



HAL
open science

Virus Herpès Simplex de type 1 : une cible potentielle pour la prévention de la maladie d'Alzheimer ?

Morgane Linard de Guertechin

► To cite this version:

Morgane Linard de Guertechin. Virus Herpès Simplex de type 1 : une cible potentielle pour la prévention de la maladie d'Alzheimer ?. Médecine humaine et pathologie. Université de Bordeaux, 2021. Français. NNT : 2021BORD0118 . tel-03505906

HAL Id: tel-03505906

<https://theses.hal.science/tel-03505906>

Submitted on 1 Jan 2022

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 Epidémiologie

Par Morgane LINARD

**Virus Herpès Simplex de type 1 : une cible potentielle pour
la prévention de la maladie d'Alzheimer ?**

Sous la direction de : Mme le Docteur Catherine HELMER

Soutenue le 29 mars 2021

Membres du jury :

M. TZOURIO, Christophe	PU-PH, Université de Bordeaux	Président
Mme BERR, Claudine	DR INSERM Unité 1061 Montpellier	Rapporteuse
M. FULOP, Tamas	PU-PH, Université de Sherbrooke	Rapporteur
M. EPSTEIN, Alberto	DR INSERM Unité 1179 Montigny-le-Bretonneux	Examineur
Mme HELMER, Catherine	CR INSERM Unité 1219 Bordeaux	Directrice de thèse

Résumé : Virus Herpès Simplex de type 1 : une cible potentielle pour la prévention de la maladie d'Alzheimer ?

Malgré de nombreuses avancées concernant la compréhension des mécanismes impliqués dans la maladie d'Alzheimer (MA), son étiologie précise reste inconnue aujourd'hui. Cependant, un nombre croissant d'articles suggèrent que l'implication du virus Herpès Simplex de type 1 (HSV-1) pourrait expliquer à la fois les séquences topographique et temporelle ainsi que le type d'atteintes retrouvées dans la MA. En effet, HSV-1 est un virus neurotrope retrouvé dans le cerveau de personnes âgées et présentant un tropisme particulier pour les zones impliquées dans la MA. Il est également capable de se propager de cellules en cellules. Durant la vie, HSV-1 reste à l'état latent dans le corps et est capable de se réactiver périodiquement. Avec l'avancée en âge, le déclin du système immunitaire pourrait permettre la survenue de réactivations plus fréquentes et/ou plus intenses du virus, expliquant ainsi potentiellement la survenue tardive et progressive de la MA. De plus, les principaux marqueurs anatomopathologiques de la MA (lésions amyloïde, tau, neuroinflammation) peuvent être induits *in vitro* et chez l'animal par l'inoculation du virus HSV-1 et l'accumulation du peptide $\alpha\beta$ pourrait être due à son implication dans la défense antimicrobienne. Dans cette thèse, afin de tester cette hypothèse, nous avons dans un premier temps évalué l'association entre les données de sérologies anti-HSV et différents marqueurs de la MA en fonction de la présence de l'allèle APOE4, facteur de risque génétique de MA semblant moduler l'effet du virus sur le cerveau. En effet, la présence de facteurs de susceptibilité, notamment génétiques, permettrait d'expliquer pourquoi, malgré une séroprévalence d'approximativement 80%, certains sujets infectés restent « porteurs sains » tandis que d'autres développent la maladie. Dans les cohortes Trois Cités Bordeaux et AMI (Aging Multidisciplinary Investigation), nous avons ainsi mis en évidence que, parmi les sujets porteurs de l'allèle APOE4, les sujets infectés avaient 2 fois plus de risque de développer une MA par rapport aux non-infectés et 3 fois plus s'ils présentaient un taux d'IgG anti-HSV élevé (reflet possible de réactivations virales plus fréquentes au cours du temps) ; à l'inverse, aucune association n'était retrouvée chez les non-porteurs d'APOE4. Les sujets infectés avaient également plus d'altérations de la microstructure de la substance blanche au niveau du cingulum et du fornix para-hippocampiques que les sujets non infectés et, pour ceux ayant un taux d'IgG élevé, ils présentaient également un volume hippocampique plus faible. Paradoxalement, au sein de l'essai MAPT (Multidomain Alzheimer Preventive Trial), nous avons mis en évidence que, parmi les porteurs de l'allèle APOE4, les sujets infectés (et particulièrement ceux ayant un taux élevé d'IgG) avaient significativement moins de dépôts amyloïdes que les non-infectés tandis qu'aucune association n'était retrouvée chez les sujets non-porteurs d'APOE4. Ce résultat, bien qu'allant dans le sens inverse de celui attendu, pourrait potentiellement être expliqué par un biais de sélection des sujets inclus dans l'essai. Enfin, grâce aux données de 68 291 sujets âgés issus de l'Echantillon Généraliste des Bénéficiaires suivis entre 2009 et 2017, nous avons mis en évidence que la prise d'au moins un anti-herpétique à action systémique était associée à une diminution de 15% du risque de développer une MA. Malgré un nombre faible de participants avec une prise régulière durant le suivi, cette association pourrait refléter un effet protecteur du traitement, en particulier si l'on considère la possibilité d'un traitement plus régulier durant la période de vie précédant l'inclusion. Au total, si nos résultats semblent en faveur de l'implication du virus HSV-1 dans la MA, de nombreuses questions restent encore en suspens pour confirmer cette hypothèse et son potentiel en termes de prévention.

Mots clés : Maladie d'Alzheimer, Herpès simplex virus, Infection, Prévention

Abstract: Herpes Simplex Virus type 1: a potential target for the prevention of Alzheimer's disease?

Despite many advances in the understanding of the mechanisms involved in Alzheimer's disease (AD), its precise etiology remains unknown. However, an increasing number of articles suggest that an involvement of the Herpes Simplex virus type 1 (HSV-1) could explain both the topographic and temporal sequences as well as the type of damage found in AD. Indeed, HSV-1 is a neurotropic virus found in the brains of elderly people and it has a particular tropism for the areas involved in AD. It is also able to spread from cell to cell. During life, HSV-1 remains latent in the body and is able to reactivate periodically. With advancing age, the decline of the immune system could allow more frequent and/or intense reactivations of the virus, potentially explaining the late and progressive onset of AD. In addition, the main pathological markers of AD (amyloid and tau pathologies, neuroinflammation) can be induced in vitro and in animal models by inoculation of the HSV-1 virus and the accumulation of the $\text{A}\beta$ peptide could be due to its involvement in antimicrobial defense. In this thesis, in order to test this hypothesis, we first evaluated the association between anti-HSV serologies and different markers of AD according to the presence of the APOE4 allele, a genetic risk factor for MA which may modulate the effect of the virus on the brain. Indeed, the presence of susceptibility factors, genetic or not, would explain why, despite a seroprevalence of approximately 80%, some infected subjects remain "healthy carriers" while others develop the disease. In the Trois Cités Bordeaux and the AMI (Aging Multidisciplinary Investigation) cohorts, we demonstrated that, among the APOE4 carriers, the infected subjects had 2 times the risk of developing AD than the non-infected and three times if they had a high level of anti-HSV IgG (possible reflection of more frequent viral reactivations over time); conversely, no association was found in APOE4 non-carriers. Infected subjects also had more alterations of the white matter microstructure in the parahippocampal cingulum and fornix than uninfected subjects, and if they had an elevated IgG levels, they also presented lower hippocampal volumes. Paradoxically, in the MAPT trial (Multidomain Alzheimer Preventive Trial), we demonstrated that, among APOE4 carriers, infected subjects (and particularly those with high IgG levels) had significantly less amyloid deposits than uninfected individuals while no association was found in APOE4 non carriers. This result, although going in the opposite direction to that expected, could potentially be explained by a selection bias of the subjects included in the trial. Then, using medico-administrative data from 68,291 elderly subjects monitored between 2009 and 2017, we demonstrated that taking at least one systemic anti-herpetic drug was associated with a 15% decrease in the risk of developing AD. Despite a low percentage of participants with regular intake during follow-up, this association could potentially reflect a protective effect of the treatment, in particular considering the possibility of more regular treatment during the period of life before inclusion. Overall, while our results seem in favor of the involvement of HSV-1 in AD, many questions still remain to confirm this hypothesis and its potential in terms of prevention.

Keywords: Alzheimer's disease, Herpes simplex virus, Infection, Prevention

Unité de recherche :

INSERM U1219 Bordeaux Population Health

Equipe LEHA "Lifelong Exposure, Health and Aging".

Université de Bordeaux, 146 rue Léo Saignat 33076 Bordeaux cedex, France

Remerciements

Une thèse est toujours un long chemin...

Mais, pour ma part, j'ai eu la chance de ne le partager qu'avec des gens biens !

Avec un peu de pudeur et beaucoup d'affection, j'en profite ici pour vous dire MERCI.

Aux membres de mon jury, merci d'avoir accepté de juger ce travail et de partager avec nous votre expertise.

Catherine, merci pour tout. Merci pour tout ce que tu m'as appris, pour ta confiance et ta bienveillance sans pareil. Je suis chanceuse d'explorer cette hypothèse passionnante à tes côtés !

Au bureau Michou « élargi ». Bénédicte, Gwendo, Soufiane, Corentin, Perrine, Virginie, Camille, Sophie, Maude, Aline, Leslie, Hermine, Sadia, Jocelyn, Hassan, merci d'avoir égayé et enrichi ces années. Soutenant presque la dernière, vous savez déjà tout le mal que je pense de vous ! Vous avez été le ciel bleu et le bon pique-nique (petit dej ?) qui accompagnent une belle randonnée !

A l'ensemble de l'équipe LEHA, passée et présente, merci pour la générosité qui vous caractérise et pour les moments partagés ensemble. A tous les collègues bordelais (au BPH ou ailleurs), merci pour nos échanges – simple sourire, conseil ou grande discussion. Merci au Pr Dartigues et à Luc Letenneur d'avoir initié la recherche sur cette thématique au sein du centre. Un merci particulier à Isabelle de répondre toujours présente pour de nouvelles aventures virologiques. Merci au Dr Auriacombe, au Pr Rainfray et au Pr Dartigues pour la générosité avec laquelle vous partagez votre savoir clinique.

