3 PUFA (CHO-PUFA diet, 30% fat) during 3 weeks	Randomized crossover study	↗ Postprandial levels of LPS after CHO-PUFA No difference in postprandial levels of LPS after Mediterranean diets enriched in MUFA or SFA ↘ Fasting levels of LPS after CHO-PUFA diet compared to Mediterranean diets enriched in MUFA or SFA
Pendyala S. et al., Gastroenterology, 2012 [49]	8 healthy subjects (mean age 60 y, 38% men) hospitalized for the study	Plasma LPS quantified by a neutrophil priming method	Western-type diet (40% fat with 20.8% from saturated fat, 20% protein and 40% carbohydrates) or Prudent-type diet (20% with 5.8% from saturated fat, 20% protein and 60% carbohydrates) during 1 month	Randomized crossover study	↗ Fasting levels of LPS after Western-type diet (+71% compared to baseline) ↘ Fasting levels of LPS after prudent-type diet (−38% compared to baseline)

Table 2. Cont.

Observational Studies					
Reference	Sample Characteristics at Baseline	Endotoxemia Assessment	Nutritional Assessment	Analysis Design	Results
Amar J. et al., Am J Clin Nutr, 2008 [51]	130 subjects below the LPS detection threshold (mean age 55 y), 44 subjects between 9–39 U/mL (mean age 54 y) and 27 subjects under 39 U/mL (mean age 53 y), all healthy men	Plasma LPS quantified by Kinetic-QCL™ test	3 days of food-record diary	Cross-sectional	↗ Fasting levels of LPS with fat and total energy intake
Kallio KA. et al., Acta Diabetol, 2015 [52]	2452 subjects (mean age 52 y)	Serum LPS quantified by LAL	24 h dietary recall	Cross-sectional	↗ Fasting levels of LPS with total energy intake in lean healthy subjects No significant association between fasting levels of LPS and fat intake, and among subjects with obesity, metabolic syndrome, diabetes or coronary heart disease
Röytiö H. et al., Br J Nutr, 2017 [53]	88 overweight pregnant women (mean age 30 y)	Serum LPS quantified by LAL	Three groups based on 3 days of food-record diary (low fibre (<25 g/j) and moderate fat intake (25–40%) n = 57, high fibre (>=25 g/j) and moderate fat intake (25–40%) n=18 and low fibre (<25 g/j) and high fat intake (>=40%) n = 13)	Cross-sectional	No significant association between fasting levels of LPS and fat intake No difference in fasting levels of LPS levels among the three diet groups
Ahola AJ. Et al., Sci Rep, 2017 [54]	668 patients with type 1 diabetes (mean age 45 y, 44% men)	Serum LPS quantified by LAL	Food frequency questionnaire and 3 days of food-records diary	Cross-sectional	↘ Fasting levels of LPS with higher adherence score of fish, healthy snack and modern diets No difference in fasting levels of LPS levels for sweet, cheese, vegetable or traditional diets No difference in fasting levels of LPS levels for energy, macronutrients and fibre intake
Pastori D. et al., J Am Heart Assoc, 2017 [55]	704 patients with nonvalvular atrial fibrillation treated by vitamin K antagonists (mean age 74 y, 57% men)	Serum LPS quantified by ELISA	Short food frequency questionnaire	Cross-sectional	↘ Fasting levels of LPS with higher adherence to a Mediterranean diet ↘ Fasting levels of LPS with higher consumption of fruits and legumes No difference in fasting levels of LPS levels for the consumption of olive oil, vegetables, fish, wine, meat and bread

Abbreviations: AD Alzheimer's Disease; LPS Lipopolysaccharide; LAL Limulus Amebocyte Lysate; SFA Saturated fatty acids, MUFA monounsaturated fatty acids, PUFA polyunsaturated fatty acids.

3.2. LPS, Cognitive Disorders and Dementia

3.2.1. LPS Injection and Short-Term Cognitive Function Assessment in Interventional Studies

In the field of LPS-related inflammation in association with dementia or cognitive performances, few studies have been identified following our research strategy.

First, all studies were interested in the impact of LPS injection on the inflammatory response of the host. Transient increases in pro-inflammatory cytokines (for instance IL-6 and TNF α , on average between 1 and 6 h post-infection) followed by the release of anti-inflammatory cytokines (for instance IL1-Ra and IL-10, on average between 3 and 8 h post-infection), were observed after LPS injection in all intervention studies. This result was consistent regardless of the LPS dose injected. Second, several lines of evidence suggested that inflammatory cytokines such as IL-6 or TNF α could be involved in cognitive disturbances [26,27]. However, it remains unknown whether and to what extent cognitive functions could be affected during transient immune activation induced by a single injection of LPS, as provided by the selected intervention studies described below (Table 3).

In a crossover study, Reichenberg et al. [57] reported a significant impairment in declarative memory until 10 h after the injection of LPS. With this intervention, decreased performances in declarative memory have also been observed in a subsample of subjects, as well as improvements in working memory compared to the injection of placebo [58]. These last controversial results are, however, not generalizable to the whole study sample [57], which raises questions. Finally, in both studies [57,58], there were no statistical or clinical differences regarding attention or executive functions following the injection of LPS compared to placebo.

In another study, using an injection of a lower dose of LPS (0.2 ng/kg body weight) a negative correlation was found between the increased IL-6 levels and memory and learning performance after 4.5–6 h [59]. Among all results, the injection of LPS did not alter working or executive functions or attention among young healthy volunteers. With higher doses of LPS (2 ng/kg body weight), the results are also controversial. This treatment did not induce any alteration of working memory, psychomotor speed capacity and information processing ability, fine control motor and attention performances until 10 h post-injection compared with the placebo group [60]. Surprisingly, the authors observed an increase in attention performance in the treated group compared to the placebo group.

In 2010, Grigoleit et al. [61] found that the injection of LPS did not affect the subscales of the Wechsler Memory Scale, analysing performances in verbal, visual or delayed memory, as well as attention and executive control processes. Using a double-blind crossover study, the same authors [62] observed that LPS injection did not affect accuracy in working memory performance, but improved reaction time in the high-dose (0.8 ng/kg body weight) 2 h post-injection compared to placebo; a result that was not observed with the lowest LPS dose (0.4 ng/kg body weight).

Alteration in emotional/social processing was observed following the injection of LPS at 0.8 ng/kg body weight [63], but not with a lower dose of LPS (0.4 ng/kg body weight) [64].

Altogether, these results underlined that the LPS dose, the delay and the targeted samples have different responses on the cognitive performances assessed (themselves being heterogeneous between studies), which deserves further research with emphasis on both experimental conditions and outcomes.

3.2.2. Endotoxemia and HIV-Associated Neurocognitive Disorders in Observational Studies

In the field of LPS and cognition, we identified 2 cross-sectional observational studies on non-healthy individuals, focusing on HIV-infected participants with or without HIV-associated neurocognitive disorders (HAND) [65,66] (Table 3). The median fasting levels of LPS were higher among the HAND group than among the no-HAND participants (116.1 μ g/mL vs. 98.2 μ g/mL) [65]. Interestingly, circulating levels of LPS were not associated with the severity of HAND. In the other study, plasma LPS levels did not differ according to the score of a neurocognitive test battery designed to assess several domains of cognitive function (i.e., motor skills, speed of information processing, attention,

learning, memory, language fluency and executive function) [66]. More recently, Jespersen et al. [67] reported a lack of association between fasting levels of LPS and markers of axonal damage or monocyte activation in the central nervous system among HIV-infected adults without evidence of impaired cognitive function. In this specific sample, LPS was not detectable in the cerebrospinal fluid.

Although not tested in a human model of endotoxemia, repeated lifelong exposure to endotoxin may lead to a long-term alteration in all cognitive domains. Dementia diagnosis is the result of a long insidious process where cognitive disorders evolve to pathology. However, the relationship between endotoxemia and dementia has been explored in very few studies, which are described below (Table 4).

Table 3. Selective evidence on the association between lipopolysaccharides and cognitive function.

Reference	Sample Characteristics at Baseline	Endotoxemia Assessment	Clinical Trials		Results
			Outcomes	Study Design	
Krabbe KS. et al., Brain Behav Immun, 2005 [59]	12 healthy subjects (mean age 26 y, all men)	Injection of LPS <i>E. coli</i> 0.2 ng/kg or placebo	Memory and learning (Word-list memory test) Working memory (Digit Span backward and Letter-Number Sequencing) Attention (Digit span forward and Digit symbol) Executive functions (Trail Making Test A and B) Assessment before and at 1.5, 6 and 24 h post-injection	Randomized double-blind crossover study	Negative correlation between IL-6 at 4.5 and 6 h post-injection and the word-list learning performance LPS injection did not affect performance on other cognitive tests
Kullmann JS et al., Soc Cogn Affect Neurosci, 2014 [64]	18 healthy subjects (mean age 26 y, all men)	Injection of LPS <i>E. coli</i> 0.4 ng/kg or placebo	Emotional/social processing (Reading the mind in the eye) Brain activation during the test Assessment at 2 h post-injection	Randomized double-blind crossover study	LPS injection did not affect the number of correct responses during the Reading the mind in the eye test ↗ Responses in the fusiform gyrus, temporo-parietal junction, superior temporal gyrus and precuneus regions compared to placebo
Grigoleit JS. et al., Neurobiol Learn Mem, 2010 [61]	24 healthy subjects (mean age 25 y, all men)	Injection of LPS <i>E. coli</i> 0.4 ng/kg or placebo	Attention and executive functions (Color word stroop task (assessment before and 1.5 h post-injection)) Verbal, visual and delayed memory (Revised Wechsler Memory Scale (assessment at 3 h post-injection))	Randomized double-blind controlled trial	LPS injection did not affect performance on cognitive tests
Grigoleit JS. et al., PLoS One, 2011 [62]	18 healthy subjects in the low-dose group (LPS 0.4 ng/kg) and 16 subjects in the high-dose group (LPS 0.8 ng/kg), mean age 25 y	Injection of LPS <i>E. coli</i> 0.4 ng/kg or placebo, or LPS <i>E. coli</i> 0.8 ng/kg or placebo	Working memory (N-back task) Assessment at 1.75 and 3 h post-injection	Randomized double-blind crossover study	↘ Reaction time in N-back task in the high-dose group compared to placebo LPS did not affect the accuracy in N-back task
Moieni M et al., Brain Behav Immun, 2015 [63]	109 healthy subjects (mean age 24 y, 40% men): 58 subjects in the LPS injection group and 51 in the placebo group	Injection of LPS <i>E. coli</i> 0.8 ng/kg or placebo	Emotional/social processing (Reading the mind in the eye) Assessment at 1 h 40 post-injection	Randomized double-blind controlled trial	↘ Number of correct responses in the LPS group
Reichenberg A. et al., Arch Gen Psychiatry, 2001 [57]	20 healthy subjects (mean age 24 y, all men)	Injection of LPS <i>Salmonella abortus equi</i> 0.8 ng/kg or placebo	Declarative memory (Story recall, Figure recall and Word-list learning) Attention (Digit span forward, Digit symbol, Ruff 2 and 7 cancellation test, Simple reaction time test and Continuous performance test) Executive functions (Colored Trail Making Test A and B and Word fluency test) Assessment at 1–2, 3–4 and 9–10 h post-injection	Randomized double-blind crossover study	↘ Performance on story recall, figure recall and word-list learning tests compared to placebo at 1–2, 3–4 and 9–10 h post-injection LPS injection did not affect performance on other cognitive tests

Table 3. Cont.

Clinical Trials					
Reference	Sample Characteristics at Baseline	Endotoxemia Assessment	Outcomes	Study Design	Results
Cohen O. et al., J Mol Neurosci, 2003 [58]	10 healthy subjects (sub-sample of the Reichenberg's study [57])	Injection of LPS <i>Salmonella abortus equi</i> 0.8 ng/kg or placebo	Declarative memory (Story recall) Working memory (Digit span backward) Attention (Digit span forward and Ruff 2 and 7 cancellation test) Assessment at 1–2, 3–4 and 9–10 h post-injection	Randomized double-blind crossover study	↘ Performance on story recall compared to placebo at 1–2, 3–4 and 9–10 h post-injection ↗ Performance digit span backward test compared to placebo at 1–2, 3–4 and 9–10 h post-injection LPS injection did not affect performance on other cognitive tests
Van den Boogaard M. et al., Crit Care, 2010 [60]	15 healthy subjects in the injection group (mean age 23 y, all men) and 10 healthy controls (mean age 25 y, all men)	Injection of LPS <i>E. coli</i> 2 ng/kg or no injection	Working memory (Digit span backward) Attention (Digit span forward, Color word stroop task and Paced Auditory Serial Addition Test (PASAT)) Psychomotor speed capacity and information processing ability (number of correct response on the Digit symbol test) Fine control motor (time required to finish the Grooved pegboard test) Assessment at 1–2, 3–4 and 9–10 h post-injection	Single-blind trial	↗ Performance on PASAT test compared to control group LPS injection did not affect performance on other cognitive tests
Observational studies					
Reference	Sample characteristics at baseline	Endotoxemia assessment	Outcomes	Study design	Results
Lyons JL. et al., J Acquir Immune Defic Syndr, 2011 [66]	97 HIV-infected patients (mean age 47 y, 76% men)	Plasma LPS quantified by LAL	HIV-associated neurocognitive disorders (HAND) Global T test (motor skills, speed of information processing, attention (working memory), learning (memory encoding), memory (memory recall), language fluency, and executive function)	Cross-sectional	LPS levels did not differ according to the severity of HAND LPS levels did not differ in subjects with global impairment (Global T test < 40) compared to unimpaired subjects
Vassallo M. et al., J Neurovirol, 2013 [65]	40 HIV-infected patients with HIV-associated neurocognitive disorders (HAND) (median age 46 y, 78% men) and 139 HIV-infected patients without HAND (median age 44 y, 72% men)	Plasma LPS quantified by LAL	HIV-associated neurocognitive disorders (HAND) z-score (learning and recall episodic memory, attention/concentration, working memory, executive functions, language, visual agnosia and motor/psychomotor speed)	Cross-sectional	LPS levels was higher in the HAND group compared to no-HAND group LPS levels did not differ according to the severity of HAND
Jespersen S. et al., BMC Infect Dis, 2016 [67]	62 untreated HIV-infected patients without evidence of impaired cognitive function (mean age 39 y, 52% men)	Plasma and CSF LPS quantified by LAL	CSF neurofilament light chain protein (marker of CNS axonal damage) and CSF neopterin (marker of monocyte activation)	Cross-sectional	No association between plasma LPS and CSF neurofilament light chain protein or CSF neopterin LPS was not detectable in CSF

Abbreviations: AD Alzheimer's Disease; LPS Lipopolysaccharide; LAL Limulus Amebocyte Lysate; HIV Human Immunodeficiency Viruses; HAND HIV-associated neurocognitive disorders; CSF Cerebrospinal Fluid; CNS Central Nervous System; NFL Neurofilament light chain protein.

3.2.3. Endotoxemia and Alzheimer's Disease or Dementia Diagnosis in Observational Studies

First, we identified two studies interested in the anatomy of the brain in post-mortem patients. Recent investigations reported higher LPS abundance in grey matter (superior temporal gyrus lobe) and white matter (frontal lobe) in brains from patients with Alzheimer's disease (AD) than in those from participants free of dementia [68]. Of greater interest, LPS colocalized with A β 1-40/42 in amyloid plaques and with A β 1-40/42 around blood in AD brains [68]. Another study reported an average three-fold higher abundance of in the hippocampus—an anatomical region of the AD brain that develops the earliest and most profound neuropathology—from four AD brains compared to two age-matched control brains, as well as a two-fold higher abundance in neocortical extracts from six AD brains and six age-matched control brains [69]. In some advanced AD patients (criteria not defined in the study), hippocampal brain lysate exhibited up to a 26-fold increase in LPS [69].

In 2008, Ancuta et al. [70] observed that plasma LPS levels were significantly higher among dementia-associated HIV participants than among participants without neurocognitive impairment, independent of plasma viral load and CD4 counts. Surprisingly, LPS levels in participants with minor cognitive and motor disorders, asymptomatic neurocognitive impairments or neuropsychiatric impairments did not differ from those in participants without neurocognitive impairment. Finally, the last study we identified reported that plasma LPS levels were three-fold higher in 18 AD participants (mean 61 $\mu\text{g/mL}$) than in 18 healthy controls (mean 21 $\mu\text{g/mL}$) [71].

Altogether, the scarce available literature in this field suggests that higher LPS levels are observed (i) among the brains of AD patients, in several regions of interest and (ii) among living AD participants, and that these results could be partially explained by higher immunosenescence also among HIV patients. These results allow us to speculate that not only transient immune activation induced by LPS, as described earlier, but also increased fasting levels of LPS (from different sources) could be partly involved in the pathogenesis of dementia. Longitudinal studies are still required to test this hypothesis.

Table 4. Selective evidence on the association between lipopolysaccharides and dementia.

Alzheimer's Disease Brain Samples					
Reference	Sample Characteristics at Baseline	Endotoxemia Assessment	Outcomes	Study Design	Results
Zhan X. et al., Neurology, 2016 [68]	24 AD brains (mean age 77 y, 38% men, median Braak stage: 6) and 18 age-matched controls brains (mean age 81 y, 56% men, median Braak stage: 2)	LPS <i>E. coli</i> antibodies and <i>E. coli</i> K99 pili protein	Superior temporal gyrus from grey matter (GM) and frontal lobe from white matter (WM)	Cross-sectional	↗ Detection of <i>E. coli</i> K99 and LPS levels in GM and WM AD compared to control LPS colocalized with Ab1-40/42 in amyloid plaques and with Ab1-40/42 around blood in AD brains ↗ LPS on average over two-fold in AD neocortex compared to controls ↗ LPS on average over three-fold in AD hippocampus compared to controls (up to 26-fold in some advanced AD)
Zhao Y. et al., Front Cell Infect Microbiol, 2017 [69]	10 AD brains (mean age 74 y) and 8 controls brains (mean age 73 y), all women	LPS <i>E. coli</i> antibodies	Neocortex (temporal lobe) and hippocampus	Cross-sectional	
Alzheimer's disease and dementia diagnosis					
Zhang R. et al., J Neuroimmunol, 2009 [71]	18 AD patients (mean age 79 y, 39% men) and 18 healthy controls (mean age 55 y, 67% men)	Plasma LPS quantified by LAL	Alzheimer's disease	Cross-sectional	↗ LPS in AD patients (61 pg/mL on average) compared to healthy controls (21 pg/mL on average)
Ancuta P. et al., PLoS One, 2008 [70]	119 HIV patients whose 32 with No-NCI, 28 with HIV-associated dementia, 25 with MCMD, 20 with NPI-O, 9 ANI and 5 unable to assign	Plasma LPS quantified by LAL	HIV-associated dementia (HAD, defined as the involvement of at least two cognitive domains and documented by a performance of two SD below the normative mean on neuropsychological tests, with marked interference in daily functioning)	Cross-sectional	↗ LPS in HAD compared to No-NCI HIV-patients LPS levels did not differ in MCMD, NPI-O or ANI compared to No-NCI patients

Abbreviations: AD Alzheimer's Disease; LPS Lipopolysaccharide; LAL Limulus Amebocyte Lysate; HIV Human Immunodeficiency Viruses.

4. Discussion

The hypothesis tested in this “state-of-the-art” paper was that metabolic endotoxemia could be an underlying mechanism of the relationship between nutrition (and mainly fats intake) and age-related cognitive impairments.

First, to the best of our knowledge, there was no study focusing on this whole association (i.e., nutritional habits that could modulate endotoxemia, which itself could be part of the pathological processes leading to dementia) in a single sample setting. Therefore, we conducted two approaches, based on the available literature: we synthesized studies focusing (i) on the role of nutritional habits and interventions on the modulation of metabolic endotoxemia, and (ii) on the association between endotoxemia and cognitive impairments.

To some extent, overall metabolic endotoxemia may be attributed to a balance between the number of LPS-containing Gram-negative bacteria in the gut microbiota and the subsequent translocation of the LPS across the gastro-intestinal barrier into the bloodstream; the fat content of the diet being a putative key actor of this translocation.

Our synthesis provided convincing evidence that fat-rich meals have an undoubted capacity to transiently modulate postprandial metabolic endotoxemia in humans. Indeed, recent studies have demonstrated that fat absorption and digestion is a step where dissociated LPS can be incorporated into chylomicrons (i.e., lipoproteins responsible for the transport of lipids through the gut barrier) thereby enabling their translocation into the bloodstream [21,22]. We highlighted that not only the quantity but also the quality of dietary fats may influence metabolic endotoxemia. Precisely, imbalanced diets in favour of saturated fatty acids have been associated with higher postprandial levels of LPS while a combination of these diets with other healthy nutritional components, such as fibre [41], is able to limit this increase.

On the other hand, long-term consumption of a high-energy-density diet, especially those derived from fat, has been associated with gut microbiota dysbiosis [72]. By shifting the balance in favour of, or at the expense of, LPS-containing Gram-negative bacteria, diet could also contribute to the amount of LPS in the gut and their translocation into the bloodstream. Metabolic diseases such as obesity and T2DM are often associated with gut microbiota dysbiosis [73,74], most likely worsened by lifelong consumption of an unhealthy fat-rich diet. This latter result could explain, at least in part, the results reporting increased fasting levels of LPS and an exacerbated postprandial increase of LPS following a high-fat-saturated meal in metabolically impaired individuals compared to healthy individuals.

Moreover, gut dysbiosis, and the subsequent release of LPS can be managed by several dietary factors, that are not discussed in the present paper, including, for instance, the intake of refined sugars, alcohol or nutritional supplements with pre- and probiotics for details see, [19]. In particular, high consumption of glucose or fructose, which is part of the Western diet, could induce an increase in circulating levels of LPS in mice [75]. Pronounced intestinal permeability and increased plasma levels of LPS were found in patients with chronic alcohol abuse [76]. Pre- and probiotics have demonstrated the ability to manipulate gut microbiota and to influence the circulating levels of LPS [19]. However, we did not intend to review all potential and nutritional factors that might increase levels of LPS and prefer to limit our hypothesis to lipids, which is a well-known risk factor for AD [77].

As a limitation of the selected studies, the discrepancies observed between postprandial and fasting levels of circulating LPS after dietary interventions are questionable. These observations suggest that metabolic endotoxemia has a fluctuating nature in humans, and that fasting levels of LPS may therefore not be an accurate marker of chronic exposure to endotoxins over time. Some authors have also suggested the measurement of LBP, which is considered a longer-term marker of endotoxin-related exposure than LPS [78,79].

The main consequence of chronic exposure to endotoxemia is the onset and maintenance of a low-grade inflammation state, with associated deleterious outcomes in elderly individuals [26,27]. However, it remains unclear to what extent acute exposure to LPS could induce age-related cognitive disorders. Indeed, our literature research showed no convincing evidence that exposure to an

intravenous overload of endotoxins was associated with major cognitive alterations in healthy individuals; a result that is in line with a previous review [80]. As already mentioned, the large heterogeneity of interventional studies reported in this paper (i.e., in terms of the injected doses of LPS, the neurocognitive tests used to assess short-term cognitive performances or the various delays between injection of LPS and cognitive assessment, for instance) limits us in drawing definitive conclusions regarding the association between endotoxemia and cognitive performances. Additionally, speculative, controversial results of LPS injection on some selected cognitive tests also ask for questions on possible compensatory mechanisms, which deserves further research.