Aux copains éparpillés sous divers horizons. Paris, Mulhouse, Lille, Bretagne, Québec, Cork, Melbourne, Pointe Noire... « Loin des yeux, loin du cœur » ? C'est dépassé ! Nous, c'est pour la vie ! Merci d'être ceux que l'on retrouve toujours comme si l'on venait de se quitter.

A ma belle belle-famille, merci pour votre soutien. Merci spécial à Monique pour tes gentilles attentions et tes mots toujours justes.

A mes frères. Merci d'être tous les trois, chacun à votre manière, une inspiration et une raison pour moi d'aller toujours un peu plus loin. Marina, Clémentine, merci d'avoir rejoint notre équipe et merci de les supporter ^^ !

Maman, Papa. Merci pour tous ces « cadeaux sous le sapin » que je découvre toujours plus nombreux et, depuis quelques temps, toujours plus précieux. Merci aussi d'être un si bel exemple à suivre.

Aliénor, ma belle éveillée, merci pour ce que tu fais de nous et pour cette grande aventure que l'on entame avec toi.

Pierre, merci pour tout. Pour tout ce que tu es et pour nous, toujours.

Table des matières

Valorisation scientifique.....	9
Liste des figures	11
Liste des tableaux	12
Liste des annexes.....	13
Liste des abréviations	14
1. Etat des connaissances et objectifs de la thèse	16
1.1 La démence et la maladie d'Alzheimer.....	16
1.1.1 La démence.....	16
1.1.1.1 Définition et diagnostic de démence	16
1.1.1.2 Prévalence et incidence de la démence.....	19
1.1.1.3 Impact sociétal de la démence	20
1.1.1.4 Facteurs de risque de démence	22
1.1.1.4.1 Facteurs de risque non modifiables	22
1.1.1.4.2 Facteurs de risque modifiables	23
1.1.1.5 Formes étiologiques de la démence.....	25
1.1.2 La maladie d'Alzheimer	28
1.1.2.1 Caractéristiques de la maladie d'Alzheimer	28
1.1.2.1.1 Marqueurs anatomopathologiques de la maladie d'Alzheimer	28
1.1.2.1.2 Séquence topographique et symptômes cliniques associés	33
1.1.2.1.3 Séquence temporelle.....	36
1.1.2.1.4 Susceptibilité génétique.....	40
1.1.2.2 En pratique, diagnostic et prise en charge thérapeutique	43
1.1.2.2.1 Diagnostic clinique et paraclinique	43
1.1.2.2.2 Prise en charge thérapeutique	47
1.1.3 Introduction à l'hypothèse infectieuse.....	49
1.2 Le virus Herpès Simplex de type 1 (HSV-1).....	52
1.2.1 Carte d'identité du virus HSV-1	52
1.2.1.1 La famille des <i>Herpesviridae</i>	52
1.2.1.2 La structure du virus HSV-1.....	52
1.2.2 Une infection qui se déroule en trois phases	53
1.2.2.1 Primo-infection, latence, réactivations : aspects cliniques	53
1.2.2.1.1 Transmission.....	53
1.2.2.1.2 Primo-infection.....	54
1.2.2.1.3 Latence	56
1.2.2.1.4 Réactivations	57
1.2.2.1.5 Aparté sur les formes graves de l'infection à HSV	57

1.2.2.2	Primo-infection, latence, réactivations : aspects cellulaires	59
1.2.3	Epidémiologie de l'infection à HSV	60
1.2.3.1	Prévalence de l'infection à HSV	60
1.2.3.2	Facteurs de risque d'infection à HSV	63
1.2.3.3	Fréquence des réactivations du virus	63
1.2.3.4	Facteurs associés aux réactivations	64
1.2.4	Prise en charge thérapeutique	65
1.3	Implication d'HSV-1 dans la maladie d'Alzheimer ?	68
1.3.1	Séquence topographique.....	68
1.3.1.1	Présence du virus au sein du système nerveux central et réactivations	68
1.3.1.2	Migration du virus HSV-1 et topographie des lésions tau.....	74
1.3.2	Virus HSV-1 et marqueurs anatomopathologiques	76
1.3.2.1	HSV-1 et pathologie amyloïde	76
1.3.2.1.1	Agressions du système nerveux central et pathologie amyloïde	78
1.3.2.1.1	Le peptide amyloïde présente une activité antimicrobienne.....	82
1.3.2.2	HSV-1 et pathologie Tau.....	86
1.3.2.2.1	L'infection à HSV-1 entraîne l'apparition de la pathologie Tau.....	86
1.3.2.2.2	Pourquoi HSV-1 entraînerait-t-il l'apparition de lésions Tau ?.....	89
1.3.3	Séquence temporelle.....	90
1.3.3.1	Une infection par le virus HSV-1 tôt dans la vie.....	90
1.3.3.2	Immunosénescence des lymphocytes T CD8+ et réactivations.....	91
1.3.3.3	Rôle du peptide amyloïde et clairance par les cellules microgliales	92
1.3.4	Profil des patients et facteurs de risque	94
1.3.4.1	Facteurs de susceptibilité génétiques.....	94
1.3.4.2	Facteurs liés à l'infection.....	96
1.3.4.3	Autres facteurs environnementaux	97
1.3.5	HSV-1 et marqueurs cliniques ou radiologiques	98
1.3.5.1	HSV-1 et atteintes radiologiques.....	98
1.3.5.2	HSV-1 et déclin cognitif ou survenue d'une démence	101
1.4	Objectifs de la thèse.....	113
2.	Méthodologie.....	114
2.1	Données utilisées	114
2.1.1	Cohorte des Trois Cités et cohorte AMI.....	114
2.1.1.1	Design et participants inclus dans les cohortes	114
2.1.1.2	Recueil de données	114
2.1.1.2.1	Données concernant l'infection à HSV	116
2.1.1.2.2	Diagnostic de démence.....	117

2.1.1.2.3	Données radiologiques	118
2.1.1.2.4	Autres données utilisées	120
2.1.2	Essai MAPT	121
2.1.2.1	Design, participants et intervention dans l'essai MAPT	121
2.1.2.2	Recueil de données	123
2.1.2.2.1	Sérologies herpétiques.....	123
2.1.2.2.2	Dépôts amyloïdes intracérébraux	124
2.1.2.2.3	Autres données utilisées	125
2.1.3	Echantillon Généraliste des Bénéficiaires (EGB)	126
2.1.3.1	Qui fait partie de l'EGB ?.....	126
2.1.3.2	Quelles sont les données disponibles dans l'EGB?	127
2.1.3.3	Design et participants inclus dans notre analyse	128
2.1.3.1	Identification des sujets traités par un antiviral efficace sur HSV-1	128
2.1.3.2	Identification des démences prévalentes ou incidentes	130
2.1.3.3	Autres données utilisées	132
2.2	Méthodes statistiques utilisées.....	134
3.	Résultats	138
3.1	Association entre l'infection à HSV-1 et i) l'incidence de la démence ou ii) la présence d'anomalies radiologiques à l'IRM cérébrale dans les cohortes 3C et AMI.....	138
3.1.1	Articles 1 et 2	138
3.1.2	Résultats complémentaires	183
3.1.2.1	Sérologies herpétiques et déclarations de symptômes de type herpès.....	183
3.1.2.2	Facteurs associés au statut sérologique et à la déclaration de symptômes	185
3.2	Association entre l'infection à HSV-1 et l'accumulation de dépôts amyloïdes intracérébraux dans l'essai MAPT	190
3.2.1	Introduction	190
3.2.2	Résultats	191
3.2.2.1	Caractéristiques de l'échantillon	191
3.2.2.2	Association entre statut sérologique HSV-1 et dépôts amyloïdes intracérébraux	193
3.2.3	Discussion	196
3.2.3.1	Résultats principaux	196
3.2.3.2	Forces et faiblesses	196
3.2.3.3	Interprétation	197
3.3	Association entre la prise de traitements anti-herpétiques et la survenue d'une démence dans l'Echantillon Généraliste des Bénéficiaires	200
3.3.1	Article 3.....	200
3.3.2	Résultats complémentaires	226
3.3.2.1	Critères ayant permis l'identification des cas de démences	226

3.3.2.2	Autres analyses évaluant l'association entre prise de traitement anti-herpétique et incidence de la démence	229
4.	Discussion globale et perspectives	232
4.1	Plausibilité de l'hypothèse infectieuse ?.....	232
4.1.1	Virus HSV-1 et maladie d'Alzheimer	232
4.1.1.1	Les études in vitro et chez l'animal	232
4.1.1.2	Les études sur échantillons de cerveaux post-mortem	233
4.1.1.3	Les études chez l'homme en ante-mortem	235
4.1.2	Vers une vision plus globale ?.....	238
4.2	Qu'en est-il enfin des potentielles implications thérapeutiques ?	239
	Références bibliographiques.....	244
	Annexes	275

Valorisation scientifique

Publications scientifiques

- **Article 1** : Linard M, Letenneur L, Garrigue I, Doize A, Dartigues J-F, Helmer C. *Interaction between APOE4 and herpes simplex virus type 1 in Alzheimer's disease*. *Alzheimer's Dement*. 2020;16:200–208.
- **Article 2** : Linard M, Baillet M, Letenneur L, Garrigue I, Catheline G, Dartigues JFD, Pérès K, Helmer C. *Herpes simplex virus, early neuroimaging markers and incidence of Alzheimer's disease*. Soumis pour publication.
- **Article 3** : Linard M, Bezin J, Hucteau E, Joly P, Letenneur L, Garrigue I, Dartigues J-F, Pariente A, Helmer C. *Anti-herpetic drugs: a potential way to prevent Alzheimer's disease ?* Soumis pour publication.
- **Article en rapport avec la thématique** : Albaret MA, Textoris J, Dalzon B, Lambert J, Linard M, Helmer C, Hacot S, Ghayad S, Ferréol M, Mertani C, Diaz JJ. *Caspase 3 sequestration in aggresome: the missing link between HSV-1 and Alzheimer's Disease*. Soumis pour publication.
- **Encadrement de projet tutoré** : Etudiants : Estevez M, Lamy A, Rozes N, Encadrement : Linard M. « Réactivation du virus Herpès simplex de type 1 et alimentation. *Revue de la littérature*. »

Valorisation en congrès

- Linard M, Letenneur L, Garrigue I, Doize A, Dartigues J-F, Helmer C. *Interaction between APOE4 and herpes simplex virus type 1 in Alzheimer's disease*. Présentation orale au congrès "3rd Innovations and state of the art in Alzheimer's & Dementia research" à Londres en 2019.
- Linard M, Letenneur L, Garrigue I, Doize A, Dartigues J-F, Helmer C. *Interaction between APOE4 and herpes simplex virus type 1 in Alzheimer's disease*. Poster à la 8^{ème} rencontre de la Fondation Alzheimer à Paris en 2019.
- Linard M, Baillet M, Letenneur L, Garrigue I, Catheline G, Dartigues JFD, Pérès K, Helmer C. *Herpes simplex virus and early neuroimaging markers of Alzheimer's disease: hippocampal volume and white matter integrity in the AMI cohort*. Poster à l'AAIC, conférence virtuelle en 2020.