Regarding the association between endotoxemia and dementia, the results seem to be more consistent, while they are based on a very small number of studies. Dementia results in a long insidious process accompanied by molecular and physiological changes, including oxidative stress, impairment in neuronal function and the death of neuronal cells, which may be caused or worsened by neuroinflammation [26,81]. We thought that accumulated lifelong exposure to endotoxin may therefore be associated with more severe stages of cognitive disorders and dementia. Due to the lack of prospective studies to support this hypothesis, we cannot exclude a possible reverse causation. For instance, individuals with advanced stages of dementia are more likely to develop bacterial infections (i.e., in part due to a lack of hygiene inherent to the deterioration of cognitive performances and disability status) and therefore to be exposed to higher endotoxemia. In addition, and inherent to ageing, increased permeability in physiological barriers (i.e., intestinal and blood-brain barriers) is observed in AD individuals [82,83], which could also promote the translocation of higher amounts of neurotoxic molecules such as LPS.

Finally, the LPS doses used in most interventional studies may also be discussed, in addition to those of natural exposure pathways which may gradually and intermittently deliver smaller amounts of endotoxin over time.

Among the limitations of this state-of-the-art paper, we acknowledge the lack of adopting a strict systematic literature review methodology. However, only partial studies have been identified to respond to our whole hypothesis which confirmed our innovative approach. As a limitation, we cannot exclude a publication bias; studies that are not statistically significant have been available more often than those with significant results. The strengths of the present analysis are therefore to update, by a holistic approach, in a single article the experimental and observational literature in the field of fat-rich nutrition, endotoxemia and cognition in humans and to identify some gaps to be completed in the near future.

5. Conclusions

Nutrition has been proposed as a promising non-medical strategy to prevent cognitive decline and subsequent dementia. Affected by the quantity and the quality of ingested fats, metabolic endotoxemia, involving a potent pro-inflammatory response of the host, could be one of the underlying mechanisms. As the postprandial state represents a stressful condition in which our current society spends most of its time, the identification of an individual-adapted dietary pattern associated with lower metabolic endotoxemia and subsequent inflammation is a promising area for future research focusing on inflammatory-associated diseases. However, there is an important need for research to understand to what extent transient but also chronic low-exposure to LPS, through repeated measurements of postprandial and fasting levels of LPS over time, could be associated with long-term cognitive changes until the diagnosis of dementia.

Author Contributions: Conceptualization, P.A. and C.F.; Methodology, P.A. and C.F.; Investigation, P.A.; Writing—original draft preparation, P.A.; Writing—review and editing P.A., C.F. and F.L.

Funding: This research received no external funding.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflicts of interest.

References

- Prince, M.; Bryce, R.; Albanese, E.; Wimo, A.; Ribeiro, W.; Ferri, C.P. The global prevalence of dementia: A systematic review and metaanalysis. *Alzheimers Dement.* **2013**, *9*, 63–75.e2. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Baumgart, M.; Snyder, H.M.; Carrillo, M.C.; Fazio, S.; Kim, H.; Johns, H. Summary of the evidence on modifiable risk factors for cognitive decline and dementia: A population-based perspective. *Alzheimers Dement.* **2015**, *11*, 718–726. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Samieri, C.; Perier, M.-C.; Gaye, B.; Proust-Lima, C.; Helmer, C.; Dartigues, J.-F.; Berr, C.; Tzourio, C.; Empana, J.-P. Association of Cardiovascular Health Level in Older Age with Cognitive Decline and Incident Dementia. *JAMA* **2018**, *320*, 657–664. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Canevelli, M.; Lucchini, F.; Quarata, F.; Bruno, G.; Cesari, M. Nutrition and Dementia: Evidence for Preventive Approaches? *Nutrients* **2016**, *8*, 144. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Kalmijn, S.; Launer, L.J.; Ott, A.; Witteman, J.C.; Hofman, A.; Breteler, M.M. Dietary fat intake and the risk of incident dementia in the Rotterdam Study. *Ann. Neurol.* **1997**, *42*, 776–782. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Lourida, I.; Soni, M.; Thompson-Coon, J.; Purandare, N.; Lang, I.A.; Ukoumunne, O.C.; Llewellyn, D.J. Mediterranean diet, cognitive function, and dementia: A systematic review. *Epidemiology* **2013**, *24*, 479–489. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Morris, M.C.; Tangney, C.C. Dietary fat composition and dementia risk. *Neurobiol. Aging* **2014**, *35* (Suppl. 2), S59–S64. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Melo, H.M.; Santos, L.E.; Ferreira, S.T. Diet-Derived Fatty Acids, Brain Inflammation, and Mental Health. *Front Neurosci* **2019**, *13*, 265. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Ninomiya, T. Diabetes mellitus and dementia. *Curr. Diab. Rep.* **2014**, *14*, 487. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Dye, L.; Boyle, N.B.; Champ, C.; Lawton, C. The relationship between obesity and cognitive health and decline. *Proc. Nutr. Soc.* **2017**, *76*, 443–454. [[CrossRef](#)]
- Lee, H.J.; Seo, H.I.; Cha, H.Y.; Yang, Y.J.; Kwon, S.H.; Yang, S.J. Diabetes and Alzheimer's Disease: Mechanisms and Nutritional Aspects. *Clin. Nutr. Res.* **2018**, *7*, 229–240. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Malcomson, F.C.; Mathers, J.C. Nutrition and Ageing. *Subcell. Biochem.* **2018**, *90*, 373–424. [[PubMed](#)]
- Gardener, S.L.; Rainey-Smith, S.R.; Martins, R.N. Diet and Inflammation in Alzheimer's Disease and Related Chronic Diseases: A Review. *J. Alzheimers Dis.* **2016**, *50*, 301–334. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Pistollato, F.; Sumalla Cano, S.; Elio, I.; Masias Vergara, M.; Giampieri, F.; Battino, M. Role of gut microbiota and nutrients in amyloid formation and pathogenesis of Alzheimer disease. *Nutr. Rev.* **2016**, *74*, 624–634. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Catorce, M.N.; Gevorkian, G. LPS-induced Murine Neuroinflammation Model: Main Features and Suitability for Pre-clinical Assessment of Nutraceuticals. *Curr. Neuropharmacol.* **2016**, *14*, 155–164. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Savage, D.C. Microbial ecology of the gastrointestinal tract. *Annu. Rev. Microbiol.* **1977**, *31*, 107–133. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Hailman, E.; Lichenstein, H.S.; Wurfel, M.M.; Miller, D.S.; Johnson, D.A.; Kelley, M.; Busse, L.A.; Zukowski, M.M.; Wright, S.D. Lipopolysaccharide (LPS)-binding protein accelerates the binding of LPS to CD14. *J. Exp. Med.* **1994**, *179*, 269–277. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Stoll, L.L.; Denning, G.M.; Weintraub, N.L. Potential role of endotoxin as a proinflammatory mediator of atherosclerosis. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* **2004**, *24*, 2227–2236. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Brown, B.I. Nutritional Management of Metabolic Endotoxemia: A Clinical Review. *Altern. Ther. Health Med.* **2017**, *23*, 42–54.
- Cani, P.D.; Amar, J.; Iglesias, M.A.; Poggi, M.; Knauf, C.; Bastelica, D.; Neyrinck, A.M.; Fava, F.; Tuohy, K.M.; Chabo, C.; et al. Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance. *Diabetes* **2007**, *56*, 1761–1772. [[CrossRef](#)]
- Laugerette, F.; Vors, C.; Gélouën, A.; Chauvin, M.-A.; Soulage, C.; Lambert-Porcheron, S.; Peretti, N.; Alligier, M.; Burcelin, R.; Laville, M.; et al. Emulsified lipids increase endotoxemia: Possible role in early postprandial low-grade inflammation. *J. Nutr. Biochem.* **2011**, *22*, 53–59. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Ghoshal, S.; Witta, J.; Zhong, J.; de Villiers, W.; Eckhardt, E. Chylomicrons promote intestinal absorption of lipopolysaccharides. *J. Lipid Res.* **2009**, *50*, 90–97. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Netto Candido, T.L.; Bressan, J.; Alfenas R de, C.G. Dysbiosis and metabolic endotoxemia induced by high-fat diet. *Nutr. Hosp.* **2018**, *35*, 1432–1440. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

24. Laugerette, F.; Vors, C.; Peretti, N.; Michalski, M.-C. Complex links between dietary lipids, endogenous endotoxins and metabolic inflammation. *Biochimie* **2011**, *93*, 39–45. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
25. Huang, H.; Liu, T.; Rose, J.L.; Stevens, R.L.; Hoyt, D.G. Sensitivity of mice to lipopolysaccharide is increased by a high saturated fat and cholesterol diet. *J. Inflamm.* **2007**, *4*, 22. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
26. Heppner, F.L.; Ransohoff, R.M.; Becher, B. Immune attack: The role of inflammation in Alzheimer disease. *Nat. Rev. Neurosci.* **2015**, *16*, 358–372. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
27. Eikelenboom, P.; van Exel, E.; Hoozemans, J.J.M.; Veerhuis, R.; Rozemuller, A.J.M.; van Gool, W.A. Neuroinflammation—An early event in both the history and pathogenesis of Alzheimer’s disease. *Neurodegener. Dis.* **2010**, *7*, 38–41. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
28. Brugg, B.; Dubreuil, Y.L.; Huber, G.; Wollman, E.E.; Delhaye-Bouchaud, N.; Mariani, J. Inflammatory processes induce beta-amyloid precursor protein changes in mouse brain. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1995**, *92*, 3032–3035. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
29. Medina-Fernández, F.J.; Luque, E.; Aguilar-Luque, M.; Agüera, E.; Feijóo, M.; García-Maceira, F.I.; Escribano, B.M.; Pascual-Leone, Á.; Drucker-Colín, R.; Túnez, I. Transcranial magnetic stimulation modifies astrogliosis, cell density and lipopolysaccharide levels in experimental autoimmune encephalomyelitis. *Life Sci.* **2017**, *169*, 20–26. [\[CrossRef\]](#)
30. Miklossy, J.; Kis, A.; Radenovic, A.; Miller, L.; Forro, L.; Martins, R.; Reiss, K.; Darbinian, N.; Darekar, P.; Mihaly, L.; et al. Beta-amyloid deposition and Alzheimer’s type changes induced by *Borrelia* spirochetes. *Neurobiol. Aging* **2006**, *27*, 228–236. [\[CrossRef\]](#)
31. Lee, J.W.; Lee, Y.K.; Yuk, D.Y.; Choi, D.Y.; Ban, S.B.; Oh, K.W.; Hong, J.T. Neuro-inflammation induced by lipopolysaccharide causes cognitive impairment through enhancement of beta-amyloid generation. *J. Neuroinflammation* **2008**, *5*, 37. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
32. Deopurkar, R.; Ghanim, H.; Friedman, J.; Abuaysheh, S.; Sia, C.L.; Mohanty, P.; Viswanathan, P.; Chaudhuri, A.; Dandona, P. Differential effects of cream, glucose, and orange juice on inflammation, endotoxin, and the expression of Toll-like receptor-4 and suppressor of cytokine signaling-3. *Diabetes Care* **2010**, *33*, 991–997. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
33. Erridge, C.; Attina, T.; Spickett, C.M.; Webb, D.J. A high-fat meal induces low-grade endotoxemia: Evidence of a novel mechanism of postprandial inflammation. *Am. J. Clin. Nutr.* **2007**, *86*, 1286–1292. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
34. Schmid, A.; Petry, N.; Walther, B.; Bütikofer, U.; Luginbühl, W.; Gille, D.; Chollet, M.; McTernan, P.G.; Gijs, M.A.M.; Vionnet, N.; et al. Inflammatory and metabolic responses to high-fat meals with and without dairy products in men. *Br. J. Nutr.* **2015**, *113*, 1853–1861. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
35. Schwander, F.; Kopf-Bolanz, K.A.; Buri, C.; Portmann, R.; Egger, L.; Chollet, M.; McTernan, P.G.; Piya, M.K.; Gijs, M.A.M.; Vionnet, N.; et al. A dose-response strategy reveals differences between normal-weight and obese men in their metabolic and inflammatory responses to a high-fat meal. *J. Nutr.* **2014**, *144*, 1517–1523. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
36. Vors, C.; Pineau, G.; Drai, J.; Meugnier, E.; Pesenti, S.; Laville, M.; Laugerette, F.; Malpuech-Brugère, C.; Vidal, H.; Michalski, M.-C. Postprandial Endotoxemia Linked with Chylomicrons and Lipopolysaccharides Handling in Obese Versus Lean Men: A Lipid Dose-Effect Trial. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **2015**, *100*, 3427–3435. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
37. Lyte, J.M.; Gabler, N.K.; Hollis, J.H. Postprandial serum endotoxin in healthy humans is modulated by dietary fat in a randomized, controlled, cross-over study. *Lipids Health Dis.* **2016**, *15*, 186. [\[CrossRef\]](#)
38. Vors, C.; Drai, J.; Pineau, G.; Laville, M.; Vidal, H.; Laugerette, F.; Michalski, M.-C. Emulsifying dietary fat modulates postprandial endotoxemia associated with chylomicronemia in obese men: A pilot randomized crossover study. *Lipids Health Dis.* **2017**, *16*, 97. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
39. Moreira, A.P.B.; Teixeira, T.F.S.; Alves, R.D.M.; Peluzio, M.C.G.; Costa, N.M.B.; Bressan, J.; Mattes, R.; Alfenas, R.C.G. Effect of a high-fat meal containing conventional or high-oleic peanuts on post-prandial lipopolysaccharide concentrations in overweight/obese men. *J. Hum. Nutr. Diet* **2016**, *29*, 95–104. [\[CrossRef\]](#)
40. Ghanim, H.; Abuaysheh, S.; Sia, C.L.; Korzeniewski, K.; Chaudhuri, A.; Fernandez-Real, J.M.; Dandona, P. Increase in plasma endotoxin concentrations and the expression of Toll-like receptors and suppressor of cytokine signaling-3 in mononuclear cells after a high-fat, high-carbohydrate meal: Implications for insulin resistance. *Diabetes Care* **2009**, *32*, 2281–2287. [\[CrossRef\]](#)

41. Ghanim, H.; Batra, M.; Abuaysheh, S.; Green, K.; Makdissi, A.; Kuhadiya, N.D.; Chaudhuri, A.; Dandona, P. Antiinflammatory and ROS Suppressive Effects of the Addition of Fiber to a High-Fat High-Calorie Meal. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **2017**, *102*, 858–869. [[PubMed](#)]
42. Milan, A.M.; Pundir, S.; Pileggi, C.A.; Markworth, J.F.; Lewandowski, P.A.; Cameron-Smith, D. Comparisons of the Postprandial Inflammatory and Endotoxaemic Responses to Mixed Meals in Young and Older Individuals: A Randomised Trial. *Nutrients* **2017**, *9*, 354. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
43. Harte, A.L.; Varma, M.C.; Tripathi, G.; McGee, K.C.; Al-Daghri, N.M.; Al-Attas, O.S.; Sabico, S.; O'Hare, J.P.; Ceriello, A.; Saravanan, P.; et al. High fat intake leads to acute postprandial exposure to circulating endotoxin in type 2 diabetic subjects. *Diabetes Care* **2012**, *35*, 375–382. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
44. Clemente-Postigo, M.; Queipo-Ortuño, M.I.; Murri, M.; Boto-Ordoñez, M.; Perez-Martinez, P.; Andres-Lacueva, C.; Cardona, F.; Tinahones, F.J. Endotoxin increase after fat overload is related to postprandial hypertriglyceridemia in morbidly obese patients. *J. Lipid Res.* **2012**, *53*, 973–978. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
45. Al-Disi, D.A.; Al-Daghri, N.M.; Khan, N.; Alfadda, A.A.; Sallam, R.M.; Alsaif, M.; Sabico, S.; Tripathi, G.; McTernan, P.G. Postprandial Effect of a High-Fat Meal on Endotoxemia in Arab Women with and without Insulin-Resistance-Related Diseases. *Nutrients* **2015**, *7*, 6375–6389. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
46. Laugerette, F.; Alligier, M.; Bastard, J.-P.; Drai, J.; Chanséaume, E.; Lambert-Porcheron, S.; Laville, M.; Morio, B.; Vidal, H.; Michalski, M.-C. Overfeeding increases postprandial endotoxemia in men: Inflammatory outcome may depend on LPS transporters LBP and sCD14. *Mol. Nutr. Food Res.* **2014**, *58*, 1513–1518. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
47. Lopez-Moreno, J.; Garcia-Carpintero, S.; Gomez-Delgado, F.; Jimenez-Lucena, R.; Vals-Delgado, C.; Alcalá-Díaz, J.F.; Roncero-Ramos, I.; Rangel-Zuñiga, O.A.; Yubero-Serrano, E.M.; Malagon, M.M.; et al. Endotoxemia is modulated by quantity and quality of dietary fat in older adults. *Exp. Gerontol.* **2018**, *109*, 119–125. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
48. López-Moreno, J.; García-Carpintero, S.; Jimenez-Lucena, R.; Haro, C.; Rangel-Zúñiga, O.A.; Blanco-Rojo, R.; Yubero-Serrano, E.M.; Tinahones, F.J.; Delgado-Lista, J.; Pérez-Martínez, P.; et al. Effect of Dietary Lipids on Endotoxemia Influences Postprandial Inflammatory Response. *J. Agric. Food Chem.* **2017**, *65*, 7756–7763. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
49. Pendyala, S.; Walker, J.M.; Holt, P.R. A high-fat diet is associated with endotoxemia that originates from the gut. *Gastroenterology* **2012**, *142*, 1100–1101.e2. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
50. Breusing, N.; Lagerpusch, M.; Engstler, A.J.; Bergheim, I.; Mueller, M.J.; Bosy-Westphal, A. Influence of Energy Balance and Glycemic Index on Metabolic Endotoxemia in Healthy Men. *J. Am. Coll. Nutr.* **2017**, *36*, 72–79. [[CrossRef](#)]
51. Amar, J.; Burcelin, R.; Ruidavets, J.B.; Cani, P.D.; Fauvel, J.; Alessi, M.C.; Chamontin, B.; Ferrières, J. Energy intake is associated with endotoxemia in apparently healthy men. *Am. J. Clin. Nutr.* **2008**, *87*, 1219–1223. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
52. Kallio, K.A.E.; Hätönen, K.A.; Lehto, M.; Salomaa, V.; Männistö, S.; Pussinen, P.J. Endotoxemia, nutrition, and cardiometabolic disorders. *Acta Diabetol.* **2015**, *52*, 395–404. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
53. Røytiö, H.; Morkkala, K.; Vahlberg, T.; Laitinen, K. Dietary intake of fat and fibre according to reference values relates to higher gut microbiota richness in overweight pregnant women. *Br. J. Nutr.* **2017**, *118*, 343–352. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
54. Ahola, A.J.; Lassenius, M.I.; Forsblom, C.; Harjutsalo, V.; Lehto, M.; Groop, P.-H. Dietary patterns reflecting healthy food choices are associated with lower serum LPS activity. *Sci. Rep.* **2017**, *7*, 6511. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
55. Pastori, D.; Carnevale, R.; Nocella, C.; Novo, M.; Santulli, M.; Cammisotto, V.; Menichelli, D.; Pignatelli, P.; Violi, F. Gut-Derived Serum Lipopolysaccharide is Associated with Enhanced Risk of Major Adverse Cardiovascular Events in Atrial Fibrillation: Effect of Adherence to Mediterranean Diet. *J. Am. Heart Assoc.* **2017**, *6*, e005784. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
56. Cunningham, C.; Wilcockson, D.C.; Champion, S.; Lunnon, K.; Perry, V.H. Central and systemic endotoxin challenges exacerbate the local inflammatory response and increase neuronal death during chronic neurodegeneration. *J. Neurosci.* **2005**, *25*, 9275–9284. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
57. Reichenberg, A.; Yirmiya, R.; Schuld, A.; Kraus, T.; Haack, M.; Morag, A.; Pollmächer, T. Cytokine-associated emotional and cognitive disturbances in humans. *Arch. Gen. Psychiatry* **2001**, *58*, 445–452. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

58. Cohen, O.; Reichenberg, A.; Perry, C.; Ginzberg, D.; Pollmächer, T.; Soreq, H.; Yirmiya, R. Endotoxin-induced changes in human working and declarative memory associate with cleavage of plasma “readthrough” acetylcholinesterase. *J. Mol. Neurosci.* **2003**, *21*, 199–212. [[CrossRef](#)]
59. Krabbe, K.S.; Reichenberg, A.; Yirmiya, R.; Smed, A.; Pedersen, B.K.; Bruunsgaard, H. Low-dose endotoxemia and human neuropsychological functions. *Brain Behav. Immun.* **2005**, *19*, 453–460. [[CrossRef](#)]
60. Van den Boogaard, M.; Ramakers, B.P.; van Alfen, N.; van der Werf, S.P.; Fick, W.F.; Hoedemaekers, C.W.; Verbeek, M.M.; Schoonhoven, L.; van der Hoeven, J.G.; Pickkers, P. Endotoxemia-induced inflammation and the effect on the human brain. *Crit. Care* **2010**, *14*, R81. [[CrossRef](#)]
61. Grigoleit, J.-S.; Oberbeck, J.R.; Lichte, P.; Kobbe, P.; Wolf, O.T.; Montag, T.; del Rey, A.; Gizewski, E.R.; Engler, H.; Schedlowski, M. Lipopolysaccharide-induced experimental immune activation does not impair memory functions in humans. *Neurobiol. Learn. Mem.* **2010**, *94*, 561–567. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
62. Grigoleit, J.-S.; Kullmann, J.S.; Wolf, O.T.; Hammes, F.; Wegner, A.; Jablonowski, S.; Engler, H.; Gizewski, E.; Oberbeck, R.; Schedlowski, M. Dose-dependent effects of endotoxin on neurobehavioral functions in humans. *PLoS ONE* **2011**, *6*, e28330. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
63. Moieni, M.; Irwin, M.R.; Jevtic, I.; Breen, E.C.; Eisenberger, N.I. Inflammation impairs social cognitive processing: A randomized controlled trial of endotoxin. *Brain Behav. Immun.* **2015**, *48*, 132–138. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
64. Kullmann, J.S.; Grigoleit, J.-S.; Wolf, O.T.; Engler, H.; Oberbeck, R.; Elsenbruch, S.; Forsting, M.; Schedlowski, M.; Gizewski, E.R. Experimental human endotoxemia enhances brain activity during social cognition. *Soc. Cogn. Affect. Neurosci.* **2014**, *9*, 786–793. [[CrossRef](#)]
65. Vassallo, M.; Dunais, B.; Durant, J.; Carsenti-Dellamonica, H.; Harvey-Langton, A.; Cottalorda, J.; Tichioni, M.; Laffon, M.; Lebrun-Frenay, C.; Dellamonica, P.; et al. Relevance of lipopolysaccharide levels in HIV-associated neurocognitive impairment: The Neuradapt study. *J. Neurovirol.* **2013**, *19*, 376–382. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
66. Lyons, J.L.; Uno, H.; Ancuta, P.; Kamat, A.; Moore, D.J.; Singer, E.J.; Morgello, S.; Gabuzda, D. Plasma sCD14 is a biomarker associated with impaired neurocognitive test performance in attention and learning domains in HIV infection. *J. Acquir. Immune Defic. Syndr.* **2011**, *57*, 371–379. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
67. Jespersen, S.; Pedersen, K.K.; Anesten, B.; Zetterberg, H.; Fuchs, D.; Gisslén, M.; Hagberg, L.; Trøseid, M.; Nielsen, S.D. Soluble CD14 in cerebrospinal fluid is associated with markers of inflammation and axonal damage in untreated HIV-infected patients: A retrospective cross-sectional study. *BMC Infect. Dis.* **2016**, *16*, 176. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
68. Zhan, X.; Stamova, B.; Jin, L.-W.; DeCarli, C.; Phinney, B.; Sharp, F.R. Gram-negative bacterial molecules associate with Alzheimer disease pathology. *Neurology* **2016**, *87*, 2324–2332. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
69. Zhao, Y.; Jaber, V.; Lukiw, W.J. Secretory Products of the Human GI Tract Microbiome and Their Potential Impact on Alzheimer’s Disease (AD): Detection of Lipopolysaccharide (LPS) in AD Hippocampus. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* **2017**, *7*, 318. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
70. Ancuta, P.; Kamat, A.; Kunstman, K.J.; Kim, E.-Y.; Autissier, P.; Wurcel, A.; Zaman, T.; Stone, D.; Mefford, M.; Morgello, S.; et al. Microbial translocation is associated with increased monocyte activation and dementia in AIDS patients. *PLoS ONE* **2008**, *3*, e2516. [[CrossRef](#)]
71. Zhang, R.; Miller, R.G.; Gascon, R.; Champion, S.; Katz, J.; Lancero, M.; Narvaez, A.; Honrada, R.; Ruvalcaba, D.; McGrath, M.S. Circulating endotoxin and systemic immune activation in sporadic amyotrophic lateral sclerosis (sALS). *J. Neuroimmunol.* **2009**, *206*, 121–124. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
72. Cândido, F.G.; Valente, F.X.; Grześkowiak, L.M.; Moreira, A.P.B.; Rocha, D.M.U.P.; Alfenas R de, C.G. Impact of dietary fat on gut microbiota and low-grade systemic inflammation: Mechanisms and clinical implications on obesity. *Int. J. Food Sci. Nutr.* **2018**, *69*, 125–143. [[CrossRef](#)]
73. Graham, C.; Mullen, A.; Whelan, K. Obesity and the gastrointestinal microbiota: A review of associations and mechanisms. *Nutr. Rev.* **2015**, *73*, 376–385. [[CrossRef](#)]
74. Arora, T.; Bäckhed, F. The gut microbiota and metabolic disease: Current understanding and future perspectives. *J. Intern. Med.* **2016**, *280*, 339–349. [[CrossRef](#)]
75. Do, M.H.; Lee, E.; Oh, M.-J.; Kim, Y.; Park, H.-Y. High-Glucose or -Fructose Diet Cause Changes of the Gut Microbiota and Metabolic Disorders in Mice without Body Weight Change. *Nutrients* **2018**, *10*, 761. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

76. Parlesak, A.; Schäfer, C.; Schütz, T.; Bode, J.C.; Bode, C. Increased intestinal permeability to macromolecules and endotoxemia in patients with chronic alcohol abuse in different stages of alcohol-induced liver disease. *J. Hepatol.* **2000**, *32*, 742–747. [[CrossRef](#)]
77. La Rosa, F.; Clerici, M.; Ratto, D.; Occhinegro, A.; Licito, A.; Romeo, M.; Iorio, C.D.; Rossi, P. The Gut-Brain Axis in Alzheimer's Disease and Omega-3. A Critical Overview of Clinical Trials. *Nutrients* **2018**, *10*, 1267. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
78. Wan, Y.; Freeswick, P.D.; Khemlani, L.S.; Kispert, P.H.; Wang, S.C.; Su, G.L.; Billiar, T.R. Role of lipopolysaccharide (LPS), interleukin-1, interleukin-6, tumor necrosis factor, and dexamethasone in regulation of LPS-binding protein expression in normal hepatocytes and hepatocytes from LPS-treated rats. *Infect. Immun.* **1995**, *63*, 2435–2442.
79. Yao, Z.; Mates, J.M.; Cheplowitz, A.M.; Hammer, L.P.; Maisseyeu, A.; Phillips, G.S.; Wewers, M.D.; Rajaram, M.V.S.; Robinson, J.M.; Anderson, C.L.; et al. Blood-Borne Lipopolysaccharide Is Rapidly Eliminated by Liver Sinusoidal Endothelial Cells via High-Density Lipoprotein. *J. Immunol.* **2016**, *197*, 2390–2399. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
80. Bollen, J.; Trick, L.; Llewellyn, D.; Dickens, C. The effects of acute inflammation on cognitive functioning and emotional processing in humans: A systematic review of experimental studies. *J. Psychosom. Res.* **2017**, *94*, 47–55. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
81. Anderson, I.; Adinolfi, C.; Doctrow, S.; Huffman, K.; Joy, K.A.; Malfroy, B.; Soden, P.; Rupniak, H.T.; Barnes, J.C. Oxidative signalling and inflammatory pathways in Alzheimer's disease. *Biochem. Soc. Symp.* **2001**, *67*, 141–149. [[CrossRef](#)]
82. Russell, R.M. Changes in gastrointestinal function attributed to aging. *Am. J. Clin. Nutr.* **1992**, *55*, 1203S–1207S. [[CrossRef](#)]
83. Osipova, E.D.; Komleva, Y.K.; Morgun, A.V.; Lopatina, O.L.; Panina, Y.A.; Olovyanikova, R.Y.; Vais, E.F.; Salmin, V.V.; Salmina, A.B. Designing in vitro Blood-Brain Barrier Models Reproducing Alterations in Brain Aging. *Front. Aging Neurosci.* **2018**, *10*, 234. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]



© 2019 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

ANNEXE 4

Annexe 4 Évaluation de l'état nutritionnel par le Mini Nutritional Assessment (MNA).

NESTLÉ NUTRITION SERVICES



Evaluation de l'état nutritionnel Mini Nutritional Assessment MNA™

Nom:	Prénom:		Sexe:	Date:
Age:	Poids, kg:	Taille en cm:	Hauteur du genou, cm:	

Répondez à la première partie du questionnaire en indiquant le score approprié pour chaque question. Additionnez les points de la partie. Dépistage, si le résultat est égal à 11 ou inférieur, complétez le questionnaire pour obtenir l'appréciation précise de l'état nutritionnel.

Dépistage	
A Le patient présente-t-il une perte d'appétit? A-t-il mangé moins ces 3 derniers mois par manque d'appétit, problèmes digestifs, difficultés de mastication ou de déglutition? 0 = anorexie sévère 1 = anorexie modérée 2 = pas d'anorexie	☐
B Perte récente de poids (<3 mois) 0 = perte de poids > 3 kg 1 = ne sait pas 2 = perte de poids entre 1 et 3 kg 3 = pas de perte de poids	☐
C Motricité 0 = du lit au fauteuil 1 = autonome à l'intérieur 2 = sort du domicile	☐
D Maladie aiguë ou stress psychologique lors des 3 derniers mois? 0 = oui 2 = non	☐
E Problèmes neuropsychologiques 0 = démence ou dépression sévère 1 = démence ou dépression modérée 2 = pas de problème psychologique	☐
F Indice de masse corporelle (IMC = poids / (taille) ² en kg/m ²) 0 = IMC < 19 1 = 19 ≤ IMC < 21 2 = 21 ≤ IMC < 23 3 = IMC ≥ 23	☐
Score de dépistage (sous-total max. 14 points)	☐ ☐
12 points ou plus normal pas besoin de continuer l'évaluation	
11 points ou moins possibilité de malnutrition – continuez l'évaluation	

Evaluation globale	
G Le patient vit-il de façon indépendante à domicile? 0 = non 1 = oui	☐
H Prend plus de 3 médicaments 0 = oui 1 = non	☐
I Escarres ou plaies cutanées? 0 = oui 1 = non	☐

Ref.: Gulgoz Y, Velles B and Garry PJ, 1994, Mini Nutritional Assessment: A practical assessment tool for grading the nutritional state of elderly patients. *Acts and Research in Gerontology*, Supplement 12:15-59.
Rubenstein LZ, Harker J, Gulgoz Y and Velles B, Comprehensive Geriatric Assessment (CGA) and the MNA: An Overview of CGA, Nutritional Assessment, and Development of a Shortened Version of the MNA. In: "Mini Nutritional Assessment (MNA): Research and Practice in the Elderly", Velles B, Garry PJ and Gulgoz Y, editors, Nestlé Nutrition Workshop Series, Clinical & Performance Programs, vol. 1, Karger, Bale, in press.

© 1998 Société des Produits Nestlé S.A., Vevey, Switzerland, Trademark Owners

J Combien de véritables repas le patient prend-il par jour? 0 = 1 repas 1 = 2 repas 2 = 3 repas	☐
K Consomme-t-il? • Une fois par jour au moins des produits laitiers? oui ☐ non ☐ • Une ou deux fois par semaine des œufs ou des légumineuses? oui ☐ non ☐ • Chaque jour de la viande, du poisson ou de la volaille? oui ☐ non ☐ 0,0 = si 0 ou 1 oui 0,5 = si 2 oui 1,0 = si 3 oui	☐ ☐
L Consomme-t-il deux fois par jour au moins des fruits ou des légumes? 0 = non 1 = oui	☐
M Combien de verres de boissons consomme-t-il par jour? (eau, jus, café, thé, lait, vin, bière...) 0,0 = moins de 3 verres 0,5 = de 3 à 5 verres 1,0 = plus de 5 verres	☐ ☐
N Manière de se nourrir 0 = nécessite une assistance 1 = se nourrit seul avec difficulté 2 = se nourrit seul sans difficulté	☐
O Le patient se considère-t-il bien nourri? (problèmes nutritionnels) 0 = malnutrition sévère 1 = ne sait pas ou malnutrition modérée 2 = pas de problème de nutrition	☐
P Le patient se sent-il en meilleure ou en moins bonne santé que la plupart des personnes de son âge? 0,0 = moins bonne 0,5 = ne sait pas 1,0 = aussi bonne 2,0 = meilleure	☐ ☐
Q Circonférence brachiale (CB en cm) 0,0 = CB < 21 0,5 = CB ≤ 21 CB ≤ 22 1,0 = CB > 22	☐ ☐
R Circonférence du mollet (CM en cm) 0 = CM < 31 1 = CM ≥ 31	☐

Evaluation globale (max. 16 points) ☐ ☐ ☐

Score de dépistage ☐ ☐

Score total (max. 30 points) ☐ ☐ ☐

Appréciation de l'état nutritionnel

de 17 à 23,5 points risque de malnutrition ☐

moins de 17 points mauvais état nutritionnel ☐

100 001

ANNEXE 5

Annexe 5 Profils alimentaires, réalisés séparément chez les hommes et chez les femmes, et taux circulants d'acides gras 3-hydroxylés (AG 3-OH).

Caractéristiques descriptives selon le sexe

Dans l'ensemble, par rapport aux femmes (n= 432), les hommes (n= 266) étaient plus susceptibles de présenter un surpoids (42,5% contre 38,2% pour les femmes), un diabète (12,4% contre 3,9% pour les femmes) et des antécédents de maladies cardiovasculaires (11,3% contre 5,8% pour les femmes). En revanche, les femmes consommaient davantage de médicaments anti-inflammatoires ou corticoïdes (18,3% contre 11,6% pour les hommes) et étaient plus susceptibles de présenter en moyenne des niveaux plus élevés de HDL et des taux inférieurs de triglycérides. Les taux d'AG 3-OH étaient significativement plus élevés chez les hommes (289,3 $\mu\text{mol/mL}$ (SD 118,4 $\mu\text{mol/mL}$)) que chez les femmes (252,4 $\mu\text{mol/mL}$ (SD 84,5 $\mu\text{mol/mL}$)). En ce qui concerne le score d'adhérence au régime Méditerranéen, les femmes avaient un score légèrement plus élevé (10,8 sur 18 points (SD 2,0)) que les hommes (10,4 sur 18 points (SD 2,0)).

Identification des profils alimentaires *a posteriori*

Chez les femmes, le premier profil identifié était caractérisé principalement par une fréquence de consommation hebdomadaire élevée en pâtes, riz, pomme de terre et œufs ainsi qu'en sucreries et biscuits (Tableau A1). Ce profil a été qualifié de « glucides simples et complexes » et représentait 10,1% de la variation de l'échantillon total. Le second profil obtenu, dénommé « prudent » était caractérisé par une consommation élevée en légumes et poissons et comptait pour 8,8% de la variation totale. Enfin, le dernier profil retenu était caractérisé par des apports élevés en alcool, viande et charcuterie. Ce dernier a été qualifié de « sud-ouest » et représentait 8,3% de la variation totale.

Chez les hommes, le premier profil identifié correspondait à des apports élevés en pâtes, riz, pomme de terre, légumineuses, œufs et volaille et a été qualifié de profil « diversifié » et comptait pour 10,9% de la variation totale (Tableau A2). Expliquant 8,6% de la variation, le second profil identifié était caractérisé par une fréquence de consommation hebdomadaire élevée en biscuits et faible en céréales et légumes cuits. Celui-ci a été dénommé profil « grignotage ». Enfin, le troisième et dernier profil retenu chez les hommes et comptant pour 8,4% de la variation totale était caractérisé par un apport élevé en poisson et en fruits et un apport faible en viande et en charcuterie. Ce profil a été qualifié de « prudent ».

Tableau A1. Structure des profils alimentaires identifiés a posteriori par analyse en composante principale selon les 20 groupes d'aliments du questionnaire de fréquence alimentaire chez les femmes (n= 432).

	Profil « Glucides simples et complexes »	Profil « Prudent »	Profil « Sud-ouest »
Factor loadings			
Légumes crus	0,037	0,507	0,039
Légumes cuits	-0,029	0,597	-0,079
Fruits	-0,198	0,318	-0,310
Légumineuses	0,199	0,276	0,390
Pizza et sandwich	0,300	-0,241	0,005
Pomme de terre	0,414	0,276	0,390
Pâte	0,687	0,144	0,009
Riz	0,606	0,195	-0,080
Œuf	0,410	0,236	-0,071
Volaille	0,276	0,332	-0,145
Poisson et crustacés	0,075	0,576	0,067
Viande	0,177	-0,074	0,462
Charcuterie	0,181	0,062	0,541
Alcool	-0,064	-0,059	0,559
Coffee	0,149	-0,028	0,045
Thé	0,112	-0,012	-0,361
Produits laitiers	0,141	0,067	-0,265
Pain et céréales	0,279	0,345	0,391
Sucreries	0,453	-0,194	0,111
Biscuits	0,434	-0,385	-0,311
Variance expliquée (%)	10,1	8,8	8,3

Tous les groupes d'aliments sont considérés en nombre de portions par semaine. En gras, les factor loadings $|\geq 0.4|$.

Tableau A2. Structure des profils alimentaires identifiés a posteriori par analyse en composante principale selon les 20 groupes d'aliments du questionnaire de fréquence alimentaire chez les hommes (n= 266).

	Profil « Diversifié »	Profil « Grignotage »	Profil « Prudent »
Factor loadings			
Légumes crus	0,274	-0,267	0,282
Légumes cuits	0,165	-0,522	0,350
Fruits	-0,001	-0,019	0,509
Légumineuses	0,448	0,279	-0,105
Pizza et sandwich	0,046	0,187	0,014
Pomme de terre	0,540	-0,170	-0,107
Pâte	0,585	-0,055	-0,200
Riz	0,615	0,031	0,067
Œuf	0,547	0,147	0,054
Volaille	0,481	-0,169	0,054
Poisson et crustacés	0,373	0,293	0,513
Viande	-0,019	-0,119	-0,640
Charcuterie	0,273	0,337	-0,544
Alcool	0,015	0,381	-0,236
Coffee	-0,039	-0,014	0,194
Thé	0,128	0,227	0,082
Produits laitiers	0,167	0,064	0,168
Pain et céréales	0,235	-0,612	-0,074
Sucreries	0,161	0,022	0,002
Biscuits	-0,003	0,619	0,114
Variance expliquée (%)	10,9	8,6	8,4

Tous les groupes d'aliments sont considérés en nombre de portions par semaine. En gras, les factor loadings $|\geq 0.4|$.

Associations entre profils alimentaires et taux circulants d'acides gras 3-hydroxylés

Chez les femmes, aucune association significative n'a été mise en évidence entre les profils alimentaires identifiés *a posteriori* et les taux d'AG 3-OH, que ce soit pour le profil « glucides simples et complexes » (coefficient β [IC 95%] : 0,02 [-0,22 ; 0,27]), le profil « prudent » (coefficient β [IC 95%] : -0,058 [-0,30 ; 0,19]) ou le profil « sud-ouest » (coefficient β [IC 95%] : 0,12 [-0,12 ; 0,37]) dans le Modèle 2 (Tableau A3). De la même façon, une meilleure adhérence au profil Méditerranéen n'était pas significativement associée aux niveaux d'AG 3-OH plasmatiques chez les femmes (coefficient β [IC 95%] : -0,15 [-0,14 ; 0,11]).

En revanche, chez les hommes, une meilleure adhérence à un profil de type « prudent » ou à un régime Méditerranéen était significativement associée à des taux plus faibles d'AG 3-OH (coefficient β [IC 95%] : -0,68 [-1,05 ; -0,32] et -0,28 [-0,46 ; -0,10], respectivement) dans le Modèle 2 (Tableau A4). Bien qu'une tendance entre une meilleure adhérence au profil « grignotage » et un taux plus élevé d'AG 3-OH était observée chez les hommes, celle-ci

demeurait statistiquement non significative (coefficient β [IC 95%] : 0,30 [-0,06 ; 0,66]). De même, une adhérence plus élevée au profil « diversifié » n'était pas associé aux niveaux circulants d'AG 3-OH (coefficient β [IC 95%] : -0,13 [-0,49 ; 0,24]).

Tableau A3. Associations multivariées entre profils alimentaires et taux plasmatiques d'acides gras 3-hydroxylés chez les femmes (n= 432).

	Modèle 1			Modèle 2		
	β *	IC 95%	p-value	β *	IC 95%	p-value
Profils <i>a posteriori</i>						
Profil « glucides simples et complexes »	0,011	[-0,230 ; 0,253]	0,927	0,024	[-0,223 ; 0,272]	0,846
Profil « prudent »	-0,071	[-0,310 ; 0,168]	0,562	-0,058	[-0,303 ; 0,188]	0,645
Profil « sud-ouest »	0,162	[-0,077 ; 0,402]	0,184	0,124	[-0,120 ; 0,369]	0,319
Profil <i>a priori</i>						
Profil Méditerranéen	-0,016	[-0,137 ; 0,106]	0,799	-0,015	[-0,141 ; 0,110]	0,809

* Coefficients de régression pour la racine carrée d'AG 3-OH. Modèle 1 ajusté sur l'âge et le niveau d'éducation. Modèle 2 ajusté sur les covariables du Modèle 1 + le statut tabagique, l'IMC, l'hypertension, le diabète, la symptomatologie dépressive, HDL, LDL, triglycérides, antécédents cardiovasculaires, nombre de médicaments total par semaine et médicaments anti-inflammatoires. Un ajustement supplémentaire sur les autres profils alimentaires *a posteriori* a été réalisé (excepté pour le profil Méditerranéen). Abréviations : AG 3-OH acides gras 3-hydroxylés ; IMC Indice de masse corporelle ; LDL *low density lipoprotein* ; HDL *high density lipoprotein*.

Tableau A4. Associations multivariées entre profils alimentaires et taux plasmatiques d'acides gras 3-hydroxylés chez les hommes (n= 266).

	Modèle 1			Modèle 2		
	β *	IC 95%	p-value	β *	IC 95%	p-value
Profils <i>a posteriori</i>						
Profil « diversifié »	-0,107	[-0,483 ; 0,268]	0,575	-0,129	[-0,493 ; 0,235]	0,487
Profil « grignotage »	0,475	[0,101 ; 0,849]	0,013	0,304	[-0,055 ; 0,663]	0,097
Profil « prudent »	-0,711	[-1,090 ; -0,334]	0,0003	-0,683	[-1,048 ; -0,319]	0,0003
Profil <i>a priori</i>						
Profil Méditerranéen	-0,313	[-0,500 ; -0,126]	0,001	-0,282	[-0,459 ; -0,105]	0,002

* Coefficients de régression pour la racine carrée d'AG 3-OH. Modèle 1 ajusté sur l'âge et le niveau d'éducation. Modèle 2 ajusté sur les covariables du Modèle 1 + le statut tabagique, l'IMC, l'hypertension, le diabète, la symptomatologie dépressive, HDL, LDL, triglycérides, antécédents cardiovasculaires, nombre de médicaments total par semaine et médicaments anti-inflammatoires. Un ajustement supplémentaire sur les autres profils alimentaires *a posteriori* a été réalisé (excepté pour le profil Méditerranéen). Abréviations : AG 3-OH acides gras 3-hydroxylés ; IMC Indice de masse corporelle ; LDL *low density lipoprotein* ; HDL *high density lipoprotein*.

Interprétation spéculative

Étant donné que la différence de réponse endotoxémique suite à une exposition notamment aiguë de LPS entre les hommes et les femmes fait encore débat (490,491), et en l'absence de littérature évaluant les associations entre profils alimentaires et biomarqueurs de l'endotoxémie à jeun séparément chez les hommes et chez les femmes, seules des hypothèses spéculatives peuvent être proposées pour expliquer de tels résultats. Nous suggérons que du fait que le profil « prudent » chez les hommes soit à la fois caractérisé par une faible consommation d'aliments considérés comme préjudiciables pour la santé (*c.-à-d.*, *factor loadings* négatifs pour la consommation de viande et de charcuterie) mais également par une consommation élevée d'aliments considérés comme sains (*c.-à-d.*, *factor loadings* positifs pour la consommation de poisson et de fruits), cela pourrait doublement contribuer à limiter l'endotoxémie plasmatique. Cette hypothèse d'un effet renforcé pourrait ainsi annihiler en partie la perte de puissance statistique, inhérente à la séparation de l'échantillon selon le sexe. Par ailleurs, les dénominations de profil « prudent » qui existent à la fois chez les hommes et les femmes dans cette étude ne sont que des indicatrices permettant de résumer l'information selon notre interprétation. En effet, les *factor loadings* ayant contribué différemment aux deux profils « prudent » chez les hommes et chez les femmes, ces profils ne sont pas comparables entre eux, en termes de quantité ou de qualité.