- Linard M, Baillet M, Letenneur L, Garrigue I, Catheline G, Dartigues JFD, Pérès K, Helmer C. *Herpes simplex virus, early neuroimaging markers and incidence of Alzheimer's disease*. Poster commenté au CALM (Club Alzheimer de Montpellier), conférence virtuelle en 2020.
- Linard M, Baillet M, Letenneur L, Garrigue I, Catheline G, Dartigues JFD, Pérès K, Helmer C. *Herpes simplex virus, early neuroimaging markers and incidence of Alzheimer's disease*. Présentation orale à l'AD/PD, conférence virtuelle en mars 2021.

Liste des figures

FIGURE 1 : D'APRES PRINCE (4), AUGMENTATION DU NOMBRE DE PERSONNES DEMENTES (EN MILLIONS) DANS LES PAYS A HAUTS REVENUS ET A BAS OU MOYENS REVENUS ENTRE 2015 ET 2050.....	19
FIGURE 2 : D'APRES NICHOLS (9), PREVALENCE GLOBALE STANDARDISEE SUR L'AGE DE LA MALADIE D'ALZHEIMER ET AUTRES DEMENCES PAR SEXE EN 2016 (ET LEUR INTERVALLE DE CONFIANCE A 95%).	22
FIGURE 3 : D'APRES LIVINGSTON.(18), MECANISMES DE PREVENTION POSSIBLES DE LA DEMENCE.....	24
FIGURE 4 : D'APRES QUERFURTH (29), CLIVAGE DE L'APP ABOUTISSANT A LA FORMATION DU PEPTIDE AMYLOÏDE ...	29
FIGURE 5 : D'APRES DUGGER (23) , DEPOTS AMYLOÏDES EXISTANT DANS LE CADRE DE LA MALADIE D'ALZHEIMER (DETECTION PAR IMMUNOHISTOCHEMIE)	29
FIGURE 6 : D'APRES QUERFURTH (29), MODIFICATION SURVENANT AU NIVEAU DE LA PROTEINE TAU DANS LE CADRE DE LA MALADIE D'ALZHEIMER	31
FIGURE 7 : D'APRES DUGGER (23), DEGENERESCENCES NEUROFIBRILLAIRES DANS LE CADRE DE LA MALADIE D'ALZHEIMER	31
FIGURE 8 : D'APRES BRAAK (41), STADES DECRIVANT L'EVOLUTION DE LA PATHOLOGIE TAU DANS LA MALADIE D'ALZHEIMER.....	34
FIGURE 9 : D'APRES MASTERS (49), STADES DE BRAAK DECRIVANT LA REPARTITION DES LESIONS AMYLOÏDES AU NIVEAU CORTICAL.....	35
FIGURE 10 : D'APRES THAL (50), PHASES DE THAL DECRIVANT L'EVOLUTION DES LESIONS AMYLOÏDES	36
FIGURE 11 : D'APRES FERRIS (53), PROGRESSION DES SYMPTOMES DANS LA MALADIE D'ALZHEIMER (ADAPTE DE FELDMAN ET WOODWARD. THE STAGING AND ASSESSMENT OF MODERATE TO SEVERE ALZHEIMER'S DISEASE. NEUROLOGY. 2005)	37
FIGURE 12 : D'APRES JACK (35), DYNAMIQUE DES BIOMARQUEURS DANS LA PATHOLOGIE ALZHEIMER - MODELE REVISE EN 2012.....	39
FIGURE 13 : D'APRES KUNKLE (64), MANHATTAN PLOT PRESENTANT LES RESULTATS DE LA META-ANALYSE DES ETUDES D'ASSOCIATION PANGENOMIQUES CONCERNANT LA MALADIE D'ALZHEIMER.	41
FIGURE 14 : D'APRES KARCH (66), VARIANTS CONTRIBUANT AU RISQUE DE MALADIE D'ALZHEIMER ET MECANISMES POTENTIELLEMENT ASSOCIES	42
FIGURE 15 : D'APRES ROZENBERG [69], STRUCTURE DU VIRUS HERPES SIMPLEX DE TYPE 1	53
FIGURE 16 : EMBLEMATIQUE DU GANGLION TRIGEMINAL AU SEIN DU CAVUM TRIGEMINAL.....	56
FIGURE 17 : D'APRES LOOKER (90), SEROPREVALENCE DES VIRUS HSV-1 ET HSV-2 EN EUROPE.	61
FIGURE 18 : D'APRES LOOKER (107), SEROPREVALENCE HSV-1 SELON LES REGIONS DU MONDE.	62
FIGURE 19 : D'APRES KUMAR (247), FILAMENTS AMYLOÏDES SEQUESTRENT UNE LEVURE DE TYPE CANDIDA ALBICANS EN SE FIXANT A SA PAROI.....	83
FIGURE 20 : D'APRES WOZNIAK (178) , CO-LOCALISATION DE L'ADN HSV-1 ET DES PLAQUES AMYLOÏDES AU SEIN DE CERVEAUX DE PATIENTS ATTEINTS DE MALADIE D'ALZHEIMER (A,B) ET DE SUJETS CONTROLES (C,D)...	85
FIGURE 21 : SUIVI DANS LE CADRE DES COHORTES DES TROIS CITES ET AMI.....	116
FIGURE 22 : CINGULUM ET FORNIX, FAISCEAUX DE SUBSTANCE BLANCHE RELIES A L'HIPPOCAMPE.....	119

Liste des tableaux

TABLEAU 1 : CRITERES DIAGNOSTIQUES DE DEMENCE (DSM IV) ET DE TROUBLES NEUROCOGNITIFS MAJEUR OU MINEUR (DSM V).....	18
TABLEAU 2 : ADAPTE D'APRES DUGGER ET AL. (23), EXEMPLES DE MALADIES NEURODEGENERATIVES	26
TABLEAU 3 : CRITERES DIAGNOSTIQUES DE LA MALADIE D'ALZHEIMER SELON DSMV ET NINCDS-ADRDA	45
TABLEAU 4 : SYMPTOMATOLOGIE ASSOCIEE A LA PRIMO-INFECTION HSV-1 ET A SES RECURRENCES (HORS CAS PARTICULIERS).....	55
TABLEAU 5 : D'APRES MALKIN (108), SEROPREVALENCE DES VIRUS HSV-1 ET HSV-2 DANS L'ETUDE HERPIMAX REALISEE EN FRANCE EN 2002	61
TABLEAU 6 : RECOMMANDATIONS DE TRAITEMENT POUR LA PRISE EN CHARGE DE L'HERPES CUTANEOUMUQUEUX CHEZ LE SUJET IMMUNOCOMPETENT	66
TABLEAU 7 : ETUDES AYANT RECHERCHE LA PRESENCE DE L'ADN DU VIRUS HSV-1 AU SEIN D'ECHANTILLONS DE CERVEAUX POST-MORTEM.....	71
TABLEAU 8 : ETUDES AYANT EVALUE L'ASSOCIATION ENTRE INFECTION HSV ET PATHOLOGIE AMYLOÏDE	79
TABLEAU 9 : ETUDES AYANT EVALUE L'ASSOCIATION ENTRE INFECTION HSV ET PATHOLOGIE TAU	87
TABLEAU 10 : ETUDES AYANT EVALUE L'ASSOCIATION ENTRE INFECTION HSV ET ANOMALIES DE LA SUBSTANCE GRISE CHEZ DES SUJETS ATTEINTS DE MALADIE D'ALZHEIMER.....	100
TABLEAU 11 : ETUDES TRANSVERSALES OU CAS-TEMOINS AYANT EVALUE L'ASSOCIATION ENTRE INFECTION HSV ET DECLIN COGNITIF OU DEMENCE CHEZ L'HOMME.....	104
TABLEAU 12 : ETUDES DE COHORTE AYANT EVALUE L'ASSOCIATION ENTRE INFECTION HSV ET DECLIN COGNITIF OU DEMENCE CHEZ L'HOMME	106
TABLEAU 13 : CODES ATC DES ANTIVIRAUX EFFICACES SUR HSV-1	129
TABLEAU 14 : CRITERES POUR L'IDENTIFICATION DES DEMENCES DANS L'ECHANTILLON GENERALISTE DES BENEFICIAIRES.....	131
TABLEAU 15 : CODES UTILISES POUR LA DEFINITION DES VARIABLES D'AJUSTEMENT UTILISEES DANS L'ECHANTILLON GENERALISTE DES BENEFICIAIRES.....	133
TABLEAU 16 : CARACTERISTIQUES DES MODELES DE REGRESSIONS MULTIVARIEES	136
TABLEAU 17 : SEROLOGIES DISPONIBLES DANS 3C BORDEAUX ET AMI.....	183
TABLEAU 18 : DECLARATION DE SYMPTOMES HERPETIQUES DANS LES COHORTES 3C BORDEAUX ET AMI	184
TABLEAU 19 : FACTEURS ASSOCIES AU STATUT IGG. ANALYSES UNIVARIEES DANS LA COHORTE TROIS CITES BORDEAUX A 4 ANS.....	186
TABLEAU 20 : FACTEURS ASSOCIES AU STATUT IGM CHEZ LES INFECTES. ANALYSES UNIVARIEES DANS LA COHORTE TROIS CITES BORDEAUX A 4 ANS.	187
TABLEAU 21 : FACTEURS ASSOCIES AU TAUX D'IGG CHEZ LES INFECTES. ANALYSES UNIVARIEES DANS LA COHORTE TROIS CITES BORDEAUX A 4 ANS.	188
TABLEAU 22 : FACTEURS ASSOCIES A LA DECLARATION DE SYMPTOMES HERPETIQUES. ANALYSES UNIVARIEES DANS LA COHORTE DES TROIS CITES A L'INCLUSION.	189
TABLEAU 23: CARACTERISTIQUES DES SUJETS ISSUS DE L'ESSAI MAPT.....	192
TABLEAU 24 : ASSOCIATION ENTRE STATUT SEROLOGIQUE HSV-1 ET DEPOTS AMYLOÏDES INTRACEREBRAUX. ANALYSES MULTIVARIEES. ESSAI MAPT.	194
TABLEAU 25 : ASSOCIATION ENTRE STATUT SEROLOGIQUE HSV-1 ET DEPOTS AMYLOÏDES INTRACEREBRAUX. ANALYSES DE SENSIBILITE. ESSAI MAPT.	195
TABLEAU 26 : CRITERES AYANT PERMIS L'IDENTIFICATION DES CAS DE DEMENCE DANS L'ECHANTILLON GENERALISTE DES BENEFICIAIRES	228
TABLEAU 27 : CRITERES AYANT PERMIS L'IDENTIFICATION DES CAS DE DEMENCE DANS L'ECHANTILLON GENERALISTE DES BENEFICIAIRES (2).....	228
TABLEAU 28 : ASSOCIATION ENTRE LA PRISE D'AU MOINS UN TRAITEMENT ANTI-HERPETIQUE NON SYSTEMIQUE ET L'INCIDENCE DE LA DEMENCE - MODELES DE COX. ECHANTILLON GENERALISTE DES BENEFICIAIRES. 2009-2017.....	230
TABLEAU 29 : ASSOCIATION ENTRE LA PRISE D'AU MOINS 2 OU 3 DELIVRANCES D'ANTI-HERPETIQUES SYSTEMIQUES ET INCIDENCE DE LA DEMENCE. MODELE DE COX. ECHANTILLON GENERALISTE DES BENEFICIAIRES. 2009-2017.	231