ANNEXE 6

Annexe 6 Mediterranean diet and prudent diet are both associated with low circulating esterified 3-hydroxy fatty acids, a proxy of lipopolysaccharide (LPS) burden, among older adults.

Authors:

Perrine André^{1*} MPH, Jean-Paul Pais de Barros² PhD, Bénédicte MJ Merle¹ PhD, Cécilia Samieri¹ PhD, Catherine Helmer^{1 3} MD PhD, Cécile Delcourt¹ PhD, Catherine Féart¹ PhD

Affiliations:

¹ Univ. Bordeaux, INSERM, BPH, U1219, F-33000 Bordeaux, France

² Plateforme de Lipidomique, INSERM UMR1231, Université de Bourgogne Franche Comté, F-21000 Dijon, France.

³ INSERM, Clinical Investigation Center – Clinical Epidemiology 1401, F-33000 Bordeaux, France

Corresponding author: Catherine Féart

Address: Team "Lifelong Exposures, Health and Aging"

INSERM U1219 - Bordeaux Population Health Research Center, Bordeaux University,

ISPED 146 rue Léo-Saignat, Bordeaux Cedex–France

E-mail: catherine.feart-couret@u-bordeaux.fr

Phone: +33 5 47 304 204

Short running head: Dietary patterns and LPS burden

Abbreviations:

3-OH FAs: 3-hydroxy fatty acids

DPs: Dietary Patterns

LPS: Lipopolysaccharide

Abstract

Background. Lipopolysaccharide (LPS)-type endotoxins, released by the disruption of Gram-negative bacteria naturally found in the gut microbiota, are recognized as triggers of inflammation and emerge as detrimental factors of healthy aging. Nutrition represents a promising strategy to reduce LPS burden, yet little is known about the relation of diet to circulating LPS levels in humans.

Objective. To evaluate the associations between dietary patterns (DPs) and circulating esterified 3-hydroxy fatty acids (3-OH FAs), a proxy of LPS burden.

Design. In a cross-sectional study of 698 older community-dwellers, plasma 3-OH FA levels were measured by LC-MS/MS. DPs were determined using food frequency questionnaires. Adherence to Mediterranean DP *a priori* was computed according to the consumption of 8 food groups (fruits, vegetables, legumes, cereals, fish, olive oil, meat and dairy products) and alcohol intake (range 0, low adherence, to 18, high adherence). Three *a posteriori* DPs were derived from factor analysis and identified as complex carbohydrate diet (mainly rich in rice, pasta, eggs, poultry and potatoes), traditional diet (mainly rich in alcohol, meat, charcuterie and legumes) and prudent diet (mainly rich in vegetables and fruits and low in biscuits). Linear regression models were applied.

Results. Greater adherence to both the Mediterranean diet and the *a posteriori* prudent diet were both significantly associated with lower circulating esterified 3-OH FAs (multivariate-adjusted coefficient β [95% CIs] for each additional point of score: -0.12 [-0.22; -0.01] and -0.27 [-0.48; -0.07], respectively). In contrast, greater adherence to the traditional diet was significantly associated with higher level of 3-OH FAs (β [95% CIs] 0.22 [0.001; 0.46]). The adherence to the complex carbohydrates diet was not associated with 3-OH FAs levels.

Conclusions. Both *a priori* and *a posteriori* healthy DPs were significantly associated with lower 3-OH FAs levels, and thus a lower LPS burden, which is considered a potent trigger of inflammatory response, in this sample of older community dwellers.

Keywords: Dietary pattern; Mediterranean diet; Principal component analysis; Lipopolysaccharides (LPS); Endotoxins; Elderly; 3C study; Alienor study

1. Introduction

Lipopolysaccharide (LPS)-type endotoxins, major components of the outer membrane of Gram negative bacteria, are naturally found in large amounts in the human gut microbiota (1). LPS are released during the growth and death of bacteria cells and thus are ubiquitous toxins. The LPS structure consists of an O-antigen polysaccharide, an oligosaccharide core and a pathogen-associated molecular pattern, called lipid A, containing 3-hydroxy fatty acids (3-OH FAs) of variable length linked by ester and amide bonds to a glucosamine disaccharide backbone (2–4). The lipid A component carries the potent toxic inflammatory capacity of LPS, known to trigger the activation of the host immune system, which results in the secretion of proinflammatory cytokines (*e.g.*, IL-6, TNF- α and CRP) and oxidative stress (5). Experimental studies have reported that a mild dose of LPS in adults (*e.g.*, intravenous injection of 1 ng/kg, approximately 15 μ g/mL distributed through the blood) induces transient proinflammatory cytokine production (5), nonspecific behavioral effects called “sickness behavior” (*e.g.*, including fatigue, fever, lethargy, headache and depression) (5) and activation of microglia in the brain, known as an actor of neuroinflammation (6).

Elevated levels of LPS in the bloodstream in the absence of an obvious infection, defined as metabolic endotoxemia, has been reported in a broad variety of inflammatory-related chronic diseases such as obesity, diabetes, cardiovascular diseases and Alzheimer’s disease (7). Therefore, metabolic endotoxemia might be an underlying mechanism maintaining the inflamm-aging, characterized by an age-related progressive immunosenescence concomitant with chronic low-grade inflammation (8), and associated with increased risk of morbidity and mortality (9).

Known to be able to modulate the gut microbiota composition, and therefore the relative abundance of LPS-contained bacteria as well as the translocation of LPS into the blood, nutrition represents one of the most promising strategies to target inflamm-aging (10–12). Among the most studied nutrients, dietary fats emerge as potent regulators of metabolic endotoxemia, and accumulating evidence suggested that the consumption of meals rich in saturated fats has the ability to enhance postprandial LPS activity (13,14). Interestingly, the addition of healthy foods rich in fiber to such high-saturated fat meals has been reported to counterbalance this increase in metabolic endotoxemia (15). Regarding dietary patterns (DPs), Western-like DPs have been associated with exacerbated circulating levels of LPS (16,17), whereas some studies reported that adopting a healthy diet such as the Mediterranean diet is likely to limit the increase in metabolic endotoxemia (16,18). Taken together, these results suggest that some DPs may lead to an increased level of LPS and that the matrix effect of particular food groups consumed together could be a key player of the metabolic endotoxemia response. Although of major interest, the relationship between DPs and metabolic endotoxemia remains poorly studied, in particular among older adults who are yet more prone to inflamm-aging and multicomorbidity. The aim of the present study was to assess the association between dietary habits and plasma 3-OH FAs used as a proxy of LPS burden (19) among older community-dwellers. Given the paucity of data on DPs and endotoxemia, we examine dietary habits through two complementary *a priori* and *a posteriori* approaches to identify DPs.

2. Subjects and methods

2.1 Study sample

The Three-City (3C) study is a French population-based prospective cohort study initiated in 1999 to study the vascular risk factors for dementia. The 3C study includes 9,294 community dwellers aged 65 and over from three French cities: Bordeaux ($n = 2,104$), Dijon ($n = 4,931$), and Montpellier ($n = 2,259$). The protocol was approved by the Consultative Committee for the Protection of Persons participating in Biomedical Research at Kremlin-Bicêtre University Hospital (Paris, France). All participants provided written informed consent. The protocol of the 3C study and the participants' baseline characteristics were described previously (20). The present study is based on the 3C-Bordeaux center, which underwent an in-depth nutritional survey. For cost reasons inherent in the assay of the endotoxemia biomarker, this present study focused on a subsample of 3C-Bordeaux: the Alienor study.

The Alienor (Antioxydants, Lipides Essentiels, Nutrition et maladies OculaiRes) study is an ancillary prospective study that was implemented in the Bordeaux center of the 3C study (20,21). The Alienor study, consisting of 963 participants at baseline, aims to study the relationships between nutritional habits and age-related ocular diseases. At baseline, participants provided sociodemographic and lifestyle information, health and anthropometric-related characteristics and neuropsychological testing during face-to-face interviews. Blood samples were obtained at baseline after the participant fasted overnight, and derivatives were stored at -80°C . Participants were followed-up about every 2 to 3 years since baseline. In the first wave of follow-up (*e.g.*, 2 years after baseline), a comprehensive dietary survey was conducted, including a broad food frequency questionnaire (FFQ).

Detailed characteristics of participants of the Alienor study have been described previously (21). The design of the Alienor study has been approved by the Ethics Committee of Bordeaux (Comité de Protection des Personnes Sud-Ouest et Outre-Mer III).

From the initial sample of 963 participants, we identified 785 participants with available blood samples at baseline. Then, we excluded 59 participants without nutritional data from an FFQ and 28 participants with missing data for covariates considered potential cofounders, leading to a study sample of 698 participants for the present cross-sectional analysis.

2.2 Assessment of circulating LPS levels by LC-MSMS

Endotoxin levels were assessed by measuring esterified 3-OH-FAs concentrations by LC-MS/MS as previously described (19,22). In brief, as circulating free 3-OH-FAs can be detected in plasma, LPS concentrations were calculated as the difference between the amounts of "total 3-OH-FAs" released after strong acidic hydrolysis of 100 μL of plasma and the amounts of "free 3-OH FAs" (*e.g.*, non LPS, free 3-OH-FAs) determined after direct extraction of 100 μL of plasma without the strong acidic hydrolysis step. The resulting "esterified 3-OH-FA" levels, expressed in pmol/mL , reflect the LPS concentrations in plasma. To achieve normal distribution of the variable, the square root of esterified 3-OH FAs concentrations was used.

2.3 Nutritional data

Dietary data were obtained from an FFQ administered at the first follow-up by registered dietitians who received collective training and monitoring. The frequency of consumption of 40 categories of food and non-alcoholic beverages was recorded for each of the three main meals and three between-meal snacks (including 148 items). Frequencies of consumption were recorded in 11 categories as follows: 0 for never or less than once a week, 0.25 for once a

month, 0.5 for twice a month, 0.75 for three times a month, 1 for once a week, and from 2 for twice a week to 7 for seven times a week (23). The number of glasses of alcohol consumed per week was also recorded. The food and beverage items were then classified into 20 predefined groups: *raw vegetables; cooked vegetables; fruits including compotes and fruit juices; legumes; pizza, sandwich, salty pies and quiche; potatoes; pasta; rice; eggs; meat excluding poultry; poultry; fish and shellfish; charcuterie; bread and ready-to-eat cereals*; all kinds of sweet products including sodas; *biscuits, cakes, cookies, and Viennese pastries*; total dairy products including milk, cheese, fresh dairy products, and chocolate drink; *alcohol; coffee; and tea (as described elsewhere (23)).*

2.4 Identification of *a priori* and *a posteriori* dietary patterns

As already proposed in the nutritional epidemiology field, two complementary approaches have been used to identify dietary patterns of participants. The *a priori* approach is a hypothesis-oriented approach offering the possibility to assess adherence to a specific dietary pattern or recommendation based on prior scientific knowledge (24,25). In contrast, the *a posteriori* approach is entirely agnostic, and aims at characterizing, through multidimensional statistical approaches, main dietary patterns in a specific population (25).

As described by Sofi *et al.* (26) *a priori Mediterranean diet adherence* was assessed by the frequency of consumption of 8 selected food groups and alcohol (27). This Mediterranean diet score ranged from 0 (poor adherence) to 18 (highest adherence) with 0 to 2 points for the usual servings of fruits (2 points for a consumption of 1.5 servings/d or more); raw and cooked vegetables (2 points for a consumption of 2.5 servings/d or more); legumes (2 points for a consumption of 2 servings/week or more); cereals including pasta, rice bread, bread and ready-to-eat cereals (2 points for a consumption of 1.5 servings/d or more); fish (2 points for a consumption of 2.5 servings/week or more); and olive oil (2 points for a preferential consumption of olive oil among other types of fats for seasoning and cooking), for which the higher the score, the better the diet quality; meat and meat products (2 points for a consumption of 1 serving/d or less) and dairy products (2 points for a consumption of 1 serving/d or less), for which the lower, the better; and alcohol (2 points were attributed for a moderate consumption of 1 to 2 glasses per day considered as beneficial, 1 point for a consumption less than 1 glass per day and 0 point for a consumption higher than 2 glasses per day) (for detailed thresholds according to each food group, see (26)).

A posteriori dietary patterns were derived using principal component analysis (PCA)-type factor analysis with orthogonal transformation (*e.g.*, varimax rotation) for an easier understanding of the obtained components. Input variables of the PCA procedure included standardized frequency consumption of all of the 20 food groups, described above. The number of DPs was determined according to scree plot examination and interpretation, leading to the identification of three characterized *a posteriori* DPs. The correlation between food groups and each component (*e.g.*, *a posteriori* identified DPs) are given by factor-loadings. Food groups with positive loadings indicate positive relationship with the component and in contrast, food groups with negative loadings indicate an inverse relationship with the component. The greater the absolute factor-loading for a specific food item, the greater the contribution of the food item to the component. Variables with higher factor-loadings, based on an arbitrary cutoff of $|0.40|$, were considered to significantly contribute to the component and used to label *a posteriori* DPs. Nevertheless, all factor-loadings (*e.g.*, those above and below $|0.40|$) were included in

calculating component scores. For each participant, a factor score for each DP was calculated by summing the intakes of the 20 food groups weighted by their factor-loadings.

The *a priori* and *a posteriori* DP scores were used as continuous variables (+ 1 point) in subsequent analyses and divided into tertiles (*e.g.*, low, intermediate and high adherence for each DP) for descriptive purposes.

2.5 Covariates

Sociodemographic characteristics were collected at study inclusion, including age, sex and educational level (defined in 3 categories: less than primary school, intermediate, university or equivalent). Medical variables including diabetes (*e.g.*, fasting blood glucose ≥ 7 mmol/L or non-fasting glucose ≥ 11 mmol/L or oral diabetes medication), hypertension (blood pressure above 140/90 mmHg or taking antihypertensive medication), cardiovascular history (*e.g.*, including myocardial infarction or cardiac and vascular surgery or arteritis or stroke), depressive symptomatology (defined as Center for Epidemiologic Studies Depression Scale (CES-D)-scores of > 17 for men and > 23 for women, based on French-validated thresholds (28)), body mass index (BMI) (considered in 3 categories: < 21 kg/m² for underweight, 21-27 kg/m² for normal weight and > 27 kg/m² for overweight, *e.g.*, relevant cutoffs for the elderly (29)), number of drugs consumed several times a week (classified as low consumption (< 5), poly-medication (5-9) or hyper poly-medication (> 9)), and the number of specific systemic anti-inflammatory drugs used (nonsteroidal anti-inflammatory drugs and/or corticosteroids) were also assessed. The smoking status (considered as nonsmoker, former smoker or current smoker) and subjective health (classified as good or very good, intermediate, bad and very bad) were also reported. Biological data included the measurement of low-density lipoprotein cholesterol (LDL), high-density lipoprotein cholesterol (HDL), and triglycerides, expressed in mmol/L.

2.6 Statistical analysis

The associations between Mediterranean-type diet or *a posteriori* DPs and circulating level of esterified 3-OH FAs (with square root transformation) were evaluated using linear regression models. Models were adjusted for covariates of interest identified in the literature and considering the availability of data in the dataset: age, sex, and educational level (Model 1) + smoking status, BMI, depressive symptomatology, hypertension, diabetes, lipid profile (*e.g.*, LDL, HDL and triglyceride levels considered separately in the model), and history of cardiovascular diseases and number of total drugs and anti-inflammatory drugs (Model 2). Multivariable-adjusted coefficient β and 95% confidence intervals [95%CIs] are presented. Coefficient β represents the change of 1 unit of square root of 3-OH FAs levels for each increase of 1 point DP score. Interactions between diabetes and DPs, as well as between BMI and DPs, were tested.

Statistical analyses were performed using SAS software version 9.4 (SAS Institute Inc., Cary, 134 NC, USA) and R software version 3.3.2 (R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria).

3. Results

3.1. Characteristics of the study sample

The baseline characteristics of the 698 participants included in the study, overall and by tertiles of 3-OH FAs, are described in Table 1. Participants were 73.1 years old on average (range 65.4 - 87.0) and mainly women (62%). Overall, participants with high levels of 3-OH FAs (upper tertile of distribution compared with the lower tertile) were predominantly men and more often exhibited an unhealthy clinical status. However, perceived subjective health did not seem to differ according to the circulating levels of 3-OH FAs, with 3% of participants on average considering themselves in good or very good health and over 60% considering themselves in poor or very poor health. Approximately 7% of the participants suffered from diabetes; this proportion was higher among participants with the higher circulating levels of 3-OH FAs (from 3.5% to 13.3% for the lower and upper tertiles of 3-OH FAs, respectively). A history of cardiovascular disease was reported in nearly 8% of participants, and the frequency tended to be higher with higher levels of 3-OH FAs (5.2% to 10.7% for the lower and upper tertiles of 3-OH FAs, respectively). The average BMI was 26.3 kg/m², with almost 40% of the participants being overweight or obese. More than 6% of participants reported hyper polymedication; the average number of drugs consumed per week was 4.1. Depressive symptomatology was reported by 6% of participants, with a lower frequency among participants with higher levels of 3-OH FAs (6.9% and 5.2% for the lower and upper tertiles of 3-OH FAs, respectively). The lipid profile appeared to slightly differ across the tertiles of 3-OH FAs, with a trend toward higher triglycerides and LDL levels in the upper tertile of 3-OH FAs than in the lower tertile.

Table 1. Baseline sociodemographic and clinical characteristics of the participants' study (n= 698).

Baseline characteristics	Total (n= 698)		Ter1 3-OH FAs (n= 232)		Ter2 3-OH FAs (n= 233)		Ter3 3-OH FAs (n= 233)	
Age (years)	73..1	(4..4)	73..2	(4..3)	72.9	(4.4)	73.0	(4.5)
Sex (women)	432	(61.9)	169	(72.8)	143	(61.4)	120	(51.5)
Educational level								
Low (< primary school)	207	(29.7)	76	(32.8)	68	(29.2)	63	(27.0)
Intermediate	346	(49.6)	116	(50.0)	115	(49.4)	115	(49.4)
High (university or equivalent)	145	(20.7)	40	(17.2)	50	(21.4)	55	(23.6)
Body mass index (kg/m ²)								
Underweight (<21 kg/m ²)	51	(7.3)	18	(7.8)	13	(5.6)	20	(8.6)
Normal weight (21-27 kg/m ²)	369	(52.9)	125	(53.9)	122	(52.4)	122	(52.4)
Overweight (>27 kg/m ²)	278	(39.8)	89	(38.4)	98	(42.1)	91	(39.0)
Subjective health								
Good or very good	21	(3.0)	7	(3.0)	7	(3.0)	7	(3.0)
Intermediate	239	(34.2)	85	(36.6)	78	(33.5)	76	(32.6)
Bad or very bad	438	(62.8)	140	(60.3)	148	(63.5)	150	(64.4)
Diabetes	50	(7.2)	8	(3.5)	11	(4.72)	31	(13.3)
Hypertension	529	(75.8)	168	(72.4)	174	(74.7)	187	(80.3)
History of cardiovascular diseases	55	(7.9)	12	(5.2)	18	(7.7)	25	(10.7)
Depressive symptomatology	42	(6.0)	16	(6.9)	14	(6.0)	12	(5.2)
Smoking status								
Nonsmoker	448	(64.2)	162	(69.8)	155	(66.5)	131	(56.2)
Former smoker	219	(31.4)	64	(27.6)	70	(30.0)	85	(36.5)
Current smoker	31	(4.4)	6	(2.6)	8	(3.5)	17	(7.3)

Number of drugs consumed								
<5	422	(60.5)	142	(61.2)	136	(58.4)	144	(61.8)
5-9 (poly-medication)	232	(33.2)	73	(31.5)	86	(36.9)	73	(31.3)
>9 (hyper-poly-medication)	44	(6.3)	17	(7.3)	11	(4.7)	16	(6.9)
Anti-inflammatory drug consumption	110	(15.8)	44	(19.0)	35	(15.0)	31	(13.3)
LDL (mmol/L)	3.6	(0.9)	3.6	(0.8)	3.6	(0.8)	3.7	(0.9)
HDL (mmol/L)	1.6	(0.4)	1.6	(0.4)	1.6	(0.4)	1.6	(0.4)
Triglycerides (mmol/L)	1.2	(0.6)	1.2	(0.5)	1.2	(0.5)	1.3	(0.7)
Mediterranean diet score (/18)	10.7	(2.0)	10.9	(1.9)	10.6	(2.0)	10.5	(2.1)

Values are mean (standard deviation) or number (percentage). Abbreviations: LDL low-density lipoprotein; HDL high density lipoprotein; Diabetes considered as fasting blood glucose ≥ 7 mmol/L or non-fasting glucose ≥ 11 mmol/L or oral diabetes medication; hypertension considered as blood pressure above 140/90 mmHg or taking antihypertensive medication; cardiovascular history included myocardial infarction or cardiac and vascular surgery or arteritis or stroke; Depressive symptomatology considered as Center for Epidemiologic Studies Depression Scale (CES-D)-scores of > 17 for men and > 23 for women.

3.2 Description of *a priori* Mediterranean diet and *a posteriori* dietary patterns

The mean score for adherence to the Mediterranean diet was 10.7 (SD 2.0) out of a total of 18 for the whole study sample, with slightly lower average scores for participants in the upper tertile of 3-OH FAs than for those in the lower tertile (an average difference of -0.4 point) (Table 1).

Information on the average weekly servings of each of the 20 food groups according to the tertiles of Mediterranean diet score is available in **Table 2**.

Table 2. Description of the food consumption in servings per week based of the food frequency questionnaire according to the tertiles of the Mediterranean diet score in the study sample (n= 698).

	Mediterranean diet		
	Low adherence ($\leq 9 / 18$)	Moderate adherence (11-12 / 18)	High adherence ($\geq 12 / 18$)
	n= 187	n= 264	n= 247
Servings per week			
Raw vegetables	7.3 (5.0)	9.9 (5.2)	11.1 (4.8)
Cooked vegetables	8.4 (4.0)	9.9 (4.1)	11.8 (4.0)
Fruits	9.1 (6.6)	13.4 (6.6)	15.6 (5.4)
Legumes	0.5 (0.5)	0.6 (0.7)	0.7 (0.6)
Pizza and sandwich	0.5 (1.0)	0.4 (0.8)	0.4 (0.6)
Potatoes	2.7 (1.9)	2.6 (1.7)	2.9 (1.6)
Pasta	2.0 (1.6)	2.1 (1.6)	2.1 (1.3)
Rice	1.2 (1.2)	1.3 (1.2)	1.4 (1.1)
Eggs	1.2 (1.0)	1.7 (1.2)	1.5 (1.0)
Poultry	1.6 (1.1)	1.8 (1.4)	1.9 (1.1)
Fish and shellfish	1.9 (1.3)	2.9 (1.7)	3.6 (1.6)
Meat	5.8 (3.0)	4.4 (2.4)	4.4 (1.9)
Charcuterie	1.7 (2.3)	1.7 (2.2)	1.4 (1.9)
Alcohol	13.9 (16.2)	10.0 (11.6)	8.6 (8.6)
Coffee	6.0 (5.4)	6.3 (5.4)	5.8 (5.1)
Tea	2.1 (4.2)	3.1 (4.9)	3.1 (4.8)
Dairy products	18.0 (7.6)	15.8 (6.8)	16.3 (7.6)
Bread and cereals	17.1 (6.0)	18.6 (5.0)	19.4 (4.3)
Sweets	8.2 (6.3)	8.5 (6.6)	8.4 (6.6)
Biscuits	2.5 (3.6)	1.7 (2.9)	2.0 (3.2)

Three *a posteriori* DPs derived from PCA were built from the whole dataset, which account for 27.6% of the total variance. **Table 3** presents the factor-loadings matrix of each food group associated with each of the three DP components.