Liste des annexes

ANNEXE 1 : MINI-MENTAL STATE EXAMINATION	275
ANNEXE 2 : ECHELLES ADL – IADL.....	276
ANNEXE 3 : ECHELLE CDR.....	278

Liste des abréviations

3C : Trois Cités

ADL : Activities of daily living

AINS : Anti-inflammatoires non stéroïdiens

ALD : Affection longue durée

AMI : Aging Multidisciplinary Investigation study

AMP : Antimicrobial peptide

APP : Protéine précurseur de l'amyloïde

ATC : Anatomical therapeutic chemical

ATIH : Agence Technique de l'Information sur l'Hospitalisation

CDR : Clinical dementia rating scale

CIM-10 : Classification internationale des maladies - version 10

CMU-c : Couverture médicale universelle complémentaire

CMV : Cytomégalovirus

DSM : Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders

DTI : Diffusion tensor imaging

EBV : Epstein Barr virus

EGB : Echantillon généraliste des bénéficiaires

EHPAD : Etablissement d'hébergement pour personnes âgées dépendantes

EOAD : Early onset Alzheimer's disease

FA : Fractional anisotropy

GWAS : Genome wide association studies

HAD : Hospitalisation à domicile

HHV : Herpès virus humains

HRa : Hazard ratio ajusté

HSV : Herpès simplex virus

IADL : Instrumental activities of daily living

IC 95% : Intervalle de confiance à 95%

Ig : Immunoglobuline

IL : Interleukine

IRM : Imagerie par résonance magnétique

KSHV : Herpès virus associé au sarcome de Kaposi

LAT : Latency-associated transcript

LCS : Liquide cérébro-spinal
LOAD : Late onset Alzheimer's disease
LT : Lymphocytes T
MA : Maladie d'Alzheimer
MAPT : Multidomain Alzheimer Preventive Trial
MCI : Mild cognitive impairment
MCOO : Médecine, chirurgie, obstétrique, odontologie
MD : Mean diffusivity
MMSE : Mini Mental State Examination
MSA : Mutualité Sociale Agricole
NINCDS-ADRDA : National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke and the Alzheimer's Disease and Related Disorders Association
NIR : Numéro d'inscription au répertoire de l'INSEE
ORa : Odds ratio ajusté
PCR : Polymerase chain reaction
PMSI : Programme de médicalisation du système d'information
P-Tau : Phospho-tau
ROI : Region of interest
SNIIRAM : Système National d'Informations Inter-Régimes de l'Assurance Maladie
STD : Standard deviation
SUVr : standardized uptake value ratio
TEP : Tomographie par émission de positons
TNF : Tumor necrosis factor
T-Tau : Tau total
VBM : Voxel based morphometry
VZV : Virus de la varicelle ou du zona

1. Etat des connaissances et objectifs de la thèse

1.1 La démence et la maladie d'Alzheimer

1.1.1 La démence

1.1.1.1 Définition et diagnostic de démence

Le **terme de « démence »** est aujourd'hui couramment utilisé pour faire référence à **l'apparition d'un ou plusieurs troubles cognitifs associée à un retentissement fonctionnel.**

Les types de troubles associés sont extrêmement variés reflétant la complexité des fonctions cognitives. A titre d'exemple, la personne peut notamment avoir des difficultés à se rappeler des informations ou à en mémoriser de nouvelles (on parle de trouble de la mémoire ou de trouble mnésique), à s'exprimer ou à comprendre le discours d'autrui (on parle d'aphasie), à reconnaître des objets, des lieux ou des personnes (on parle d'agnosie), à réaliser certains gestes ou activités motrices complexes (on parle d'apraxie) ou à planifier des tâches et à avoir une pensée abstraite (on parle de troubles des fonctions exécutives). Ces troubles peuvent également être associés à des troubles du comportement comme, par exemple, une agitation ou une apathie.

Le retentissement fonctionnel, quant à lui, s'évalue par la nécessité d'être aidé pour la réalisation d'activités de la vie quotidienne plus ou moins complexes (se nourrir, s'habiller, se laver, prendre ses traitements, utiliser le téléphone, faire ses courses...).

Le diagnostic de « démence » est basé sur les **critères diagnostiques du « Manuel diagnostique et statistique des troubles mentaux »** (en anglais « Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders », DSM).

Dans la version IV du DSM (1), le diagnostic de démence nécessitait l'existence à la fois d'un déficit de la mémoire et d'un déficit dans un autre domaine cognitif, le tout associé à un retentissement sur le plan fonctionnel (Tableau 1). Ces critères ont récemment évolué dans la version V du DSM (version anglaise en 2013 et française en 2015) (2) (Tableau 1) soulignant :

- La volonté d'utiliser un terme moins négativement connoté : le terme de démence est ainsi remplacé par celui de « **trouble neurocognitif majeur** ».
- L'élargissement des critères diagnostiques rendant non essentiel l'altération de la mémoire dans le diagnostic et tenant ainsi mieux compte de la diversité des étiologies de démence.
- La reconnaissance de l'existence de formes plus légères associées à un déficit cognitif modeste n'interférant pas avec l'indépendance dans les activités quotidiennes et définies sous le terme de « **trouble neurocognitif mineur** ».¹

¹ Ce terme pourrait être rapproché du concept de déficit cognitif léger ou « Mild Cognitif Impairment » (MCI) défini par Petersen (3).

Tableau 1 : Critères diagnostiques de démence (DSM IV) et de troubles neurocognitifs majeur ou mineur (DSM V)

DSM IV : Démence	DSM V : Trouble neurocognitif majeur	DSM V : Troubles neurocognitifs mineur
<p>A. Apparition de déficits cognitifs multiples, comme en témoignent à la fois:</p> <p>1. un déficit de la mémoire</p> <p>2. une (ou plusieurs) des perturbations cognitives suivantes : aphasie, apraxie, agnosie ou perturbation des fonctions exécutives</p> <p>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.</p> <p>C. Les déficits cognitifs des critères A1 et A2 ne sont pas dus à une des causes suivantes :</p> <p>1. autres affections du système nerveux central qui peuvent entraîner un déficit de la mémoire et du fonctionnement cognitif</p> <p>2. affections générales pouvant entraîner une démence</p> <p>3. affections induites par une prise de substance.</p> <p>D. Les déficits ne surviennent pas de façon exclusive au cours de l'évolution d'un délirium</p> <p>E. La perturbation n'est pas expliquée par un trouble dépressif majeur ou une schizophrénie</p>	<p>A. Évidence d'un déclin cognitif significatif par rapport au niveau de performance antérieur dans un domaine cognitif ou plus (fonctions exécutives, apprentissage et mémoire, langage...) sur la base</p> <p>1. d'une préoccupation de l'individu, d'un informateur bien informé, ou du clinicien quant à un déclin significatif de la fonction cognitive ; et</p> <p>2. d'un déficit de la performance cognitive, de préférence documenté par des tests neuropsychologiques standardisés ou, en leur absence, une autre évaluation clinique quantifiée.</p> <p>B. Les déficits cognitifs interfèrent avec l'indépendance dans les activités quotidiennes.</p> <p>C. Les déficits cognitifs ne se produisent pas exclusivement dans le cadre d'un délirium.</p> <p>D. Les déficits cognitifs ne sont pas mieux expliqués par un autre trouble mental (par exemple, le trouble dépressif majeur, la schizophrénie).</p>	<p>A. Évidence d'un modeste déclin cognitif par rapport au niveau de performance antérieur dans un domaine cognitif ou plus (fonctions exécutives, apprentissage et mémoire, langage...) sur la base :</p> <p>1. d'une préoccupation de l'individu, d'un informateur bien informé, ou du clinicien quant à un déclin léger de la fonction cognitive ; et</p> <p>2. d'un modeste déficit de la performance cognitive, de préférence documenté par des tests neuropsychologiques standardisés ou, en leur absence, une autre évaluation clinique quantifiée.</p> <p>B. Les déficits cognitifs n'interfèrent pas avec l'indépendance dans les activités quotidiennes (mais des efforts plus grands, des stratégies compensatoires, ou une accommodation peuvent être nécessaires).</p> <p>C. Les déficits cognitifs ne se produisent pas exclusivement, dans le cadre d'un délirium.</p> <p>D. Les déficits cognitifs ne sont pas mieux expliqués par un autre trouble mental (par exemple, le trouble dépressif majeur, la schizophrénie).</p>

1.1.1.2 Prévalence et incidence de la démence

D'après le Rapport Mondial Alzheimer 2015 (4) ayant répertorié 273 études de prévalence à travers le monde, le **nombre de personnes vivant avec une démence était de 46,8 millions de personnes en 2015, soit 5,2% des sujets de 60 ans et plus**. L'Europe de l'Ouest était la deuxième région du monde la plus touchée, après la région Est de l'Asie, avec une prévalence de 6,9%, soit 7,45 millions de cas. En France, le nombre de personnes démentes avait été estimé à environ 966 000 en 2015, soit 8,1% des personnes âgées de 65 ans et plus et 1,5% de la population générale (5).