Table 3. Pattern structure and variance explained by the 20 food groups based on the food frequency questionnaire for the first three food patterns in the study sample (n= 698).

Food groups*	Factor loadings		
	“Complex carbohydrates” dietary pattern	“Traditional” dietary pattern	“Prudent” dietary pattern
Raw vegetables	0.231	0.128	0.443
Cooked vegetables	0.190	-0.044	0.661
Fruits	-0.005	-0.203	0.402
Legumes	0.275	0.475	0.008
Pizza and sandwich	0.109	0.074	-0.259
Potatoes	0.427	0.313	0.045
Pasta	0.639	0.132	-0.187
Rice	0.672	-0.011	-0.152
Eggs	0.500	-0.009	0.041
Poultry	0.436	-0.055	0.156
Fish and shellfish	0.396	0.009	0.297
Meat	-0.057	0.543	-0.131
Charcuterie	0.128	0.557	-0.264
Alcohol	-0.075	0.591	-0.162
Coffee	0.041	0.117	0.034
Tea	0.162	-0.402	-0.137
Dairy products	0.184	-0.181	0.034
Bread and cereals	0.285	0.414	0.300
Sweets	0.260	0.056	-0.223
Biscuits	0.211	-0.290	-0.526
Proportion of total variation (%)	10.5	9.2	7.9

*All food groups were considered as servings per week for the principal component analysis. In bold, factor loadings ≥ 0.4 . Total explained variance was 27.6%.

The first component, accounting for 10.5% of the total variance, was characterized by higher consumption of rice, pasta, eggs, poultry and potatoes and was therefore labeled the “complex carbohydrates DP”. The second DP was predominantly characterized by higher intakes of alcohol, charcuterie, meat, legumes, bread and ready-to-eat cereals and a low intake of tea. Accordingly, this component was labeled the “traditional DP” and explained 9.2% of the total variance. By contrast, the “prudent DP” was characterized by high intakes of vegetables and fruits and by a low intake of biscuits. This DP accounted for 7.9% of the total variance.

To translate factor loadings into usual diets, the average number of weekly servings of each of the 20 food groups across tertiles of complex carbohydrates, traditional and prudent DPs for the whole sample have been presented in **Table 4**.

Table 4. Description of the food consumption in servings per week based of the food frequency questionnaire according to the tertiles of the 3 retained dietary patterns derived from principal component analysis in the study sample (n= 698).

* Values are mean (SD). Ter3 (upper tertile) represents a higher adherence to the dietary pattern. In bold, food groups for which factor loadings are $\geq |0.4|$ for each dietary pattern.

	Complex carbohydrates dietary pattern			Traditional dietary pattern			Prudent dietary pattern		
Servings per week *	Ter1	Ter2	Ter3	Ter1	Ter2	Ter3	Ter1	Ter2	Ter3
	n= 232	n= 233	n= 233	n= 232	n= 233	n= 233	n= 232	n= 233	n= 233
Raw vegetables	8.1 (4.9)	10.0 (5.4)	10.9 (5.0)	8.6 (5.3)	10.2 (5.0)	10.2 (5.2)	7.0 (4.4)	9.7 (4.8)	12.2 (5.2)
Cooked vegetables	9.4 (4.0)	10.0 (4.0)	11.1 (4.5)	10.2 (4.3)	10.5 (4.2)	9.8 (4.1)	7.3 (3.5)	9.8 (2.9)	13.4 (3.6)
Fruits	12.9 (7.3)	13.3 (6.8)	13.0 (6.1)	14.6 (7.1)	13.2 (6.2)	11.5 (6.5)	10.2 (6.1)	12.6 (5.9)	16.3 (6.8)
Legumes	0.4 (0.4)	0.6 (0.6)	0.8 (0.7)	0.3 (0.4)	0.6 (0.5)	0.9 (0.8)	0.6 (0.7)	0.6 (0.5)	0.6 (0.6)
Pizza and sandwich	0.3 (0.8)	0.5 (0.8)	0.6 (0.8)	0.4 (0.8)	0.4 (0.8)	0.5 (0.7)	0.6 (1.0)	0.4 (0.8)	0.3 (0.4)
Potatoes	1.9 (1.4)	2.8 (1.6)	3.5 (1.8)	2.1 (1.6)	2.7 (1.7)	3.4 (1.6)	2.7 (1.8)	2.7 (1.7)	2.8 (1.7)
Pasta	1.0 (0.8)	2.1 (1.2)	3.2 (1.4)	1.9 (1.6)	2.0 (1.4)	2.3 (1.4)	2.4 (1.6)	2.1 (1.5)	1.8 (1.2)
Rice	0.6 (0.6)	1.1 (0.8)	2.2 (1.4)	1.3 (1.3)	1.3 (1.0)	1.3 (1.1)	1.5 (1.3)	1.3 (1.2)	1.1 (1.0)
Eggs	1.0 (0.8)	1.4 (0.9)	2.1 (1.3)	1.6 (1.4)	1.4 (0.9)	1.5 (1.0)	1.4 (1.1)	1.5 (1.2)	1.5 (1.0)
Poultry	1.3 (0.9)	1.7 (1.0)	2.5 (1.5)	1.9 (1.4)	1.8 (1.2)	1.7 (1.1)	1.6 (1.1)	1.8 (1.2)	2.1 (1.4)
Fish and shellfish	2.2 (1.4)	3.0 (1.5)	3.5 (1.8)	2.8 (1.8)	2.9 (1.6)	2.9 (1.6)	2.3 (1.3)	2.9 (1.7)	3.5 (1.7)
Meat	4.8 (2.8)	5.0 (2.3)	4.5 (2.3)	3.4 (2.0)	4.6 (1.9)	6.3 (2.6)	5.0 (2.7)	5.0 (2.5)	4.3 (2.3)
Charcuterie	1.3 (1.9)	1.6 (2.3)	1.8 (2.1)	0.6 (1.1)	1.2 (1.4)	2.9 (2.7)	2.3 (2.7)	1.4 (1.8)	1.0 (1.5)
Alcohol	11.4 (13.7)	10.9 (12.4)	9.3 (10.1)	4.4 (5.7)	8.7 (7.8)	18.5 (16.0)	13.2 (15.5)	10.2 (10.2)	8.2 (10.0)
Coffee	5.5 (4.9)	6.4 (5.3)	6.2 (5.6)	5.1 (5.2)	6.3 (5.3)	6.7 (5.2)	6.0 (5.3)	6.0 (5.2)	6.1 (5.4)
Tea	2.0 (3.6)	2.7 (4.7)	3.8 (5.4)	5.2 (6.1)	2.1 (3.5)	1.3 (2.9)	3.1 (5.3)	3.0 (4.5)	2.4 (4.1)
Dairy products	15.4 (7.0)	15.9 (7.3)	18.3 (7.5)	18.3 (7.9)	16.2 (6.7)	15.1 (7.1)	16.7 (7.7)	15.6 (6.6)	17.3 (7.7)
Bread and cereals	16.5 (6.0)	19.1 (4.6)	19.9 (4.1)	15.7 (6.2)	19.4 (4.2)	20.4 (3.3)	16.7 (5.6)	19.0 (4.6)	19.8 (4.7)
Sweets	6.6 (5.7)	8.2 (6.3)	10.3 (7.0)	7.6 (6.4)	8.7 (6.6)	8.8 (6.6)	9.8 (7.1)	8.5 (6.1)	6.8 (5.9)
Biscuits	1.4 (2.7)	1.8 (2.9)	2.8 (3.8)	3.2 (4.0)	1.6 (2.6)	1.2 (2.4)	4.0 (4.2)	1.4 (2.2)	0.7 (1.6)

The average circulating esterified 3-OH FAs level was 266.4 $\mu\text{mol/mL}$ in the whole study sample, with slightly higher levels for participants with the lowest adherence to the Mediterranean diet (lower tertile, 276.7 $\mu\text{mol/mL}$) compared to those with moderate (261.8 $\mu\text{mol/mL}$) or higher (263.7 $\mu\text{mol/mL}$) adherence. Regarding the *a posteriori* DPs, the circulating levels of esterified 3-OH FAs were, on average, slightly lower among participants with a higher adherence to the "prudent" DP (from 283.0 to 255.3 $\mu\text{mol/mL}$ (approximately - 10%), for the lower and upper tertiles respectively) and slightly higher among those with a higher adherence to the "traditional" DP (from 249.9 to 290.8 $\mu\text{mol/mL}$ (approximately + 16%) for the lower and upper tertiles, respectively) (Table 5). In contrast, no obvious average change in circulating esterified 3-OH FAs was reported regarding adherence to the "complex carbohydrates" DP.

Table 5. Average circulating level of esterified 3-hydroxy fatty acids according to tertiles adherence of the dietary patterns in the study sample (n= 698).

		Total (n= 698)	Mediterranean diet			Complex carbohydrates diet			Traditional diet			Prudent diet		
			Low adherence (≤ 9 / 18)	Moderate adherence (11-12 / 18)	High adherence (≥ 12 / 18)	Ter1	Ter2	Ter3	Ter1	Ter2	Ter3	Ter1	Ter2	Ter3
3-OH FAs	266,4	276,7	261,8	263,7	270,6	266,1	262,6	249,9	258,6	290,8	283,0	261,1	255,3	
(μmol/mL)	(100,3)	(110,4)	(92,9)	(99,7)	(118,7)	(87,2)	(92,6)	(83,4)	(91,4)	(118,4)	(114,6)	(85,2)	(97,3)	

Values are mean (SD). Ter3 (upper tertile) represents a higher adherence to the diet. P-for-trend <0.01 for Non-prudent and Prudent diets.
Abbreviation: 3-OH FAs esterified-3-hydroxy fatty acids

3.3 Multivariate associations between dietary patterns and circulating esterified 3-OH FAs

Table 6 presents results from the multivariate linear regression analyses of associations between DPs and circulating esterified 3-OH FAs. Overall, a greater adherence to plant-based diets such as the Mediterranean diet (multivariate-adjusted coefficient β [95% CI]: -0.13 [-0.23; -0.03] for each additional score point) or “prudent” DP (coefficient β [95% CI]: -0.28 [-0.48; -0.07] for each additional score point) was significantly associated with lower circulating 3-OH FAs levels, after adjustment for age, sex and level of education level (Model 1). Adjusted for these later confounders, greater adherence to a “traditional” DP was significantly associated with higher circulating 3-OH FA levels (multivariate-adjusted coefficient β [95% CI]: 0.31 [0. 08; 0.53] for each additional score point) (Table 6, Model 1). Such significant associations persisted after additionally adjusting for lipid profile (HDL, LDL, and triglycerides), cardiovascular risk factors (cardiovascular history, BMI, hypertension, diabetes, smoking status), depressive symptomatology and drug use (Table 6, Model 2). Regardless of which confounders were considered, no significant association was observed between adherence to the “complex carbohydrates” DP and esterified 3-OH FAs levels.

When dietary intakes were considered as individual food groups mutually adjusted (all 20 food groups in a single statistical model), no significant association with esterified 3-OH FAs levels was reported, either in the partly (Model 1) or fully (Model 2) adjusted model. Furthermore, no significant interaction between dietary patterns and diabetes or between dietary patterns and BMI were observed in this study.

Table 6. Multivariate analyses between dietary patterns derived from principal component analysis and Mediterranean diet score and levels of total circulating esterified-3-hydroxy fatty acids, a proxy of plasma lipopolysaccharides burden (n= 698).

	Modèle 1			Modèle 2		
	β *	IC 95%	p-value	β *	IC 95%	p-value
Complex carbohydrates dietary pattern	-0.121	[-0.328 ; 0.085]	0.250	-0.086	[-0.292 ; 0.119]	0.408
Traditional dietary pattern	0.305	[0.078 ; 0.532]	0.009	0.223	[0.006 ; 0.457]	0.044
Prudent dietary pattern	-0.275	[-0.482 ; -0.069]	0.009	-0.271	[-0.476 ; -0.066]	0.010
Mediterranean diet score	-0.130	[-0.233 ; -0.026]	0.014	-0.117	[-0.220 ; -0.014]	0.027

* Regression coefficients for the relation of each additional point of DP score with the square root of esterified-3-OH FAs. Model 1 was adjusted on age, sex and educational level. Model 2 was adjusted for Model 1 covariables + smoking status, body mass index, hypertension, diabetes, depressive symptomatology, HDL, LDL, triglycerides, history of cardiovascular diseases, number of regular drugs intake per week and anti-inflammatory drugs consumption.

4. Discussion

Using a complementary approach to identify dietary patterns among older community-dwellers, we observed that a greater adherence to plant-based diets was associated with lower circulating levels of esterified-3-OH FAs, a proxy of total plasma LPS burden. A trend towards a plant-based diet such as a Mediterranean-like diet, characterized by a high intake of healthy food groups (*e.g.*, vegetables, fruits and fish) and low-to-moderate intake of unhealthy food groups (*e.g.*, alcohol, meat and processed meat and refined sugars), was previously associated with lower endotoxemia (circulating levels of LPS measured by LAL assay) among adults (16,30,31). Research on elderly individuals, who are more likely to present immune system weakness and higher intestinal permeability to LPS, has remained relatively limited. The adoption of a diet low in saturated fats and rich in fiber and carbohydrates over one month was associated with a decrease in fasting endotoxemia by more than a third among 8 healthy volunteers aged 55-66 years (16). Among 912 elderly individuals with nonvalvular atrial fibrillation, greater adherence to a Mediterranean diet was inversely correlated with endotoxemia (circulating levels of LPS measured by LAL assay) (32). This last study reported that the highest consumption of fruits and vegetables, among the other food components of the Mediterranean diet, was specifically associated with lower endotoxemia; a result that seems consistent with those of the present study, where adherence to the “prudent” diet, mainly characterized by a high frequency of consumption of fruits and vegetables, was significantly associated with lower 3-OH FAs levels. Interestingly, greater adherence to *a priori* or *a posteriori* diets rich in fruits and vegetables are often reported to be associated with a lower inflammatory state (33–36). Therefore, our results reinforced these observations by studying a potential trigger of inflammation.

Our findings also suggested a significant association between a greater adherence to a traditional diet and higher level of esterified 3-OH FAs. Accordingly, some evidence suggested that Westernized DPs (*e.g.*, rich in meat, processed meat and refined sugars) are associated with increased endotoxemia (circulating levels of LPS measured by LAL assay) in adults (16,30). Moreover, numerous previous studies reported that Western-like diets and *a posteriori* diets identified by PCA and characterized by high intake of red meat, processed meat and alcohol (beer) were consistently associated with a higher inflammatory state (*e.g.*, higher IL6 and CRP levels) (33–35,37,38). Here, we added that these associations remained relevant among older adults.

As components of DPs and food groups, several constituents within these healthy or “traditional” diets could explain, all at least in part, the results of associations obtained with the levels of 3-OH FAs. Among components that might contribute to elevated metabolic endotoxemia, dietary fats are of growing interest in the current literature. In healthy humans, several studies reported that even a single high-fat meal, especially devoid of healthy food groups, is enough to increase metabolic endotoxemia as evaluated by the biological activity of LPS and proinflammatory cytokine IL-6 (39,40). In a comparative study using three different high-fat meals consisting of 500, 1000 and 1500 kcal (composed of bread, palm fat, salami, and boiled eggs with 60.5% energy from fat, corresponding to 34 to 102 g of fat), Schwander *et al.* observed a positive dose-response relationship between fat calorie meals and increased serum LPS (41), suggesting that the quantity of fats could play a central role in this relationship. The biological plausibility of a link between dietary fat intake and endotoxemia is strong. Among the possible involved mechanisms, previous studies reported a correlation between lipemia and endotoxemia, suggesting that the active absorption of LPS through the intestinal barrier would be facilitated by the incorporation of lipids regions of LPS into the forming chylomicrons during lipid digestion (42,43). Additionally, the theory of a passive transport of LPS is advanced: their

entrance into the bloodstream could be facilitated by the ability of high-fat diets to compromise the integrity and permeability of the intestinal barrier (44–47). The amount of LPS reaching the blood could be further increased by lifelong consumption of obesogenic diets, known to promote the gut microbiota dysbiosis and the proliferation of LPS-containing bacteria in the gut microbiota (13,44), in contrast to plant-based diets, rich in fiber (48,49). Finally, excessive alcohol consumption has also been reported to promote disturbance of the gut microbiota and intestinal hyperpermeability to luminal bacterial products (50).

Additionally, in a randomized crossover study, Lyte *et al.* reported that while endotoxemia (circulating levels of LPS measured by LAL assay) increased by 60% following the consumption of a high-saturated-fat meal, a 50% decrease in endotoxemia was observed following the intake of a meal rich in n-3 polyunsaturated fatty acids (51). These results suggested that not all fats lead to an increase in endotoxemia and that the quality of dietary fats, beyond quantity, could modulate the endotoxemic response. Accordingly, as part of the Mediterranean diet, a higher intake of fish, rich in n-3 polyunsaturated fatty acids, concomitant with a lower intake of saturated fatty acids, might contribute to the observed inverse association with esterified-3-OH FAs. Additionally, higher intake of fiber found in a large quantity in plant-based diets could reduce endotoxin exposure not only via its ability to enhance gut microbiota richness and diversity but also through the production of short-chain fatty acids, which have been found to reduce gut permeability (52). Finally, previous reports suggested that high-saturated-fat diets and refined sugars were associated with increased levels of LPS and dysbiosis of the gut microbiota (13,53). Therefore, a lower intake of these unhealthy food groups as a part of greater adherence to healthy diets identified in the present study could result in a supplemental benefit in lowering metabolic endotoxemia.

When dietary intake was considered in individual food groups, we reported no relevant association between food groups and 3-OH FAs, suggesting that the matrix effect of dietary patterns would bring more properties than a specific food group on metabolic endotoxemia. A previous study found an association between *a posteriori* dietary patterns reflecting healthy food choices (*e.g.*, fish-based diet, healthy snacks and modern diets) and lower circulating levels of LPS, whereas no such association was reported with the usual intake of macronutrient level (31).

According to the existing literature, impaired metabolic diseases could represent a key endogenous factor. One feature is that diabetes and obesity, both closely related to unhealthy diets and low-grade inflammatory state (54,55), are associated with higher intestinal permeability and dysbiosis that could increase the absolute quantity of LPS in the microbiota as well as the translocation across the intestinal barrier, causing LPS to end up in the bloodstream (56). Elevated LPS levels among individuals with type 2 diabetes or obesity have consistently been reported (57–59). Interestingly, some studies reported a more pronounced increase in endotoxemia among diabetics or obese individuals compared with endotoxemia among healthy individuals following the consumption of a similar high-fat meal (60). However, no interaction was reported between diabetes or obesity and DPs adherence in our study.

Our results provide important insights into the association between DPs and a proxy of plasma LPS burden, although limitations should be acknowledged. First, the cross-sectional design of the present study prevented us from drawing a definite conclusion on the temporality of the association between DPs and circulating esterified-3-OH FAs levels. However, we already reported that the dietary habits of elderly individuals remain relatively stable over time, which counterbalanced this limit (61). We considered a wide range of potential cofounders but cannot exclude that some residual cofounders or sources of misclassification, such as the portion size of the food groups, could explain our observations. Moreover, translating the total amount of esterified-3-OH FAs assessed by LC-MS/MS into LPS exposure appears difficult, as there is a wide range of LPS molecules whose biological effects differ according to their structure.

However, the widely used LAL method only measures the active fraction of LPS and may be susceptible to inducing false positive or negative results, especially in case of LPS neutralization by lipoproteins (62,63). Therefore, our choice of the LC-MS/MS quantification method of esterified-3-OH-FAs improved the performance of the LAL technique by reducing the detection and quantification limits. Moreover, while LAL reactivity decreases rapidly following a spike in LPS in the bloodstream, the 3-OH FA concentration remains stable over time and may represent a better proxy of LPS burden in the longer term (22).

Obvious strengths of the study include the target population of older adults who are more vulnerable to inflamm-aging, the sample size and the use of complementary approaches to identify DPs in relation to plasma esterified-3-OH FAs. The *a priori* approach used to assess Mediterranean diet adherence encourages comparison given its nonsample-dependent property to define thresholds of consumption. Moreover, the data-driven DP approach represents an essential complementary method to *a priori* methods considering a wider range of food groups and real-life practices.

Conclusion

Our results provide new insights into healthy dietary patterns, which could be key components in the LPS burden response in the elderly population, and the potential of food combinations should be considered in the endotoxemic response in future studies. Nutrition, and especially a greater adherence to plant-based dietary patterns, may represent a promising strategy to target metabolic endotoxemia as a root cause of inflammation across the lifespan and in individuals with various health conditions.

Reference

1. Savage DC. Microbial ecology of the gastrointestinal tract. *Annu Rev Microbiol.* 1977;31:107–33.
2. Mayeux PR. Pathobiology of lipopolysaccharide. *J Toxicol Environ Health.* 1997;51:415–35.
3. Gutschmann T, Schromm AB, Brandenburg K. The physicochemistry of endotoxins in relation to bioactivity. *Int J Med Microbiol IJMM.* 2007;297:341–52.
4. Larsson L. Determination of microbial chemical markers by gas chromatography-mass spectrometry--potential for diagnosis and studies on metabolism in situ. Review article. *APMIS Acta Pathol Microbiol Immunol Scand.* 1994;102:161–9.
5. van Lier D, Geven C, Leijte GP, Pickkers P. Experimental human endotoxemia as a model of systemic inflammation. *Biochimie.* 2019;159:99–106.
6. Sandiego CM, Gallezot J-D, Pittman B, Nabulsi N, Lim K, Lin S-F, Matuskey D, Lee J-Y, O'Connor KC, Huang Y, et al. Imaging robust microglial activation after lipopolysaccharide administration in humans with PET. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2015;112:12468–73.
7. Brown BI. Nutritional Management of Metabolic Endotoxemia: A Clinical Review. *Altern Ther Health Med.* 2017;23:42–54.
8. Franceschi C, Bonafè M, Valensin S, Olivieri F, De Luca M, Ottaviani E, De Benedictis G. Inflamm-aging: An Evolutionary Perspective on Immunosenescence. *Ann N Y Acad Sci.* 2000;908:244–54.
9. Michaud M, Balardy L, Moulis G, Gaudin C, Peyrot C, Vellas B, Cesari M, Nourhashemi F. Proinflammatory cytokines, aging, and age-related diseases. *J Am Med Dir Assoc.* 2013;14:877–82.
10. Sandhu KV, Sherwin E, Schellekens H, Stanton C, Dinan TG, Cryan JF. Feeding the microbiota-gut-brain axis: diet, microbiome, and neuropsychiatry. *Transl Res J Lab Clin Med.* 2017;179:223–44.
11. Moreira APB, Texeira TFS, Ferreira AB, Peluzio M do CG, Alfenas R de CG. Influence of a high-fat diet on gut microbiota, intestinal permeability and metabolic endotoxaemia. *Br J Nutr.* 2012;108:801–9.
12. Gregor MF, Hotamisligil GS. Inflammatory mechanisms in obesity. *Annu Rev Immunol.* 2011;29:415–45.
13. Netto Candido TL, Bressan J, Alfenas R de CG. Dysbiosis and metabolic endotoxemia induced by high-fat diet. *Nutr Hosp.* 2018;35:1432–40.
14. André P, Laugerette F, Féart C. Metabolic Endotoxemia: A Potential Underlying Mechanism of the Relationship between Dietary Fat Intake and Risk for Cognitive Impairments in Humans? *Nutrients.* 2019;11.