Du fait de l'augmentation de la population âgée en lien avec le vieillissement démographique (baby-boom, augmentation de l'espérance de vie) et l'augmentation de la population mondiale, cette prévalence est amenée à augmenter dans le temps. Selon les estimations du Rapport Mondial Alzheimer 2015 (4), elle devrait atteindre **74,7 millions de personnes dans le monde en 2030** et toucher principalement les pays à bas et moyen revenus (Figure 1). En Europe de l'Ouest et en France, les estimations du nombre de sujets déments en 2030 sont respectivement de 9,99 millions et 1,2 million. Néanmoins, ces projections ne tiennent compte que de l'augmentation de la population à risque et non d'une éventuelle évolution du risque de démence avec le temps (son incidence).

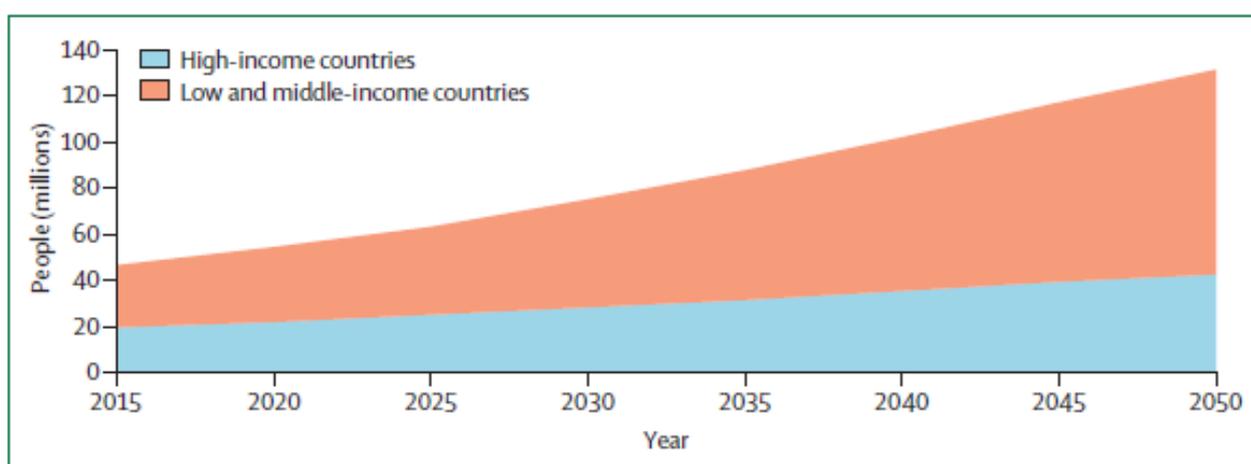


Figure 1 : D'après Prince (4), augmentation du nombre de personnes démentes (en millions) dans les pays à hauts revenus et à bas ou moyens revenus entre 2015 et 2050.

L'incidence de la démence était estimée en 2015 à plus de **9,9 millions de nouveaux cas par an dans le monde** (4). Celle-ci augmente avec l'âge passant de 3.9 nouveaux cas /1000 personne-années chez les 60-64 ans à 104.8 nouveaux cas /1000 personne-années chez les sujets

de plus de 90 ans. En Europe et en France, les nombres de nouveaux cas par an en 2015 étaient respectivement estimés à 2,5 millions (4) et à 165 000 (5).

Or, certaines études (6–8) suggèrent une **tendance à la diminution de l'incidence de la démence avec le temps**, notamment en Europe et aux Etats-Unis. Cette tendance, potentiellement en lien avec une meilleure prise en charge des facteurs de risque de démence (facteurs de risque cardio-vasculaires, faible niveau d'éducation...), pourrait ainsi entraîner une réévaluation à la baisse du nombre de déments à venir, sans toutefois suffire à compenser l'augmentation décrite précédemment.

1.1.1.3 **Impact sociétal de la démence**

La démence a des conséquences graves à la fois pour le malade, son entourage et la société.

Concernant le malade, l'évolution vers les stades sévères de démence entraîne une **perte progressive d'autonomie pouvant aller jusqu'à nécessiter une institutionnalisation et est également associée à un risque augmenté de décès**.

D'après "The Global Burden of Disease Study" (9) regroupant les données de 237 études réalisées dans le monde entre 1990 et 2016, environ 6,3% des années de vie perdues en bonne santé et 8,6% des décès (soit 2,2 millions) pouvaient être attribuables à la démence chez les plus de 70 ans dans le monde en 2016. La démence serait ainsi la 2^{ème} cause principale de décès chez les plus de 70 ans (après les cardiopathies ischémiques) et la 23^{ème} cause principale d'années de vie perdues en bonne santé toutes tranches d'âge confondues.

Les données de la cohorte PAQUID ont également permis d'estimer l'impact de la démence dans la population âgée française. Ainsi, parmi les sujets de 75 ans et plus en 1998-1999, 38,8% des sujets déments étaient institutionnalisés. La démence était ainsi la principale cause de dépendance sévère (les déments représentaient 87,8% des personnes dépendantes) et la principale cause d'institutionnalisation (les déments représentaient 71,6% des résidents d'institution) (10). Les sujets déments avaient également presque deux fois plus de risque de décès que les non-déments après ajustement sur les caractéristiques sociodémographiques et sur la présence de comorbidités (11).

Les conséquences sur l'entourage des patients ne doivent également pas être sous-estimées. La **prise en charge d'un proche dément est ainsi associée à un risque augmenté de morbidité pour l'aidant** avec notamment une augmentation du risque d'anxiété, de dépression et même de décès (12–14). Elle a également des répercussions **non négligeables sur le quotidien des familles et sur le plan financier**.

Sur le plan sociétal, la **démence a également un impact financier majeur ainsi qu'un impact en termes d'utilisation des ressources de soins** (humaines comme matérielles).

Au niveau mondial (15), le coût global associé à la prise en charge de la démence en 2015 était de 818 milliards de dollars américains, soit 1,09% du Produit Intérieur Brut global, et il était estimé que le seuil de 1 000 milliards de dollars serait dépassé en 2018. Le coût moyen annuel d'une personne démente était estimée à 43 680 dollars américains dans les pays du G7 en 2015. Ces dépenses étaient en grande partie liées à la prise en charge de la dépendance. Les coûts médicaux directs ne représentaient que 20% du coût global tandis que le coût restant était lié à des soins sociaux directs (prise en charge à domicile ou en institution par des professionnels) ou informels (entourage non rémunéré).

En France, selon une étude réalisée en 2010 (5), le coût global de la démence serait de 23 milliards d'euros en 2020 et atteindrait 41 milliards d'euros en 2050.

Face à ces conséquences, **plusieurs plans de santé publique à l'échelle nationale ou internationale (comme par exemple les différents « Plans Alzheimer » en France) ont été mis en place pour faire face au défi que représente la démence pour notre société**. Ils mettent notamment l'accent sur la nécessité de miser sur la prévention en jouant sur les facteurs de risque de la démence.

1.1.1.4 Facteurs de risque de démence

Parmi les facteurs de risque connus de démence, certains sont non modifiables (comme l'âge, le sexe ou les facteurs génétiques) tandis que d'autres, modifiables, sont accessibles à des politiques de prévention.

1.1.1.4.1 Facteurs de risque non modifiables

L'âge et le sexe féminin sont des facteurs de risque non modifiables de démence. Dans le monde, la prévalence de la démence augmente avec l'âge : elle double approximativement tous les 5 ans entre 50 et 80 ans puis augmente plus lentement chez les sujets de plus de 80 ans (Figure 2).

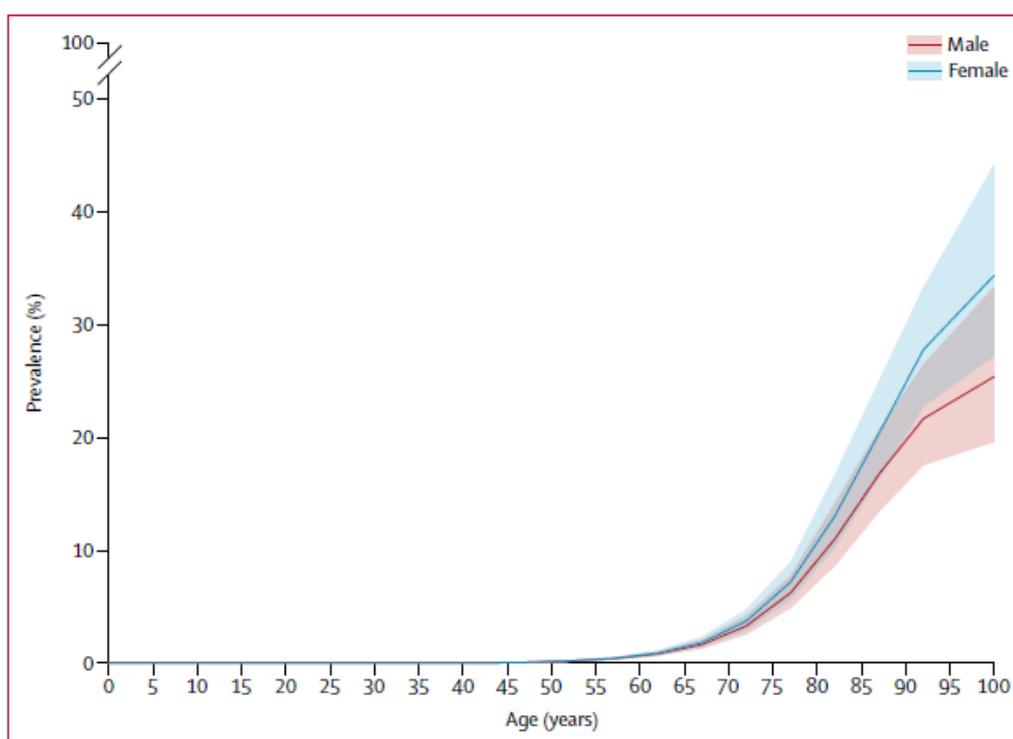


Figure 2 : D'après Nichols (9), prévalence globale standardisée sur l'âge de la maladie d'Alzheimer et autres démences par sexe en 2016 (et leur intervalle de confiance à 95%).