15. Ghanim H, Batra M, Abuaysheh S, Green K, Makdissi A, Kuhadiya ND, Chaudhuri A, Dandona P. Antiinflammatory and ROS Suppressive Effects of the Addition of Fiber to a High-Fat High-Calorie Meal. *J Clin Endocrinol Metab.* 2017;102:858–69.
16. Pendyala S, Walker JM, Holt PR. A high-fat diet is associated with endotoxemia that originates from the gut. *Gastroenterology.* 2012;142:1100-1101.e2.
17. Breusing N, Lagerpusch M, Engstler AJ, Bergheim I, Mueller MJ, Bosy-Westphal A. Influence of Energy Balance and Glycemic Index on Metabolic Endotoxemia in Healthy Men. *J Am Coll Nutr.* 2017;36:72–9.
18. Bailey MA, Holscher HD. Microbiome-Mediated Effects of the Mediterranean Diet on Inflammation. *Adv Nutr.* 2018;9:193–206.
19. Weil D, Pais de Barros J-P, Mourey G, Laheurte C, Cypriani B, Badet N, Delabrousse E, Grandclément E, Di Martino V, Saas P, et al. Circulating levels of 3-hydroxymyristate, a direct quantification of endotoxaemia in noninfected cirrhotic patients. *Liver Int Off J Int Assoc Study Liver.* 2019;39:106–14.
20. 3C Study Group. Vascular factors and risk of dementia: design of the Three-City Study and baseline characteristics of the study population. *Neuroepidemiology.* 2003;22:316–25.
21. Delcourt C, Korobelnik J-F, Barberger-Gateau P, Delyfer M-N, Rougier M-B, Le Goff M, Malet F, Colin J, Dartigues J-F. Nutrition and age-related eye diseases: the Alienor (Antioxydants, Lipides Essentiels, Nutrition et maladies OculaiRes) Study. *J Nutr Health Aging.* 2010;14:854–61.
22. Pais de Barros J-P, Gautier T, Sali W, Adrie C, Choubley H, Charron E, Lalande C, Le Guern N, Deckert V, Monchi M, et al. Quantitative lipopolysaccharide analysis using HPLC/MS/MS and its combination with the limulus amebocyte lysate assay. *J Lipid Res.* 2015;56:1363–9.
23. Samieri C, Jutand M-A, Féart C, Capuron L, Letenneur L, Barberger-Gateau P. Dietary patterns derived by hybrid clustering method in older people: association with cognition, mood, and self-rated health. *J Am Diet Assoc.* 2008;108:1461–71.
24. Kant AK. Indexes of overall diet quality: a review. *J Am Diet Assoc.* 1996;96:785–91.
25. Bountziouka V, Tzavelas G, Polychronopoulos E, Constantinidis TC, Panagiotakos DB. Validity of dietary patterns derived in nutrition surveys using a priori and a posteriori multivariate statistical methods. *Int J Food Sci Nutr [Internet].* Taylor & Francis; 2011 [cited 2020 Apr 9]; Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.3109/09637486.2011.561783>
26. Sofi F, Macchi C, Abbate R, Gensini GF, Casini A. Mediterranean diet and health status: an updated meta-analysis and a proposal for a literature-based adherence score. *Public Health Nutr.* 2014;17:2769–82.
27. Féart C, Samieri C, Allès B, Barberger-Gateau P. Potential benefits of adherence to the Mediterranean diet on cognitive health. *Proc Nutr Soc.* 2013;72:140–52.

28. Fuhrer R, Rouillon F. La version française de l'échelle CES-D (Center for epidemiologic studies-depression scale). Description et traduction de l'échelle d'autoévaluation. *Psychiatr Psychobiol.* 1989;4:163–6.
29. Heiat A, Vaccarino V, Krumholz HM. An evidence-based assessment of federal guidelines for overweight and obesity as they apply to elderly persons. *Arch Intern Med.* 2001;161:1194–203.
30. Ghanim H, Abuaysheh S, Sia CL, Korzeniewski K, Chaudhuri A, Fernandez-Real JM, Dandona P. Increase in plasma endotoxin concentrations and the expression of Toll-like receptors and suppressor of cytokine signaling-3 in mononuclear cells after a high-fat, high-carbohydrate meal: implications for insulin resistance. *Diabetes Care.* 2009;32:2281–7.
31. Ahola AJ, Lassenius MI, Forsblom C, Harjutsalo V, Lehto M, Groop P-H. Dietary patterns reflecting healthy food choices are associated with lower serum LPS activity. *Sci Rep.* 2017;7:6511.
32. Pastori D, Carnevale R, Nocella C, Novo M, Santulli M, Cammisotto V, Menichelli D, Pignatelli P, Violi F. Gut-Derived Serum Lipopolysaccharide is Associated With Enhanced Risk of Major Adverse Cardiovascular Events in Atrial Fibrillation: Effect of Adherence to Mediterranean Diet. *J Am Heart Assoc.* 2017;6.
33. Barbaresco J, Koch M, Schulze MB, Nöthlings U. Dietary pattern analysis and biomarkers of low-grade inflammation: a systematic literature review. *Nutr Rev.* 2013;71:511–27.
34. Centritto F, Iacoviello L, di Giuseppe R, De Curtis A, Costanzo S, Zito F, Grioni S, Sieri S, Donati MB, de Gaetano G, et al. Dietary patterns, cardiovascular risk factors and C-reactive protein in a healthy Italian population. *Nutr Metab Cardiovasc Dis NMCD.* 2009;19:697–706.
35. Lopez-Garcia E, Schulze MB, Fung TT, Meigs JB, Rifai N, Manson JE, Hu FB. Major dietary patterns are related to plasma concentrations of markers of inflammation and endothelial dysfunction. *Am J Clin Nutr.* 2004;80:1029–35.
36. Nanri H, Nakamura K, Hara M, Higaki Y, Imaizumi T, Taguchi N, Sakamoto T, Horita M, Shinchi K, Tanaka K. Association between dietary pattern and serum C-reactive protein in Japanese men and women. *J Epidemiol.* 2011;21:122–31.
37. Nettleton JA, Steffen LM, Mayer-Davis EJ, Jenny NS, Jiang R, Herrington DM, Jacobs DR. Dietary patterns are associated with biochemical markers of inflammation and endothelial activation in the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). *Am J Clin Nutr.* 2006;83:1369–79.
38. Meyer J, Döring A, Herder C, Roden M, Koenig W, Thorand B. Dietary patterns, subclinical inflammation, incident coronary heart disease and mortality in middle-aged men from the MONICA/KORA Augsburg cohort study. *Eur J Clin Nutr.* 2011;65:800–7.
39. Erridge C, Attina T, Spickett CM, Webb DJ. A high-fat meal induces low-grade endotoxemia: evidence of a novel mechanism of postprandial inflammation. *Am J Clin Nutr.* 2007;86:1286–92.

40. Laugerette F, Vors C, G  lo  n A, Chauvin M-A, Soulage C, Lambert-Porcheron S, Peretti N, Alligier M, Burcelin R, Laville M, et al. Emulsified lipids increase endotoxemia: possible role in early postprandial low-grade inflammation. *J Nutr Biochem*. 2011;22:53–9.
41. Schwander F, Kopf-Bolanz KA, Buri C, Portmann R, Egger L, Chollet M, McTernan PG, Piya MK, Gijs MAM, Vionnet N, et al. A dose-response strategy reveals differences between normal-weight and obese men in their metabolic and inflammatory responses to a high-fat meal. *J Nutr*. 2014;144:1517–23.
42. Ghoshal S, Witta J, Zhong J, de Villiers W, Eckhardt E. Chylomicrons promote intestinal absorption of lipopolysaccharides. *J Lipid Res*. 2009;50:90–7.
43. Vors C, Pineau G, Dra   J, Meugnier E, Pesenti S, Laville M, Laugerette F, Malpuech-Brug  re C, Vidal H, Michalski M-C. Postprandial Endotoxemia Linked With Chylomicrons and Lipopolysaccharides Handling in Obese Versus Lean Men: A Lipid Dose-Effect Trial. *J Clin Endocrinol Metab*. 2015;100:3427–35.
44. Cani PD, Bibiloni R, Knauf C, Waget A, Neyrinck AM, Delzenne NM, Burcelin R. Changes in Gut Microbiota Control Metabolic Endotoxemia-Induced Inflammation in High-Fat Diet-Induced Obesity and Diabetes in Mice. *Diabetes*. 2008;57:1470–81.
45. Lam YY, Ha CWY, Campbell CR, Mitchell AJ, Dinudom A, Oscarsson J, Cook DI, Hunt NH, Caterson ID, Holmes AJ, et al. Increased gut permeability and microbiota change associate with mesenteric fat inflammation and metabolic dysfunction in diet-induced obese mice. *PloS One*. 2012;7:e34233.
46. Persson J, Berg NO, Sj  lund K, Stenling R, Magnusson PH. Morphologic changes in the small intestine after chronic alcohol consumption. *Scand J Gastroenterol*. 1990;25:173–84.
47. Millan MS, Morris GP, Beck IT, Henson JT. Villous damage induced by suction biopsy and by acute ethanol intake in normal human small intestine. *Dig Dis Sci*. 1980;25:513–25.
48. Tomasello G, Mazzola M, Leone A, Sinagra E, Zummo G, Farina F, Damiani P, Cappello F, Gerges Geagea A, Jurjus A, et al. Nutrition, oxidative stress and intestinal dysbiosis: Influence of diet on gut microbiota in inflammatory bowel diseases. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czechoslov*. 2016;160:461–6.
49. De Filippis F, Pellegrini N, Vannini L, Jeffery IB, La Stora A, Laghi L, Serrazanetti DI, Di Cagno R, Ferrocino I, Lazzi C, et al. High-level adherence to a Mediterranean diet beneficially impacts the gut microbiota and associated metabolome. *Gut*. 2016;65:1812–21.
50. Engen PA, Green SJ, Voigt RM, Forsyth CB, Keshavarzian A. The Gastrointestinal Microbiome: Alcohol Effects on the Composition of Intestinal Microbiota. *Alcohol Res Curr Rev*. 2015;37:223–36.
51. Lyte JM, Gabler NK, Hollis JH. Postprandial serum endotoxin in healthy humans is modulated by dietary fat in a randomized, controlled, cross-over study. *Lipids Health Dis*. 2016;15:186.

52. Peng L, Li Z-R, Green RS, Holzman IR, Lin J. Butyrate Enhances the Intestinal Barrier by Facilitating Tight Junction Assembly via Activation of AMP-Activated Protein Kinase in Caco-2 Cell Monolayers. *J Nutr.* 2009;139:1619–25.
53. Spreadbury I. Comparison with ancestral diets suggests dense acellular carbohydrates promote an inflammatory microbiota, and may be the primary dietary cause of leptin resistance and obesity. *Diabetes Metab Syndr Obes Targets Ther.* 2012;5:175–89.
54. Lontchi-Yimagou E, Sobngwi E, Matsha TE, Kengne AP. Diabetes mellitus and inflammation. *Curr Diab Rep.* 2013;13:435–44.
55. Cox AJ, West NP, Cripps AW. Obesity, inflammation, and the gut microbiota. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2015;3:207–15.
56. Slyepchenko A, Maes M, Machado-Vieira R, Anderson G, Solmi M, Sanz Y, Berk M, Köhler CA, Carvalho AF. Intestinal Dysbiosis, Gut Hyperpermeability and Bacterial Translocation: Missing Links Between Depression, Obesity and Type 2 Diabetes. *Curr Pharm Des.* 2016;22:6087–106.
57. Hawkesworth S, Moore SE, Fulford AJC, Barclay GR, Darboe AA, Mark H, Nyan OA, Prentice AM. Evidence for metabolic endotoxemia in obese and diabetic Gambian women. *Nutr Diabetes.* 2013;3:e83.
58. Creely SJ, McTernan PG, Kusminski CM, Fisher ff M, Da Silva NF, Khanolkar M, Evans M, Harte AL, Kumar S. Lipopolysaccharide activates an innate immune system response in human adipose tissue in obesity and type 2 diabetes. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2007;292:E740-747.
59. Monte SV, Caruana JA, Ghanim H, Sia CL, Korzeniewski K, Schentag JJ, Dandona P. Reduction in endotoxemia, oxidative and inflammatory stress, and insulin resistance after Roux-en-Y gastric bypass surgery in patients with morbid obesity and type 2 diabetes mellitus. *Surgery.* 2012;151:587–93.
60. Harte AL, Varma MC, Tripathi G, McGee KC, Al-Daghri NM, Al-Attas OS, Sabico S, O'Hare JP, Ceriello A, Saravanan P, et al. High fat intake leads to acute postprandial exposure to circulating endotoxin in type 2 diabetic subjects. *Diabetes Care.* 2012;35:375–82.
61. Pelletier A, Barul C, Féart C, Helmer C, Bernard C, Periot O, Dilharreguy B, Dartigues J-F, Allard M, Barberger-Gateau P, et al. Mediterranean diet and preserved brain structural connectivity in older subjects. *Alzheimers Dement J Alzheimers Assoc.* 2015;11:1023–31.
62. Ding JL, Ho B. Endotoxin detection--from limulus amebocyte lysate to recombinant factor C. *Subcell Biochem.* 2010;53:187–208.
63. Hurley JC. Endotoxemia: methods of detection and clinical correlates. *Clin Microbiol Rev.* 1995;8:268–92.

Acknowledgement:

The Three-City Study is conducted under a partnership agreement between the Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (INSERM), Victor Segalen – Bordeaux2 University and the Sanofi-Synthélabo company. The Fondation pour la Recherche Médicale funded the preparation and beginning of the study. The 3C-Study is also sponsored by the Caisse Nationale Maladie des Travailleurs Salariés, Direction Générale de la Santé, Conseils Régionaux of Aquitaine and Bourgogne, Fondation de France, Ministry of Research-INSERM Program Cohortes et collections de données biologiques, the Fondation Plan Alzheimer (FCS 2009-2012), the Caisse Nationale pour la Solidarité et l'Autonomie (CNSA) and the “Programme Longévité et vieillissement”, COGICARE 07-LVIE 003 01. We are indebted to Loïc Mazzéo, from the Plateforme de Lipidomique (Univ. Bourgogne-Franche Comté), for his LC-MS/MS technical assistance. This work has been supported by the FRAILOMIC Initiative (FP7-HEALTH-2012-Proposal No. 305483-2) and the ITMO Santé Publique - Alliance nationale pour les sciences de la vie et de la santé (AVIESAN) (ISP05 2014).

Declarations of interest:

None. The authors declare that they have no conflicts of interests in relation to the presented work.

Author's contributions:

CF, CH, CS, CD, BM and PA contributed to study concept and design. JP PdB performed biological analyses. PA performed statistical analysis and interpretation of data. PA prepared the manuscript. All authors critically reviewed and approved the manuscript for important intellectual content.

ANNEXE 7

Annexe 7 Lipopolysaccharide-Binding Protein, soluble CD14 and the long-term risk of Alzheimer's disease: a nested case-control pilot study of older community dwellers from the 3-City cohort

Article proposé dans sa version non mise en forme, afin de respecter les conditions du *Journal of Alzheimer's Disease* dans lequel l'article est publié.

Authors:

Perrine André^{1*} MPH, Cécilia Samieri¹ PhD, Charline Buisson², Jean-François Dartigues¹ MD PhD, Catherine Helmer³ MD PhD, Fabienne Laugerette² PhD, Catherine Féart¹ PhD

Affiliations:

¹ Univ. Bordeaux, Inserm, Bordeaux Population Health Research Center, team Lifelong Exposure Health and Aging, U1219, F-33000 Bordeaux, France

² Univ-Lyon, CarMeN laboratory, INRA U1397, Inserm U1060, Université Claude Bernard Lyon 1, INSA Lyon, Charles Mérieux Medical School, FR-69600 Oullins, France

³ INSERM, Clinical Investigation Center – Clinical Epidemiology 1401, F-33000 Bordeaux, France

Corresponding author: Perrine André

Address: Team "Lifelong Exposures, Health and Aging"

INSERM U1219 - Bordeaux Population Health Research Center, Bordeaux University,

ISPED 146 rue Léo-Saignat, Bordeaux Cedex–France

E-mail: perrine.andre@u-bordeaux.fr

Phone: + (33) 05 57 57 12 99

Declarations of interest:

None. The authors declare that they have no conflicts of interests.

Funding:

The Three-City Study is conducted under a partnership agreement between the Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (INSERM), Victor Segalen – Bordeaux2 University and the Sanofi-Synthélabo company. The Fondation pour la Recherche Médicale funded the preparation and beginning of the study. The 3C-Study is also sponsored by the Caisse Nationale Maladie des Travailleurs Salariés, Direction Générale de la Santé, Conseils Régionaux of Aquitaine and Bourgogne, Fondation de France, Ministry of Research-INSERM Program Cohortes et collections de données biologiques, the Fondation Plan Alzheimer (FCS 2009-2012), and the Caisse Nationale pour la Solidarité et l'Autonomie (CNSA). This specific project was supported by ITMO Santé Publique - Alliance nationale pour les sciences de la vie et de la santé (AVIESAN) (ISP05_2014).

ABSTRACT

Background. Identifying the mechanisms involved in the pathogenesis of Alzheimer's disease (AD) remains crucially important. Chronic age-related low-grade inflammation is considered to be one such mechanism, although its causes are unclear. Lipopolysaccharide (LPS)-type endotoxins, a major component of the outer membrane of Gram-negative bacteria, are known as potent pro-inflammatory molecules. Therefore, we hypothesized that greater exposure to circulating LPS, potentially mediated by the inflammatory pathway, would be a key step of the onset of AD.

Objective. The aim of this study was to investigate the link between plasma endotoxin-exposure, inflammation and AD.

Methods. Applying a nested case-control design, we evaluated the associations among baseline plasma endotoxin-exposure (assessed by measuring LPS-Binding Protein (LBP) and soluble Cluster of Differentiation-14 (sCD14) levels), inflammation (assessed by measuring Interleukin-6 (IL6) levels), and the odds of developing AD over 12 years. Selected from a population-based cohort, 212 incident cases of AD were matched with 424 controls without dementia with regard to age, gender and education level.

Results. After adjusting for a large set of confounders, including the use of anti-inflammatory drugs, only higher LBP levels were significantly associated with a 30% higher odds ratio of developing AD over 12 years (OR 1.30, 95%CI [1.07 - 1.59]), regardless of IL6 levels.

Conclusion. This large case-control study provides preliminary results concerning plasma endotoxin-exposure among the elderly and suggests that higher LBP levels, an acute-phase reactant involved in the pro-inflammatory response to LPS, are associated with a higher odds of developing AD.

Key words: (1) Alzheimer's disease, (2) LPS, (3) Endotoxins, (4) Inflammation, (5) Lipopolysaccharide-Binding Protein, (6) LBP, (7) sCD14, (8) Interleukin-6, (9) Dementia.

BACKGROUND

Chronic systemic exposures to bacterial infections might play a role in the etiology of the chronic low-grade inflammation, involved in the pathogenesis of Alzheimer's disease (AD) [1–4]. Endotoxins (Lipopolysaccharides, LPS), which are a major component of the outer membrane of Gram-negative bacteria [5,6], trigger a potent inflammatory response by the host immune system.

Home to a complex consortium of approximately 100 trillion (10^{14}) microorganisms, the gut microbiota is considered as the main reservoir of pro-inflammatory LPS. LPS are released from the bacteria membrane when bacteria are lysed. Although the gastro-intestinal barrier acts at the interface between the host and the environment to avoid LPS translocation into the bloodstream, some endogenous or exogenous factors might alter this protective function [7–9]. For instance, the immune system is weakened with aging, offering the possibility for microbiota bacteria to act as opportunistic pathogens [7]. Moreover, diseases such as diabetes or obesity, as well as the intake of antibiotics or unhealthy dietary habits have been associated with gut microbiota dysbiosis, which might contribute to elevate the amount of LPS in the gut and promote LPS translocation (especially during lipid digestion) [8–14]. Gut dysbiosis has also been suggested as playing a role AD [3,15], and might affect the total amount of circulating LPS. LPS might also originate from the skin, mucous membranes or local sites of infection such as periodontal infection, chronic bacterial gingivitis, which are both suggested to be associated with AD [16–18].

The toxic nature of plasma endotoxemia, which is defined as the presence of LPS in the bloodstream, results from the binding and transport of LPS to co-receptor effector cells to activate potent pro-inflammatory signaling pathways. Briefly, LPS are supported in the plasma by the LPS-Binding Protein (LBP) and transported to the co-receptor Cluster-of-Differentiation 14 (CD14), which is present either in a membrane-anchored form (mCD14) or in a soluble circulating form (sCD14). Thus, LPS could contribute to amyloidogenesis, oxidative stress burden and age-related inflammatory processes via the activation of the nuclear factor-kappa B (NF- κ B) pathway and the overproduction of pro-inflammatory cytokines such as Interleukin-6 (IL6) or Tumor Necrosis factor α (TNF α) [19–23]. Inflammatory processes are likely involved in the pathogenesis of AD as a triggering factor [24–27], inducing irreversible tissue sequelae such as neurofibrillary degeneration, neuronal death and impaired cognitive function [25,26,28]. However, the vast majority of studies examining the association between endotoxemia and cognitive performances are limited to animal studies. In fact, systemic LPS administration is a widely accepted model for inducing neuroinflammation and neurodegeneration in animals [29,30], as well as the hallmark disorders of AD [28,31–33]. However, the extrapolation of results obtained from animal models to humans is likely inappropriate and largely unexplored [34]. In a cross-sectional study of humans, Zhang *et al.* observed LPS circulating levels 3 times higher in patients with AD (n= 18) than in healthy participants (n= 18) [1]. Another cross-sectional study reported an average level of LPS that was two to three times higher in the neocortex and hippocampus of patients with AD compared with age-matched controls, and up to 26 times higher in patients with severe forms of AD [4]. In particular, LPS seems to colocalize with A $\beta_{1-40/42}$ in amyloid plaques and with A $\beta_{1-40/42}$ in AD brains [2]. When injected, a low-dose of LPS (0.2 ng/kg) in healthy young volunteers is

significantly associated with the circulating increase of inflammatory markers (IL6 and TNF α), inversely correlated with declarative memory performance after 24 h [35], whereas larger dose of endotoxin (~1 mg) into adult human reproduces all the manifestations of septic shock syndrome, followed by multi-organ dysfunction within 2h (hepatic and renal function abnormalities, hypotension and non-cardiogenic pulmonary edema, for example) [36]. Circulating LBP was also recently found negatively associated with white matter integrity and cognitive performance among 44 obese or healthy participants [37]. Based on the existing literature, we hypothesized that higher exposure to circulating LPS might be associated with the pathogenesis of AD, and potentially mediated by the inflammatory pathway. To the best of our knowledge, no study to date has investigated the long-term effects of plasma endotoxemia in the elderly, especially in the pathological context of AD. In the present nested case-control study, we evaluated the associations between baseline plasma LBP and sCD14 levels, which have been both suggested as clinically relevant markers of LPS-related exposure [38–40], baseline plasma IL6 as a marker of inflammation, and the odds of developing AD among elderly community dwellers who were followed up for 12 years.

METHODS

Study population

The Three-City (3C) study is a French population-based prospective cohort initiated in 1999 to study the vascular risk factors of dementia. It includes 9294 community dwellers aged 65 and over from three French cities: Bordeaux (n=2104), Dijon (n=4931) and Montpellier (n=2259). The protocol was approved by the Consultative Committee for the Protection of Persons participating in Biomedical Research at Kremlin-Bicêtre University Hospital (Paris, France). All participants provided written informed consent. The protocol of the 3C study and the participants' baseline characteristics were described previously [41]. The baseline data collected during face-to-face interviews included sociodemographic and lifestyle factors, health and anthropometric-related characteristics, neuropsychological testing and blood sampling. Follow-up examinations were conducted at regular intervals 2, 4, 7, 10 and 12 years after baseline along with an active diagnosis of dementia. The present study took place at the Bordeaux center, where an ancillary study of plasma endotoxemia and AD was initiated in 2015.

Diagnosis of dementia

The diagnosis of dementia was based on a three-step procedure based on the criteria from the Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (Fourth Edition) [42]. We choose to keep this scale over time, although updated, to avoid a misclassification bias due to the differences in diagnosis criteria. The first step involved a battery of neuropsychological tests conducted by a trained psychologist that including the Mini Mental State Examination (MMSE), the Isaacs Set Test (IST), the Benton Visual Retention Test (BVRT), the Trail Making Test A&B (TMT A&B) and the Free and Cued Selective Reminding Test (FCRST) (for detailed see [41]). For cases of suspected dementia, the second step was initiated by a neurologist who performed a clinical exam to establish a diagnosis. The final step included a review of all potential cases of dementia by an independent committee of neurologists to validate the diagnosis and etiology of dementia based on the guidelines of the National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke and the Alzheimer's Disease and Related Disorders Association (NINCDS-ADRDA).

Study sample

This study used a nested case-control design using the 3C-Bordeaux cohort, which had participants who were followed for 12 years. All incident cases classified as probable or possible AD or mixed dementia according to the NINCDS-ADRDA criteria as well as those who had an available plasma blood sample at baseline were selected and matched with controls at a 1:2 ratio. For each case, a control pool was selected among living participants who were free from dementia at the same age when the cases were diagnosed. Therefore, 212 incident cases were successfully matched with 424 controls based on age at baseline $\pm$ 1.5 years, gender and education level (considered as low vs high, *i.e.*, less than 10 years of school and greater than 10 years of school respectively), which resulted in a study sample of 636 participants.

Assessment of LBP, sCD14 and IL6 levels

Blood samples were obtained at baseline after fasting overnight and stored at -80°C until they were analyzed. LPS exposure is difficult to assay and requires specific sampling conditions. Therefore, we chose to assess LBP levels in this exploratory study. This protein plays a critical role in the pro-inflammatory response to LPS [43,44], and is a better long-term marker of endotoxin-related exposure than LPS themselves [45]. Thus, LBP measurements are likely to be more reliable for assessing the transient kinetics of endotoxin translocation [45], although they do not really reflect the activity of LPS. Both LBP and sCD14 have been proposed as clinically relevant markers of LPS-related exposure [38–40].

Sandwich ELISA kits (Hycult Biotechnology, Uden, Netherlands) were used to determine the circulating levels of LBP and sCD14. Serum IL6 levels were measured using ELISA kits (Quantikine®, Abingdon, UK). Intra- and inter-assay CVs were respectively 2.2% and 4.1% for LBP, 5.5% and 6.3% for CD14 and 7.2% and 8.3% for IL6. Samples were randomized by diagnosis across plates to minimize the variation effects during biological analyses. Duplicate samples were measured, and the mean value was used in the subsequent statistical analyses.

Covariates

Sociodemographic and lifestyle characteristics were collected, including age, gender and education level, at study inclusion. These data were complemented by the Apolipoprotein E4 (ApoE4) genotype, which was defined as the presence of at least one E4 allele versus no E4 allele. Mini Mental State Examination (MMSE) test scores were used to determine global cognitive performance at baseline (this score ranges from 0 to 30, with higher scores indicating better performance) [46]. Multi-comorbidity was defined using a continuous score (representing the number of comorbidities among the following: all-cause cancer, hypertension (blood pressure above 140/90 mmHg or taking antihypertensive medication), hypercholesterolemia (cholesterol ≥ 6.2 mmol/L or taking anti-cholesterol medication), cardiovascular history (including myocardial infarction or cardiac and vascular surgery or arteritis or stroke), diabetes (including reported diabetes or fasting blood glucose ≥ 7 mmol/L or non-fasting glucose ≥ 11 mmol/L or oral diabetes medication), depressive symptomatology (defined as Center for Epidemiologic Studies Depression Scale (CES-D)-scores of > 17 for men and > 23 for women, based on a threshold validated using a French sample [47]) and asthma. The presence of 4 or more comorbidities was grouped into one category due to the low number of participants with more than 4 comorbidities. Body Mass Index (BMI) (considered in 3 categories: < 21 kg/m² for underweight, 21–27 kg/m² for normal weight and > 27 kg/m² for overweight, *i.e.*, cutoffs adapted to the elderly [48]), total drug consumption (classified as low consumption, poly-medication or hyper-poly-medication for the regular consumption, *i.e.*, taken several times a week, of < 5 , 5–9 or > 9 regular drugs, respectively) and specific anti-inflammatory drug consumption (nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) and/or corticosteroids) were also collected.

Statistical analyses

Quantitative and qualitative variables were expressed as medians $\pm$ interquartile ranges (IQRs) or frequencies (percentages) and compared using Student's t-test for paired data (Wilcoxon test for non-Gaussian variables) or McNemar's Chi² test based on the AD status, respectively. Conditional logistic regressions were used to evaluate the multivariate associations between + 1 standard deviation (SD) of LBP, sCD14 or IL6, which were also considered individually, and the incidence of AD over 12 years. The model was first adjusted for the ApoE4 genotype, BMI and the number of comorbidities (Model 1). The model was further adjusted for the number of drugs used regularly per week and the specific consumption of NSAIDs and corticoids (Model 2). A final model (Model 3) included the covariates from Model 2 and all three exposures simultaneously (*i.e.*, LBP, sCD14 and IL6). Sensitive analyses were performed with LBP, sCD14 or IL6, separately, which were considered as tertiles. The statistical significance was set at $P < 0.05$.

Missing data represented less than 4% of the study sample, we thus assigned the reference category for qualitative variables or the median for quantitative. Statistical analyses were performed using SAS version 9.4 (SAS Institute Inc., Cary, 134 NC, USA).

RESULTS

Sample characteristics

Participants were 76.4 years old on average (range: 66.3 - 87.0) at baseline, and 72% were women. Almost 44% had a low education level. The follow-up duration was 8.6 years (range: 0.76 – 13.2) and the average age at AD diagnosis was 82.4 years. The average MMSE scores were 26.6 and 27.4 out of 30 for incident cases and controls, respectively. Overall, AD cases did not significantly differ from controls with regard to clinical data (BMI category, number of multi-comorbidities and the presence of diabetes, hypertension, depressive symptomatology and history of cardiovascular diseases) (**Table 1**). However, AD cases consumed more drugs than those who did not have dementia. The genotype ApoE4 was present in 28.4% of all AD cases and in 14.4% of their counterparts. The consumption of specific anti-inflammatory drugs at baseline was higher among AD cases than controls, but this difference was not significant.

Table 1. Baseline characteristics of the participants based on the Alzheimer's disease status over 12 years, nested case-control in the 3C Bordeaux cohort (n=636).

Baseline characteristics	Incident AD cases (n=212)	Controls (n=424)	p-value
ApoE4 genotype	60 (28.4)	61 (14.4)	0.001
BMI (kg/m ²)			0.092
Underweight (< 21kg/m ²)	20 (9.6)	27 (6.4)	
Normal weight (21-27 kg/m ²)	119 (57.2)	228 (54.2)	
Overweight (> 27kg/m ²)	69 (33.2)	166 (39.4)	
Multi-comorbidity			0.762
0	24 (11.3)	51 (12.0)	
1	88 (41.5)	193 (45.5)	
2	67 (31.6)	124 (29.3)	
3	23 (10.9)	48 (11.3)	
≥ 4	10 (4.7)	8 (1.9)	
Diabetes	31 (15.0)	41 (9.8)	0.199
History of cardiovascular diseases	23 (10.9)	36 (8.5)	0.237
Hypertension	165 (77.8)	334 (78.8)	0.708
Depressive symptomatology	25 (11.9)	32 (7.6)	0.250
Drug consumption			0.017
< 5	85 (40.1)	216 (51.0)	
5-9 (poly-medication)	95 (44.8)	177 (41.7)	
> 9 (hyper-poly-medication)	32 (15.1)	31 (7.3)	
Anti-inflammatory drug consumption	43 (20.3)	66 (15.7)	0.553

Values are median ± IQR or number (%). Abbreviations: ApoE4 Apolipoprotein E4, BMI Body Mass Index.

Regarding the circulating median rates of plasma endotoxemia markers, LBP levels were significantly higher among AD cases than controls, whereas sCD14 levels were not (**Table 2**). IL6 levels were slightly higher among AD cases than controls, but this difference was not significant.

Table 2. Baseline levels of Lipopolysaccharide Binding Protein (LBP), soluble cluster of differentiation-14 (sCD14) and Interleukin-6 (IL6) based on the Alzheimer's disease status over 12 years, nested case-control in the 3C Bordeaux cohort (n=636).

	Incident AD cases (n=212)	Controls (n=424)	p-value
LBP (µg/mL)	35.0 ± 20.3	30.2 ± 20.6	<.0001
sCD14 (µg/mL)	3.2 ± 1.6	3.0 ± 1.8	0.072
IL6 (pg/mL)	3.8 ± 5.5	3.2 ± 5.6	0.179

Values are median ± IQR. Abbreviations: LBP Lipopolysaccharide Binding Protein, sCD14 soluble Cluster of Differentiation 14, IL6 Interleukin 6.

Multivariate associations between LBP, sCD14, or IL6 and the odds of developing Alzheimer's disease

In Model 1, one additional SD of LBP was significantly associated with a 33% higher odds of developing AD over 12 years (OR 1.33, 95%CI [1.10 - 1.60]) (**Table 3**). This result was virtually unchanged after an additional adjustment was made for drug consumption (total and specific in anti-inflammatory drugs) in Model 2 (OR 1.29, 95%CI [1.07 - 1.57]). Finally, the simultaneous adjustment for IL6 and sCD14 in Model 3 did not affect the association between LBP levels at baseline and a higher odds of AD (OR 1.30, 95%CI [1.07 - 1.59]).

We did not find an association between baseline sCD14 levels and the odds of AD, as well as between IL6 levels and the odds of AD over 12 years in either partial or fully adjusted models. Again, when LBP, sCD14 and IL6 levels were considered in the model simultaneously, no significant association was observed between baseline sCD14 levels and the odds of AD (OR 0.98, 95%CI [0.81 - 1.17]) or between IL6 levels and the odds of AD (OR 1.09, 95%CI [0.93 - 1.29]).

Table 3. Multivariate associations between Lipopolysaccharide Binding Protein (LBP), soluble cluster of differentiation-14 (sCD14), Interleukin-6 (IL6) and the odds of developing Alzheimer's disease over 12 years, nested case-control in the 3C Bordeaux cohort (n=636).

	Odds of Alzheimer's disease (OR [95% CIs]) *					
	Model 1		Model 2		Model 3	
	OR [95% CIs]	p-value	OR [95% CIs]	p-value	OR [95% CIs]	p-value
LBP (µg/mL)	1.33 [1.10 - 1.60]	0.004	1.29 [1.07 - 1.57]	0.009	1.30 [1.07 - 1.59]	0.010
sCD14 (µg/mL)	1.09 [0.92 - 1.28]	0.316	1.06 [0.89 - 1.25]	0.537	0.98 [0.81 - 1.17]	0.787
IL6 (pg/mL)	1.09 [0.92 - 1.29]	0.305	1.10 [0.93 - 1.31]	0.283	1.09 [0.93 - 1.29]	0.279

* For each one additional standard deviation of the exposure variable. Models 1 and 2 are separated models for each marker. Model 1: adjusted for ApoE4, BMI and score of multi-comorbidity. Model 2: covariates from Model 1 plus number of regular drugs consumed per week and intake of non-steroidal anti-inflammatory or corticoids drugs. Model 3: covariates from Model 2 plus simultaneous adjustment for other exposure variables (LBP, sCD14 and IL6 considered simultaneously). Abbreviations: ApoE4 Apolipoprotein E4, BMI Body Mass Index, LBP Lipopolysaccharide Binding Protein, sCD14 soluble Cluster of Differentiation 14, IL6 Interleukin 6, SD standard deviation.

Sensitive analyses

When considered as tertiles, the highest tertile of LBP was significantly associated with an increased odds of AD compared with the lowest tertile (OR 1.83, 95%CIs [1.16 - 2.91]) in Model 2 (**Table 4**). An additional adjustment for sCD14 and IL6 levels (Model 3) did not change the overall significant association between LBP tertiles and the odds of AD. When sCD14 and IL6 were considered as tertiles of exposure, we did not find any significant association with regard to the odds of AD, regardless of the model being considered (**Supplementary Table 1**).

Table 4. Multivariate association between Lipopolysaccharide Binding Protein (LBP) levels considered as tertiles and the odds of developing Alzheimer's disease over 12 years, nested case-control in the 3C Bordeaux cohort (n=636).

Odds of Alzheimer's disease (OR [95% CIs])							
LBP (µg/mL)	Model 1		Model 2		Model 3		
	OR [95% CIs]	p-value	OR [95% CIs]	p-value	OR [95% CIs]	p-value	
Tertile 1 (< 24.97)	1.00 [Reference]	0.013 *	1.00 [Reference]	0.034 *	1.00 [Reference]	0.038 *	
Tertile 2 (24.97 - 39.03)	1.56 [1.00 - 2.44]	0.048	1.50 [0.96 - 2.34]	0.075	1.52 [0.97 - 2.37]	0.069	
Tertile 3 (> 39.03)	1.97 [1.25 - 3.09]	0.003	1.83 [1.16 - 2.91]	0.010	1.87 [1.15 - 3.05]	0.012	

* Overall p-value. Models 1 and 2 are separated models for each marker. Models 1 and 2 are separated models for each marker. Model 1: adjusted for ApoE4, BMI and score of multi-comorbidity. Model 2: covariates from Model 1 plus number of regular drugs consumed per week and intake of non-steroidal anti-inflammatory or corticoids drugs. Model 3: covariates from Model 2 plus simultaneous adjustment for other exposure variables (LBP, sCD14 and IL6 considered simultaneously). Abbreviations: ApoE4 Apolipoprotein E4, BMI Body Mass Index, LBP Lipopolysaccharide Binding Protein, sCD14 soluble Cluster of Differentiation 14, IL6 Interleukin 6.

DISCUSSION

To the best of our knowledge, this nested case-control study is the first to investigate the relationship between plasma-endotoxin exposure and the odds of AD incidence among elderly community dwellers over 12 years. Our results suggest that higher baseline levels of LBP, considered as a relevant long-term marker of plasma endotoxin-exposure, were significantly associated with a 30% higher odds of developing AD after controlling for a large set of potential clinical and lifestyle confounders.

A comparison of the present results with those in the existing literature is difficult; no author has yet evaluated the same association as us. The most similar result comes from the cross-sectional study of Zhang *et al.*, who observed LPS levels 3 times higher among participants with AD compared with controls [1]. However, this result was limited by the small number of participants and the selection of cases from a memory clinic, which led to the recruitment of severely affected participants. The conditions required to specifically assess LPS levels were not anticipated at the time blood samples were collected for the 3C study, which prevented us from measuring LPS and strictly comparing our results with those of Zhang *et al.*; however, both sets of results suggest that elevated endotoxin-exposure could be involved in the pathological processes of AD.

LBP is a secreted acute-phase reactant, whose expression is induced 10- to 50-fold during the immunologic response to Gram-negative bacterial infection; it binds with high affinity to LPS thereby ensuring its transport to elicit immune responses by presenting LPS to the cell surface pattern recognition receptors CD14 and TLR4 [49,50]. Several studies have demonstrated the critical role of LBP in the pro-inflammatory response to LPS [43,44]. The present findings corroborate previous results indicating that higher LBP levels are associated with impaired white matter integrity and cognitive performance [37], and they are observed in pathological conditions in general, such as among individuals who are overweight or obese [51] as well as those who have bacterial infections [13], type 2 diabetes mellitus [52], stroke [53], coronary artery disease [14] and sepsis [12]. Interestingly, the present study found no significant difference regarding LBP levels based on diabetic status. Furthermore, considering diabetes as a single covariate (and not as an item of comorbidities variable) did not change our results (data not shown).

The levels of LBP measured here remain difficult to compare with the available literature, especially because of the heterogeneity of studied groups (*i.e.*, age, disease considered...), the small number of participants and the broad spectrum of LBP values among studies varying from 4 to 97 µg/mL in the previous literature [37,54–56]. Overall, the LBP levels measured in the present study are somewhat higher than those found among healthy adults, and are close to those observed in patients with systemic inflammatory response syndrome [57,58]. The clinical relevance of the observed difference in LBP levels between cases and controls in our study needs to be discussed. Because no clinical threshold has been currently defined for plasma endotoxins as a marker of pathological processes, especially for elderly individuals, we performed sensitive analyses using tertiles of LBP levels and observed a dose-response trend between baseline LBP levels and an increased odds of developing AD. Thus, our results suggest the presence of a linear relationship between LBP levels and the odds of developing AD,

although further research is still required to draw a definite conclusion and propose a relevant threshold to potentially predict the odds of developing AD using this marker. Finally, a recent gut dysbiosis was reported among patients with AD compared with controls [15] that might partially modulate LPS translocation and explain some of our results.

In contrast with LBP, no association was observed between baseline sCD14 levels and the odds of developing AD in our study. In the absence of available literature on this topic, we have no obvious explanation for these findings, and can only propose speculative assumptions. One possible explanation for the null association between sCD14 and AD might rely on the fact that this marker represents only the soluble part of the CD14 receptor [59]. CD14 exists in two distinct and complementary forms. The membrane-anchored form (mCD14) is generally expressed and synthesized to respond to the eventual presence of LPS, whereas the soluble circulating form (sCD14) would be in an unusual and important influx of LPS. More precisely, sCD14 would be produced either by the cleavage of the membrane form or secreted directly by certain cell types (especially endothelial cells) to activate cells that do not present the membrane-anchored form mCD14 [59,60]. It would have been interesting to study mCD14 and the soluble circulating form to assess overall CD14 exposure in the present sample, however this measure was not available due to the specific sampling conditions required for mCD14 assessment. Another explanation could be the lack of relevance for sCD14 as a marker of endotoxins exposure, specifically among elderly individuals. More research is required to interpret these findings.

Regarding the inflammatory marker, no association was observed between baseline IL6 levels and the odds of developing AD in the present sample; furthermore this association appears to be inconsistent in the current literature. Although most studies have reported that high levels of IL6 increase the risk of AD [61,62], others have found no association [63,64] or only found an association between IL6 levels and early AD (*i.e.*, before 65 years), which was not represented in our study [65].

Because the production of pro-inflammatory cytokines likely partially results from the LPS-induced signaling pathways, we expected to observe higher IL6 levels in future AD cases based on LBP levels. However, LBP was considered to be a clinically relevant marker of long-term endotoxin-related exposure and potential pro-inflammatory outcomes, as long as the half-life is longer (12-24 h) than IL6 (4-6 h) after LPS exposure [38,66,67]. Higher LBP levels in patients with AD, rather than IL6 levels, might suggest the involvement of environmental factors such as diet on plasma endotoxemia, which increases the transitory translocation of LPS into the bloodstream during lipid digestion [68–70]. The blood samples obtained after an overnight fast might have influenced the levels of the studied biomarkers. A significant amount of missing nutritional data limit the ability of this case-control study to explore this hypothesis; although speculative, this hypothesis would benefit from complementary analyses.

Certain limitations of the present work should be emphasized. First, given the specific sampling conditions for LPS that were not anticipated at the time of the baseline blood collection and the lack of reproducibility associated with LPS measures in human blood, these measures were not assayed. LBP was considered as a longer-term marker of endotoxin-related exposure than LPS given the brief plasma half-life of LPS and its irregular translocation from the gastrointestinal

barrier into the bloodstream [45]. However, LBP does not actually reflect the biological activity of LPS, which differs because their molecular structures vary in composition according to the considered bacterial species and might have different cellular effects. The endotoxin-associated activity assessed by the Limulus Amebocyte Lysate (LAL) test could be proposed as a perspective to go a step forward the observations of this exploratory study. Second, only one measure of the biomarker was available at baseline in our study. Citronberg *et al.* provided information on the temporal reliability of plasma LBP to reflect moderate-term exposure to endotoxins over months [54]; however, the relevance and variation of this marker to reflect long-term exposure (over years) remains unknown. Finally, another inflammatory marker (*i.e.*, the Tumor Necrosis Factor (TNF α)) was considered and measured, but its levels were below the detection limit of the ELISA kit and therefore not analyzed in the present study.

Our study also has important strengths. Its obvious strengths include its longitudinal design with a 12-year follow-up (which minimizes the risk of conclusions of reverse causation between LBP and the odds of developing AD), large sample size and the nested case-control study design using a population-based cohort. Furthermore, the consideration of a large range of sociodemographic, lifestyle, clinical and biological factors reduced confounding effects, however, confounding factors might persist in this observational study.

Conclusions

We observed a significant association between higher LBP levels at baseline, a biomarker of endotoxins exposure, and a higher odds of developing AD over 12 years in a large population-based sample of elderly French people. No association was observed between the soluble co-receptor CD14 or IL6 levels at baseline and the odds of developing AD. These first exploratory results regarding plasma endotoxins exposure in an elderly sample will provide potential pathways to investigate AD, which has complex mechanisms that warrant further investigation.