Le sexe féminin semble également être un facteur de risque indépendant de démence, bien que celui-ci ne soit pas retrouvé dans toutes les études (16). Différentes hypothèses, en dehors d'une exposition différente à plusieurs facteurs de risque modifiables de démence et d'un potentiel

biais de survie sélective, ont été formulées quant au mécanisme pouvant expliquer un sur-risque de démence *spécifiquement* lié au sexe féminin (17). On peut notamment citer un impact délétère sur l'intégrité des structures cérébrales des troubles hypertensifs survenant durant la grossesse, de la ménopause et/ou de sa supplémentation hormonale ainsi qu'un potentiel impact d'un plus faible volume intracrânien moyen sur la réserve cérébrale (i.e., nombre de neurones et de synapses).

Parmi les facteurs de risque non modifiables, il faut également prendre en compte les **facteurs génétiques**. Ceux-ci sont plus souvent étudiés en rapport avec un type particulier de démence et nous les aborderons plus spécifiquement dans le cadre de la maladie d'Alzheimer au paragraphe 1.1.2.1.4.

1.1.1.4.2 Facteurs de risque modifiables

D'après la méta-analyse réalisée par «The Lancet Commission on Dementia Prevention, Intervention, and Care 2020 » (18), **douze principaux facteurs de risque de démence sont accessibles à une prévention et ceci à différents âges de la vie** : un moindre niveau d'éducation, une hypertension artérielle, un diabète, une obésité, l'inactivité physique, le tabagisme, la pollution de l'air, une consommation excessive d'alcool, les traumatismes crâniens, les troubles auditifs, la dépression et un isolement social.

D'autres facteurs (non considérés comme majeurs dans cette méta-analyse) sont également identifiés comme de potentiels facteurs de risque (ou facteurs protecteurs) dans la littérature (19) tels que, par exemple, les dyslipidémies, le manque de sommeil, l'adhérence à un régime méditerranéen, la consommation de certains nutriments ou aliments (20,21), la prise d'anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) ou les stimulations cognitives...

S'il est parfois difficile de distinguer simple association statistique et relation causale, deux principaux types de mécanismes ont été proposés pour expliquer l'impact de ces facteurs sur le risque de démence (Figure 3).

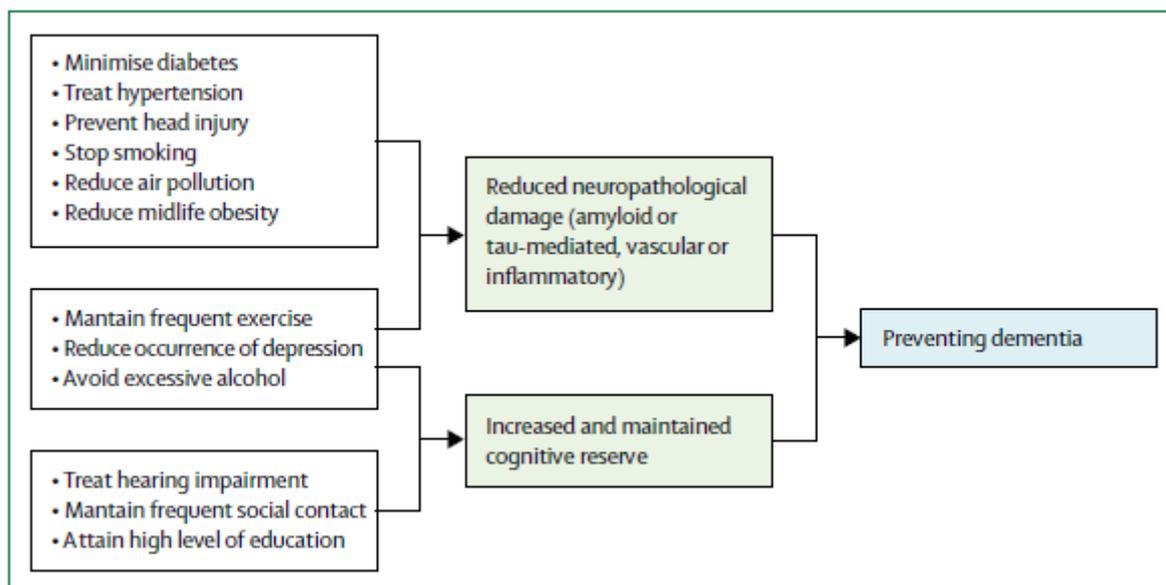


Figure 3 : D'après Livingston.(18), mécanismes de prévention possibles de la démence

D'une part, **certains facteurs pourraient intervenir sur ce qu'on appelle la résilience cognitive** (22). La résilience cognitive est un concept illustrant la différence pouvant exister entre l'intensité des lésions neuropathologiques retrouvées chez un sujet et leurs répercussions sur le plan cognitif (le terme de réserve est également parfois employé). Celle-ci met en jeu à la fois le nombre de neurones et de synapses d'un individu (on parle de réserve cérébrale), la capacité du cerveau à réduire l'impact sur les fonctions cognitives des altérations survenant au cours du temps (on parle de maintenance cérébrale) ainsi que la capacité à mettre en place des processus cognitifs de compensation face au développement de certains déficits cognitifs (on parle de réserve cognitive). Ce serait par exemple le cas de l'éducation ou des interactions sociales qui pourraient avoir un impact sur la réserve cognitive, des troubles auditifs et de la dépression potentiellement associés à une moindre stimulation cognitive ou de l'activité physique suspectée d'avoir un impact sur la neurogénèse hippocampique (18).

D'autre part, **d'autres facteurs jouent directement sur l'apparition de lésions neuropathologiques menant à la démence**. C'est le cas par exemple des facteurs de risque cardiovasculaires et métaboliques (obésité, diabète, tabagisme, hypertension artérielle, dyslipidémie) qui sont en partie responsables de lésions vasculaires au niveau du système

nerveux central. D'autres facteurs pro ou anti-inflammatoires (par exemple la prise d'AINS) pourraient jouer sur la neuroinflammation et certains facteurs (comme les traumatismes crâniens) directement sur l'accumulation de protéines amyloïdes et tau.

Sous l'hypothèse d'une relation causale entre ces facteurs et la démence, on estime aujourd'hui que **40% des démences dans le monde pourraient être attribuables aux 12 facteurs majeurs identifiés précédemment** (18). Ainsi, si les facteurs de risque identifiés aujourd'hui offrent certes plusieurs pistes de prévention à l'échelle individuelle ou sociétale, ils sont encore loin d'expliquer la totalité des mécanismes en cause dans les différentes formes étiologiques de démence. C'est notamment particulièrement le cas pour les démences dites « neurodégénératives » dont les causes sont encore mal comprises.

1.1.1.5 Formes étiologiques de la démence

Les étiologies (causes) de démence sont très variées et peuvent être regroupées en deux catégories :

- **Les démences dites « neurodégénératives »** regroupent une très grande variété de pathologies dont, par exemple, la maladie d'Alzheimer (MA), la démence à corps de Lewy, la démence associée à la maladie de Parkinson, la dégénérescence lobaire fronto-temporale, la sclérose latérale amyotrophique, la paralysie supranucléaire progressive, la maladie de Pick, la maladie de Creutzfeldt-Jakob... (23).

Elles ont en commun une mort lente et progressive des cellules neuronales et donc une évolution péjorative de la maladie au cours du temps.

Elles se distinguent notamment par le type de lésions anatomopathologiques, par leur topographie (et donc par le type de fonctions cognitives touchées) ainsi que par leur séquence d'évolution (Tableau 2).

- **Les démences non neurodégénératives** regroupant notamment la démence vasculaire et des démences secondaires à des affections générales (ex : neurosyphilis, maladie de Lyme, démence associée au VIH, hydrocéphalie à pression normale, trouble métabolique, prise de toxique...).

Tableau 2 : Adapté d'après Dugger et al. (23), exemples de maladies neurodégénératives

Disease	Main neuropathology	Protein aggregate(s)	Main anatomic vulnerability
Amyloidoses			
Creutzfeldt–Jakob disease (genetic, variant, sporadic, iatrogenic)	Spongiform changes Prion protein (PrP) accumulation	PrP	Cerebral cortex Neostriatum Thalamus Cerebellum
Alzheimer's disease	Neurofibrillary tangles (NFTs) Neuropil threads Neuritic and amyloid plaques Amyloid angiopathy	A β 3R + 4R tau	Basal forebrain Frontal and temporal lobes Limbic structures Locus coeruleus Olfactory bulb
Tauopathies			
Progressive supranuclear palsy	Globose NFTs Tufted astrocytes Oligodendroglial coiled bodies Neuropil threads	4R tau	Subthalamic nucleus Substantia nigra Superior colliculus Cerebellar dentate
Corticobasal degeneration	Pretangles Astrocytic plaques Neuropil threads Ballooned neurons	4R tau	Frontoparietal association cortices Neostriatum Substantia nigra
Synucleinopathies			
Lewy body disorders	Lewy bodies Lewy neurites	α -Synuclein	Amygdala Cerebral cortex Dorsal motor nucleus Hippocampus (CA2) Locus coeruleus Olfactory bulb Substantia nigra
TDP-43 Proteinopathies			
Frontotemporal lobar degeneration	Neuronal cytoplasmic inclusions Neuronal nuclear inclusions Dystrophic neurites	TDP-43	Frontal and temporal cortices Basal ganglia Substantia nigra
Amyotrophic lateral sclerosis	Upper and lower motor neuron loss Bunina bodies Neuronal inclusions Astrocytic hyaline inclusions	TDP-43	Motor cortex Brainstem motor neurons Spinal cord motor neurons

Parmi ces démences, **la maladie d'Alzheimer représente la majorité des diagnostics cliniques**. Selon une étude réalisée en 2000, en Europe, les diagnostics cliniques de maladie d'Alzheimer représentaient 53,7% des cas de démence et ceux de démence vasculaire 15,8% des cas (24). En France, dans la cohorte française des Trois-Cités, la maladie d'Alzheimer représentait 67% des diagnostics de démence, la démence mixte (associant MA et démence vasculaire) 12%, la démence vasculaire 9%, la démence associée à la maladie de Parkinson 4%, la démence à corps de Lewy 4% et la démence frontotemporale 0,3%.

Néanmoins, les résultats des études anatomopathologiques réalisées sur des échantillons de cerveaux post-mortem nous donnent à voir **une réalité bien plus complexe**. D'une part, chez la majorité des sujets déments, il semble que coexistent différentes étiologies de démence. D'autre part, il existe une proportion non négligeable de sujets présentant des marqueurs anatomopathologiques de démence sans retentissement clinique. Ainsi, en 2006, dans une série d'autopsies chez 1050 sujets âgés déments (dont 63% de diagnostics cliniques de maladie d'Alzheimer et 10% de démence vasculaire), Jellinger et al. (25) ont mis en évidence que 86% des sujets présentaient des lésions compatibles avec la maladie d'Alzheimer dont 42,8% de MA dite « pure », 22,6% de MA associée à des lésions vasculaires et 10,8% associées à des corps de Lewy. Parmi les sujets ayant eu un diagnostic clinique de MA, 93% présentaient des lésions anatomopathologiques de MA mais seul 44,7% présentaient une forme dite « pure ». Plus récemment, en 2016, James et al. (26) se sont intéressés à la coexistence des lésions type MA et des dépôts de protéines TDP-43 chez 398 sujets déments ayant reçu un diagnostic clinique de maladie d'Alzheimer et 548 sujets âgés contrôles. Parmi les sujets diagnostiqués déments, 98,2% présentaient des lésions anatomopathologiques : 80,9% présentaient des lésions de type Alzheimer, 64,6% des dépôts TDP-43, 57,0% des lésions vasculaires, 34,1% des corps de Lewy, 20,2% une sclérose hippocampique. Chez les sujets contrôles, 85,4% des sujets présentaient des lésions (tous types confondus).

La « démence » est donc un **processus profondément complexe** regroupant une diversité de tableaux cliniques (reflétant les zones cérébrales atteintes), de lésions anatomopathologiques souvent multiples et des facteurs étiologiques pour lesquels beaucoup reste à comprendre. Dans la suite de cette thèse, tout en gardant à l'esprit cette complexité, nous tenterons de nous concentrer plus spécifiquement sur la maladie d'Alzheimer et ses spécificités.

1.1.2 La maladie d'Alzheimer

La maladie d'Alzheimer doit son nom à Aloïs Alzheimer, médecin allemand, qui décrit les premiers cas de la maladie au début des années 1900 (27,28). Cette description associait un tableau clinique de démence et des lésions anatomopathologiques caractéristiques au niveau du cerveau des malades décédés. Depuis un peu plus d'un siècle, de nombreuses avancées ont permis d'affiner la compréhension de la maladie mais beaucoup reste encore à apprendre...

1.1.2.1 Caractéristiques de la maladie d'Alzheimer

1.1.2.1.1 Marqueurs anatomopathologiques de la maladie d'Alzheimer

La maladie d'Alzheimer est caractérisée par la présence de **trois principaux types de marqueurs anatomopathologiques** : i) une accumulation intracérébrale de dépôts amyloïdes, ii) une hyperphosphorylation de la protéine Tau aboutissant à l'apparition de dégénérescences neurofibrillaires et iii) une neuroinflammation (29–31).

L'accumulation des dépôts amyloïdes intracérébraux résulte du clivage d'une protéine nommée APP (protéine précurseur de l'amyloïde ou amyloid precursor protein en anglais) (Figure 4). Cette protéine va pouvoir être clivée selon deux voies dites « amyloïdogénique » et « non amyloïdogénique » (32). La voie « amyloïdogénique » fait intervenir les enzymes β et γ -sécrétases et entraîne la formation d'un **peptide $a\beta$** existant sous différentes isoformes dont $a\beta$ 1-40 (80%) et $a\beta$ 1-42 (10%) (33).

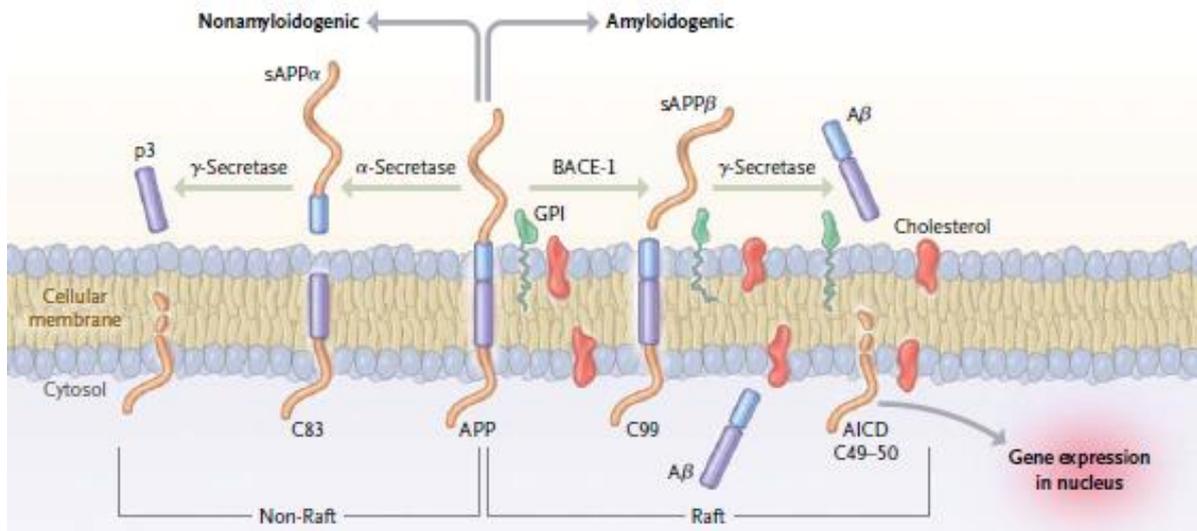


Figure 4 : D'après Querfurth (29), clivage de l'APP aboutissant à la formation du peptide amyloïde

Le clivage d'APP est alors responsable de l'accumulation de dépôts amyloïdes à la fois au niveau intra et extracellulaire. Au niveau extracellulaire, le peptide $A\beta$, ayant la capacité de s'auto-agréger, va entraîner la formation de dépôts soit diffus soit plus denses. Des dépôts de peptides $A\beta$ peuvent également exister dans la paroi des gros et des petits vaisseaux cérébraux (on parlera d'« angiopathie amyloïde »).

Les dépôts plus denses sont associés à différents éléments : une couronne de neurites² dystrophiques associés notamment à des amas de protéines tau et une inflammation locale. On parlera de « **plaques amyloïdes** » (23).

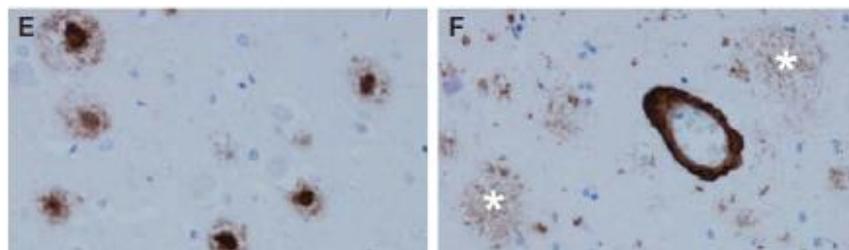


Figure 5 : D'après Dugger (23), dépôts amyloïdes existant dans le cadre de la maladie d'Alzheimer (détection par immunohistochimie)

E : plaques à centre dense, F : plaques diffuses (étoiles) et angiopathie amyloïde

² Prolongement du corps cellulaire d'un neurone qu'il s'agisse d'un axone ou d'une dendrite.

Aparté sur les outils diagnostiques en lien avec la pathologie amyloïde

Il est aujourd'hui possible d'identifier l'accumulation de dépôts amyloïdes intracérébraux antemortem grâce à différents examens. La **tomographie par émission de positons (TEP) amyloïde** (pour laquelle il existe différents ligands) permet d'estimer la charge amyloïde intracérébrale. Le **dosage des peptides amyloïdes au niveau du liquide cérébro-spinal (LCS)** permet de mettre en évidence une diminution de la concentration périphérique des peptides $A\beta$ en lien avec leur accumulation intracérébrale. Le dosage des peptides amyloïdes est également possible au niveau du **plasma**. Néanmoins, on sait aujourd'hui que **la charge amyloïde n'est pas un bon reflet de l'atrophie corticale** (et donc de l'apparition des troubles cognitifs) (32).

La **protéine Tau**, codée par le gène MAPT, est une protéine associée aux microtubules, structure permettant le transport de différents composants au sein de la cellule (vésicules, organelles...). Elle est impliquée dans leur stabilité et dans leur organisation. Elle existe en 6 isoformes au niveau du système nerveux central chez l'homme (34). Dans la maladie d'Alzheimer, cette protéine se retrouve **anormalement hyper-phosphorylée** (on parle de « pretangle » en anglais). Elle perd son affinité pour les microtubules entraînant leur désorganisation et altérant ainsi le transport axonal (Figure 6). La protéine va ensuite pouvoir s'auto-agréger en filaments aboutissant à la formation des **dégénérescences neurofibrillaires intracellulaires** (ou « neurofibrillary tangles » en anglais) que l'on peut retrouver au niveau du corps du neurone comme au niveau des axones et des dendrites (on parlera alors de « neuropil threads ») (Figure 7).