REFERENCES

- [1] Zhang R, Miller RG, Gascon R, Champion S, Katz J, Lancero M, Narvaez A, Honrada R, Ruvalcaba D, McGrath MS (2009) Circulating endotoxin and systemic immune activation in sporadic amyotrophic lateral sclerosis (sALS). *J Neuroimmunol* **206**, 121–124.
- [2] Zhan X, Stamova B, Jin L-W, DeCarli C, Phinney B, Sharp FR (2016) Gram-negative bacterial molecules associate with Alzheimer disease pathology. *Neurology* **87**, 2324–2332.
- [3] Zhuang Z-Q, Shen L-L, Li W-W, Fu X, Zeng F, Gui L, Lü Y, Cai M, Zhu C, Tan Y-L, Zheng P, Li H-Y, Zhu J, Zhou H-D, Bu X-L, Wang Y-J (2018) Gut Microbiota is Altered in Patients with Alzheimer's Disease. *J Alzheimers Dis JAD* **63**, 1337–1346.
- [4] Zhao Y, Jaber V, Lukiw WJ (2017) Secretory Products of the Human GI Tract Microbiome and Their Potential Impact on Alzheimer's Disease (AD): Detection of Lipopolysaccharide (LPS) in AD Hippocampus. *Front Cell Infect Microbiol* **7**, 318.
- [5] Savage DC (1977) Microbial ecology of the gastrointestinal tract. *Annu Rev Microbiol* **31**, 107–133.
- [6] Whitman WB, Coleman DC, Wiebe WJ (1998) Prokaryotes: the unseen majority. *Proc Natl Acad Sci U. S. A.* **95**, 6578–6583.
- [7] Soenen S, Rayner CK, Jones KL, Horowitz M (2016) The ageing gastrointestinal tract. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* **19**, 12–18.
- [8] López-Moreno J, García-Carpintero S, Jimenez-Lucena R, Haro C, Rangel-Zúñiga OA, Blanco-Rojo R, Yubero-Serrano EM, Tinahones FJ, Delgado-Lista J, Pérez-Martínez P, Roche HM, López-Miranda J, Camargo A (2017) Effect of Dietary Lipids on Endotoxemia Influences Postprandial Inflammatory Response. *J Agric Food Chem* **65**, 7756–7763.
- [9] Dudek-Wicher RK, Junka A, Bartoszewicz M (2018) The influence of antibiotics and dietary components on gut microbiota. *Przegląd Gastroenterol* **13**, 85–92.
- [10] Pistollato F, Sumalla Cano S, Elio I, Masias Vergara M, Giampieri F, Battino M (2016) Role of gut microbiota and nutrients in amyloid formation and pathogenesis of Alzheimer disease. *Nutr Rev* **74**, 624–634.
- [11] Boroni Moreira AP, de Cássia Gonçalves Alfenas R (2012) The influence of endotoxemia on the molecular mechanisms of insulin resistance. *Nutr Hosp* **27**, 382–390.
- [12] Gañi S, Koldkjaer OG, Møller HJ, Pedersen C, Pedersen SS (2007) A comparison of high-mobility group-box 1 protein, lipopolysaccharide-binding protein and procalcitonin in severe community-acquired infections and bacteraemia: a prospective study. *Crit Care Lond Engl* **11**, R76.

- [13] Ratzinger F, Schuardt M, Eichbichler K, Tsirkinidou I, Bauer M, Haslacher H, Mitteregger D, Binder M, Burgmann H (2013) Utility of sepsis biomarkers and the infection probability score to discriminate sepsis and systemic inflammatory response syndrome in standard care patients. *PloS One* **8**, e82946.
- [14] Lepper PM, Kleber ME, Grammer TB, Hoffmann K, Dietz S, Winkelmann BR, Boehm BO, März W (2011) Lipopolysaccharide-binding protein (LBP) is associated with total and cardiovascular mortality in individuals with or without stable coronary artery disease--results from the Ludwigshafen Risk and Cardiovascular Health Study (LURIC). *Atherosclerosis* **219**, 291–297.
- [15] Paley EL, Merkulova-Rainon T, Faynboym A, Shestopalov VI, Aksenoff I (2018) Geographical Distribution and Diversity of Gut Microbial NADH:Ubiquinone Oxidoreductase Sequence Associated with Alzheimer's Disease. *J Alzheimers Dis JAD* **61**, 1531–1540.
- [16] Geerts SO, Nys M, De MP, Charpentier J, Albert A, Legrand V, Rompen EH (2002) Systemic release of endotoxins induced by gentle mastication: association with periodontitis severity. *J Periodontol* **73**, 73–78.
- [17] Teixeira FB, Saito MT, Matheus FC, Prediger RD, Yamada ES, Maia CSF, Lima RR (2017) Periodontitis and Alzheimer's Disease: A Possible Comorbidity between Oral Chronic Inflammatory Condition and Neuroinflammation. *Front Aging Neurosci* **9**, 327.
- [18] Dominy SS, Lynch C, Ermini F, Benedyk M, Marczyk A, Konradi A, Nguyen M, Haditsch U, Raha D, Griffin C, Holsinger LJ, Arastu-Kapur S, Kaba S, Lee A, Ryder MI, Potempa B, Mydel P, Hellvard A, Adamowicz K, Hasturk H, Walker GD, Reynolds EC, Faull RLM, Curtis MA, Dragunow M, Potempa J (2019) Porphyromonas gingivalis in Alzheimer's disease brains: Evidence for disease causation and treatment with small-molecule inhibitors. *Sci Adv* **5**, eaau3333.
- [19] Escribano BM, Medina-Fernández FJ, Aguilar-Luque M, Agüera E, Feijoo M, Garcia-Maceira FI, Lillo R, Vieyra-Reyes P, Giraldo AI, Luque E, Drucker-Colín R, Túnez I (2017) Lipopolysaccharide Binding Protein and Oxidative Stress in a Multiple Sclerosis Model. *Neurother. J Am Soc Exp Neurother* **14**, 199–211.
- [20] Lukiw WJ (2016) Bacteroides fragilis Lipopolysaccharide and Inflammatory Signaling in Alzheimer's Disease. *Front Microbiol* **7**, 1544.
- [21] Wang L-M, Wu Q, Kirk RA, Horn KP, Ebada Salem AH, Hoffman JM, Yap JT, Sonnen JA, Towner RA, Bozza FA, Rodrigues RS, Morton KA (2018) Lipopolysaccharide endotoxemia induces amyloid- β and p-tau formation in the rat brain. *Am J Nucl Med Mol Imaging* **8**, 86–99.

- [22] Zhan X, Stamova B, Sharp FR (2018) Lipopolysaccharide Associates with Amyloid Plaques, Neurons and Oligodendrocytes in Alzheimer's Disease Brain: A Review. *Front Aging Neurosci* **10**, 42.
- [23] Jangra A, Sriram CS, Lahkar M (2016) Lipopolysaccharide-Induced Behavioral Alterations Are Alleviated by Sodium Phenylbutyrate via Attenuation of Oxidative Stress and Neuroinflammatory Cascade. *Inflammation* **39**, 1441–1452.
- [24] Akiyama H, Barger S, Barnum S, Bradt B, Bauer J, Cole GM, Cooper NR, Eikelenboom P, Emmerling M, Fiebich BL, Finch CE, Frautschy S, Griffin WST, Hampel H, Hull M, Landreth G, Lue LF, Mrak R, MacKenzie IR, McGeer PL, O'Banion MK, Pachter J, Pasinetti G, Plata-Salaman C, Rogers J, Rydel R, Shen Y, Streit W, Strommeyer R, Tooyoma I, Muiswinkel FLV, Veerhuis R, Walker D, Webster S, Wegrzyniak B, Wenk G, Wyss-Coray T (2000) Inflammation and Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* **21**, 383–421.
- [25] Krstic D, Knuesel I (2013) Deciphering the mechanism underlying late-onset Alzheimer disease. *Nat Rev Neurol* **9**, 25–34.
- [26] Eikelenboom P, van Exel E, Hoozemans JJM, Veerhuis R, Rozemuller AJM, van Gool WA (2010) Neuroinflammation - an early event in both the history and pathogenesis of Alzheimer's disease. *Neurodegener Dis* **7**, 38–41.
- [27] Van Eldik LJ, Carrillo MC, Cole PE, Feuerbach D, Greenberg BD, Hendrix JA, Kennedy M, Kozauer N, Margolin RA, Molinuevo JL, Mueller R, Ransohoff RM, Wilcock DM, Bain L, Bales K (2016) The roles of inflammation and immune mechanisms in Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement N. Y. N* **2**, 99–109.
- [28] Brugg B, Dubreuil YL, Huber G, Wollman EE, Delhay-Bouchaud N, Mariani J (1995) Inflammatory processes induce beta-amyloid precursor protein changes in mouse brain. *Proc Natl Acad Sci U. S. A.* **92**, 3032–3035.
- [29] Lee Y-J, Choi D-Y, Yun Y-P, Han SB, Oh K-W, Hong JT (2013) Epigallocatechin-3-gallate prevents systemic inflammation-induced memory deficiency and amyloidogenesis via its anti-neuroinflammatory properties. *J Nutr Biochem* **24**, 298–310.
- [30] Catorce MN, Gevorkian G (2016) LPS-induced Murine Neuroinflammation Model: Main Features and Suitability for Pre-clinical Assessment of Nutraceuticals. *Curr Neuroparmacol* **14**, 155–164.
- [31] Medina-Fernández FJ, Luque E, Aguilar-Luque M, Agüera E, Feijóo M, García-Maceira FI, Escribano BM, Pascual-Leone Á, Drucker-Colín R, Túnez I (2017) Transcranial magnetic stimulation modifies astrogliosis, cell density and lipopolysaccharide levels in experimental autoimmune encephalomyelitis. *Life Sci* **169**, 20–26.

- [32] Miklossy J, Kis A, Radenovic A, Miller L, Forro L, Martins R, Reiss K, Darbinian N, Darekar P, Mihaly L, Khalili K (2006) Beta-amyloid deposition and Alzheimer's type changes induced by *Borrelia* spirochetes. *Neurobiol Aging* **27**, 228–236.
- [33] Lee JW, Lee YK, Yuk DY, Choi DY, Ban SB, Oh KW, Hong JT (2008) Neuroinflammation induced by lipopolysaccharide causes cognitive impairment through enhancement of beta-amyloid generation. *J Neuroinflammation* **5**, 37.
- [34] Warren HS, Fitting C, Hoff E, Adib-Conquy M, Beasley-Topliffe L, Tesini B, Liang X, Valentine C, Hellman J, Hayden D, Cavaillon J-M (2010) Resilience to bacterial infection: difference between species could be due to proteins in serum. *J Infect Dis* **201**, 223–232.
- [35] Krabbe KS, Reichenberg A, Yirmiya R, Smed A, Pedersen BK, Bruunsgaard H (2005) Low-dose endotoxemia and human neuropsychological functions. *Brain Behav Immun* **19**, 453–460.
- [36] Taveira da Silva AM, Kaulbach HC, Chuidian FS, Lambert DR, Suffredini AF, Danner RL (1993) Brief report: shock and multiple-organ dysfunction after self-administration of *Salmonella* endotoxin. *N Engl J Med* **328**, 1457–1460.
- [37] Moreno-Navarrete JM, Blasco G, Puig J, Biarnés C, Rivero M, Gich J, Fernández-Aranda F, Garre-Olmo J, Ramió-Torrentà L, Alberich-Bayarri Á, García-Castro F, Pedraza S, Ricart W, Fernández-Real JM (2017) Neuroinflammation in obesity: circulating lipopolysaccharide-binding protein associates with brain structure and cognitive performance. *Int J Obes* **41**, 1627.
- [38] Wan Y, Freeswick PD, Khemlani LS, Kispert PH, Wang SC, Su GL, Billiar TR (1995) Role of lipopolysaccharide (LPS), interleukin-1, interleukin-6, tumor necrosis factor, and dexamethasone in regulation of LPS-binding protein expression in normal hepatocytes and hepatocytes from LPS-treated rats. *Infect Immun* **63**, 2435–2442.
- [39] Hiki N, Berger D, Dentener MA, Mimura Y, Buurman WA, Prigl C, Seidelmann M, Tsuji E, Kaminishi M, Beger HG (1999) Changes in endotoxin-binding proteins during major elective surgery: important role for soluble CD14 in regulation of biological activity of systemic endotoxin. *Clin Diagn Lab Immunol* **6**, 844–850.
- [40] Kopp F, Kupsch S, Schromm AB (2016) Lipopolysaccharide-binding protein is bound and internalized by host cells and colocalizes with LPS in the cytoplasm: Implications for a role of LBP in intracellular LPS-signaling. *Biochim Biophys Acta* **1863**, 660–672.
- [41] 3C Study Group (2003) Vascular factors and risk of dementia: design of the Three-City Study and baseline characteristics of the study population. *Neuroepidemiology* **22**, 316–325.
- [42] American Psychiatric Association (1994) *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders: DSM-IV.*, American Psychiatric Association, Washington DC.

- [43] Mathison JC, Tobias PS, Wolfson E, Ulevitch RJ (1992) Plasma lipopolysaccharide (LPS)-binding protein. A key component in macrophage recognition of gram-negative LPS. *J Immunol Baltim Md 1950* **149**, 200–206.
- [44] Tobias PS, Mathison J, Mintz D, Lee JD, Kravchenko V, Kato K, Pugin J, Ulevitch RJ (1992) Participation of lipopolysaccharide-binding protein in lipopolysaccharide-dependent macrophage activation. *Am J Respir Cell Mol Biol.* **7**, 239–245.
- [45] Yao Z, Mates JM, Cheplowitz AM, Hammer LP, Maisseyeu A, Phillips GS, Wewers MD, Rajaram MVS, Robinson JM, Anderson CL, Ganesan LP (2016) Blood-Borne Lipopolysaccharide Is Rapidly Eliminated by Liver Sinusoidal Endothelial Cells via High-Density Lipoprotein. *J Immunol Baltim Md 1950* **197**, 2390–2399.
- [46] Folstein MF, Folstein SE, McHugh PR (1975) “Mini-mental state”. A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *J Psychiatr Res* **12**, 189–198.
- [47] Fuhrer R, Rouillon F (1989) La version française de l’échelle CES-D (Center for epidemiologic studies-depression scale). Description et traduction de l’échelle d’autoévaluation. *Psychiatr Psychobiol* **4**, 163–166.
- [48] Heiat A, Vaccarino V, Krumholz HM (2001) An evidence-based assessment of federal guidelines for overweight and obesity as they apply to elderly persons. *Arch Intern Med* **161**, 1194–1203.
- [49] Tobias PS, Soldau K, Ulevitch RJ (1989) Identification of a lipid A binding site in the acute phase reactant lipopolysaccharide binding protein. *J Biol Chem* **264**, 10867–10871.
- [50] Schumann RR, Leong SR, Flaggs GW, Gray PW, Wright SD, Mathison JC, Tobias PS, Ulevitch RJ (1990) Structure and function of lipopolysaccharide binding protein. *Science* **249**, 1429–1431.
- [51] Gonzalez-Quintela A, Alonso M, Campos J, Vizcaino L, Loidi L, Gude F (2013) Determinants of serum concentrations of lipopolysaccharide-binding protein (LBP) in the adult population: the role of obesity. *PloS One* **8**, e54600.
- [52] Gomes JMG, Costa J de A, Alfenas R de CG (2017) Metabolic endotoxemia and diabetes mellitus: A systematic review. *Metabolism* **68**, 133–144.
- [53] Klimiec E, Pera J, Chrzanowska-Wasko J, Golenia A, Slowik A, Dziedzic T (2016) Plasma endotoxin activity rises during ischemic stroke and is associated with worse short-term outcome. *J Neuroimmunol* **297**, 76–80.
- [54] Citronberg JS, Wilkens LR, Lim U, Hullar MAJ, White E, Newcomb PA, Le Marchand L, Lampe JW (2016) Reliability of plasma lipopolysaccharide-binding protein (LBP) from repeated measures in healthy adults. *Cancer Causes Control CCC* **27**, 1163–1166.

- [55] Zhou H, Hu J, Zhu Q, Yang S, Zhang Y, Gao R, Liu L, Wang Y, Zhen Q, Lv Q, Li Q (2016) Lipopolysaccharide-binding protein cannot independently predict type 2 diabetes mellitus: A nested case-control study. *J Diabetes* **8**, 214–219.
- [56] Tilves CM, Zmuda JM, Kuipers AL, Nestlerode CS, Evans RW, Bunker CH, Patrick AL, Miljkovic I (2016) Association of Lipopolysaccharide-Binding Protein With Aging-Related Adiposity Change and Prediabetes Among African Ancestry Men. *Diabetes Care* **39**, 385–391.
- [57] Prucha M, Herold I, Zazula R, Dubska L, Dostal M, Hildebrand T, Hyanek J (2003) Significance of lipopolysaccharide-binding protein (an acute phase protein) in monitoring critically ill patients. *Crit Care* **7**, R154–R159.
- [58] Blairon L, Wittebole X, Laterre P-F (2003) Lipopolysaccharide-Binding Protein Serum Levels in Patients with Severe Sepsis Due to Gram-Positive and Fungal Infections. *J Infect Dis* **187**, 287–291.
- [59] Marcos V, Latzin P, Hector A, Sonanini S, Hoffmann F, Lacher M, Koller B, Bufler P, Nicolai T, Hartl D, Griesse M (2010) Expression, regulation and clinical significance of soluble and membrane CD14 receptors in pediatric inflammatory lung diseases. *Respir Res* **11**, 32.
- [60] Tomlinson JE, Blikslager AT (2004) Interactions between lipopolysaccharide and the intestinal epithelium. *J Am Vet Med Assoc* **224**, 1446–1452.
- [61] Eikelenboom P, Veerhuis R (1999) The importance of inflammatory mechanisms for the development of Alzheimer's disease. *Exp Gerontol* **34**, 453–461.
- [62] Kim YS, Lee KJ, Kim H (2017) Serum tumour necrosis factor- α and interleukin-6 levels in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. *Psychogeriatr Off J Jpn Psychogeriatr Soc* **17**, 224–230.
- [63] Darweesh SKL, Wolters FJ, Ikram MA, de Wolf F, Bos D, Hofman A (2018) Inflammatory markers and the risk of dementia and Alzheimer's disease: A meta-analysis. *Alzheimers Dement J Alzheimers Assoc*.
- [64] Ravaglia G, Forti P, Maioli F, Chiappelli M, Montesi F, Tumini E, Mariani E, Licastro F, Patterson C (2007) Blood inflammatory markers and risk of dementia: The Conselice Study of Brain Aging. *Neurobiol Aging* **28**, 1810–1820.
- [65] Dursun E, Gezen-Ak D, Hanağası H, Bilgiç B, Lohmann E, Ertan S, Atasoy İL, Alaylıoğlu M, Araz ÖS, Önal B, Gündüz A, Apaydın H, Kızıltan G, Ulutin T, Gürvit H, Yılmaz S (2015) The interleukin 1 alpha, interleukin 1 beta, interleukin 6 and alpha-2-macroglobulin serum levels in patients with early or late onset Alzheimer's disease, mild cognitive impairment or Parkinson's disease. *J Neuroimmunol* **283**, 50–57.

- [66] Janský L, Reymanová P, Kopecký J (2003) Dynamics of cytokine production in human peripheral blood mononuclear cells stimulated by LPS or infected by *Borrelia*. *Physiol Res* **52**, 593–598.
- [67] Sun R, Zhu Z, Su Q, Li T, Song Q (2012) Toll-like receptor 4 is involved in bacterial endotoxin-induced endothelial cell injury and SOC-mediated calcium regulation. *Cell Biol Int* **36**, 475–481.
- [68] Brown BI (2017) Nutritional Management of Metabolic Endotoxemia: A Clinical Review. *Altern Ther Health Med* **23**, 42–54.
- [69] Laugerette F, Vors C, Géloën A, Chauvin M-A, Soulage C, Lambert-Porcheron S, Peretti N, Alligier M, Burcelin R, Laville M, Vidal H, Michalski M-C (2011) Emulsified lipids increase endotoxemia: possible role in early postprandial low-grade inflammation. *J Nutr Biochem* **22**, 53–59.
- [70] Laugerette F, Furet J-P, Debard C, Daira P, Loizon E, Géloën A, Soulage CO, Simonet C, Lefils-Lacourtablaise J, Bernoud-Hubac N, Bodennec J, Peretti N, Vidal H, Michalski M-C (2012) Oil composition of high-fat diet affects metabolic inflammation differently in connection with endotoxin receptors in mice. *Am J Physiol Endocrinol Metab* **302**, E374–386.

Supplementary Table 1. Multivariate association between soluble cluster of differentiation-14 (sCD14) and Interleukin-6 (IL6) considered as tertiles and the odds of developing Alzheimer's disease over 12 years, nested case-control in the 3C Bordeaux cohort (n=636).

Odds of Alzheimer's disease (OR [95% CIs])						
	Model 1		Model 2		Model 3	
sCD14 (µg/mL)	OR [95% CIs]	p-value	OR [95% CIs]	p-value	OR [95% CIs]	p-value
Tertile 1 (< 2.62)	1.00 [Reference]	0.190 ^a	1.00 [Reference]	0.285 ^a	1.00 [Reference]	0.788 ^a
Tertile 2 (2.62 – 3.66)	1.32 [0.85 – 2.05]	0.221	1.33 [0.86 - 2.08]	0.205	1.17 [0.74 - 1.86]	0.500
Tertile 3 (> 3.66)	1.46 [0.97 – 2.20]	0.073	1.37 [0.90 - 2.09]	0.143	1.12 [0.71 - 1.77]	0.624
IL6 (pg/mL)	OR [95% CIs]	p-value	OR [95% CIs]	p-value	OR [95% CIs]	p-value
Tertile 1 (< 1.97)	1.00 [Reference]	0.390 ^a	1.00 [Reference]	0.433 ^a	1.00 [Reference]	0.670 ^a
Tertile 2 (1.97 – 5.62)	1.25 [0.83 - 1.90]	0.293	1.26 [0.83 - 1.92]	0.285	1.20 [0.79 - 1.84]	0.398
Tertile 3 (> 5.62)	1.34 [0.87 - 2.08]	0.188	1.31 [0.84 - 2.04]	0.232	1.18 [0.74 - 1.88]	0.482

^a Overall p-value. Models 1 and 2 are separated models for each marker. Model 1: adjusted for ApoE4, BMI and score of multi-comorbidity. Model 2: covariates from Model 1 plus number of regular drugs consumed per week and intake of non-steroidal anti-inflammatory or corticoids drugs. Model 3: covariates from Model 2 plus simultaneous adjustment for other exposure variables (LBP, sCD14 and IL6 considered simultaneously). Abbreviations: ApoE4 Apolipoprotein E4, BMI Body Mass Index, LBP Lipopolysaccharide Binding Protein, sCD14 soluble Cluster of Differentiation 14, IL6 Interleukin 6.