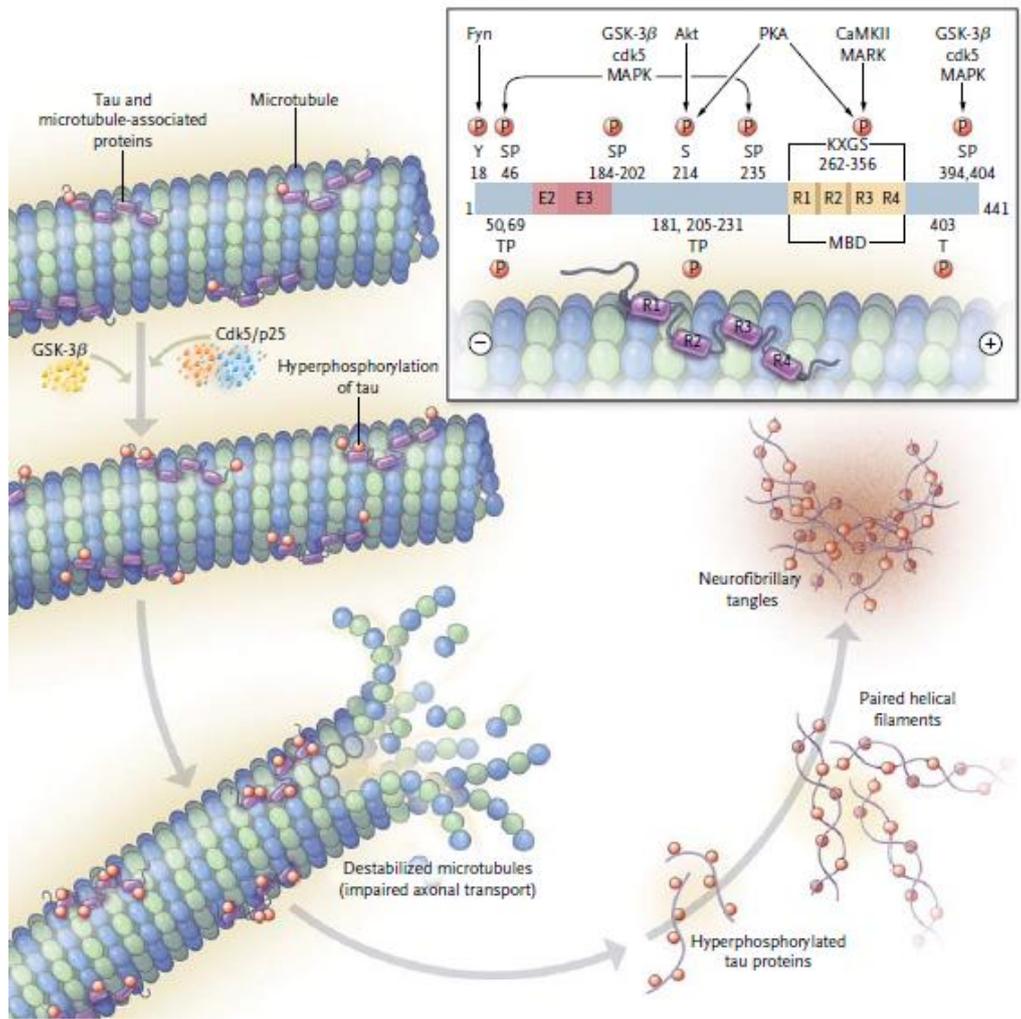


Figure 6 : D'après Querfurth (29), modification survenant au niveau de la protéine Tau dans le cadre de la maladie d'Alzheimer

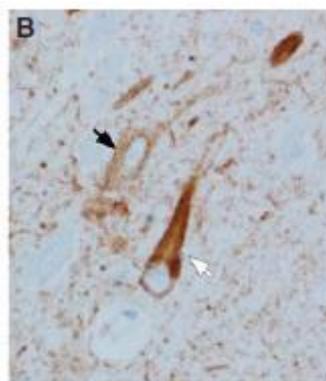


Figure 7 : D'après Dugger (23), dégénérescences neurofibrillaires dans le cadre de la maladie d'Alzheimer

Dégénérescence neurofibrillaire visible en immunohistochimie (flèche blanche)

Aparté sur les outils diagnostiques en lien avec la pathologie Tau et à l'atrophie corticale

Comme pour les dépôts amyloïdes, il est aujourd'hui possible d'identifier la présence de lésions associées à la protéine Tau ante-mortem grâce au **TEP-Tau** et au **dosage des protéines Tau totale (T-Tau) et Tau phosphorylée (P-Tau) qui sont augmentées aussi bien dans le LCS que dans le plasma.**

La densité de dégénérescences neurofibrillaires est bien corrélée à la perte neuronale identifiée par la mesure de l'atrophie corticale en **imagerie cérébrale par résonance magnétique (IRM)** ou par la mise en évidence d'un hypométabolisme au **TEP au ¹⁸F-fluorodeoxyglucose (35).**

La maladie d'Alzheimer est également caractérisée par la présence d'une **neuroinflammation** (36) mettant en jeu notamment l'activation des cellules microgliales (impliquées dans la phagocytose des plaques amyloïdes) et d'astrocytes, l'activation du système du complément et la sécrétion de cytokines.

Ces trois principaux marqueurs sont également associés à **de nombreuses autres anomalies** (29,37,38) comme, par exemple :

- Une dysfonction mitochondriale et un stress oxydatif.
- Des anomalies liées aux mécanismes d'endocytose et d'autophagie.
- Des réentrées anormales en cycle cellulaire.
- Des anomalies en lien avec le métabolisme du calcium et le métabolisme lipidique.
- Une perte synaptique.
- Une modification de la concentration de certains neurotransmetteurs (comme l'acétylcholine et le glutamate qui sont notamment la cible de certains traitements de la maladie).

Ces différentes anomalies aboutissent finalement à la **perte neuronale** et aux symptômes cliniques associés. Néanmoins, le mécanisme précis responsable de la perte neuronale reste encore mal compris.

1.1.2.1.2 Séquence topographique et symptômes cliniques associés

Les dépôts amyloïdes ainsi que les dégénérescences neurofibrillaires ne sont pas répartis de manière aléatoire dans le cerveau. Des études anatomopathologiques sur échantillons de cerveaux ont permis d'estimer **l'évolution typique de ces deux types de lésions au cours du temps.**

Concernant les **dégénérescences neurofibrillaires**, Braak et al (39–41) (Figure 8) ont décrit **une topographie très stéréotypée compatible avec une transmission trans-synaptique de la pathologie** de neurones en neurones suivant les réseaux neuronaux (41–43). Les lésions débuteraient ainsi au niveau du **noyau basal de Meynert** (44) **et du locus coeruleus** pour ensuite s'étendre au niveau des cortex trans-entorhinal et entorhinal du lobe temporal (stades I et II) puis au niveau des aires limbiques incluant l'hippocampe responsable des capacités mnésiques (stades III et IV) et enfin au niveau du néocortex³ (stades V et VI). A noter que des lésions tau sont également décrites dans d'autres régions comme les bulbes olfactifs (45,46), l'hypothalamus ou le thalamus (31) et qu'il existe un certain degré d'asymétrie de la pathologie entre les hémisphères (47).

³ Couche externe des hémisphères cérébraux

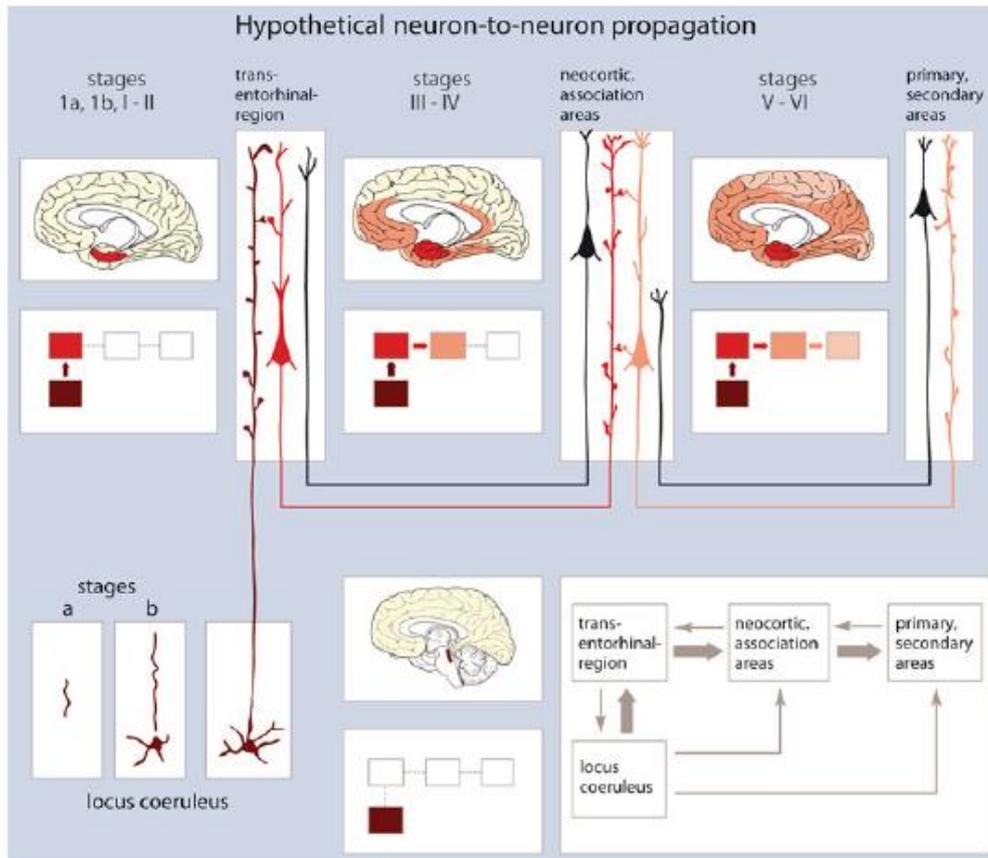


Figure 8 : D'après Braak (41), stades décrivant l'évolution de la pathologie Tau dans la maladie d'Alzheimer

La survenue des symptômes cliniques reflète dans une certaine mesure la topographie de la pathologie Tau. Ainsi, la **forme typique de la MA** se caractérise par une atteinte inaugurale de la mémoire épisodique (on parle de syndrome amnésique de type hippocampique ou temporal interne) qui va entraîner une difficulté à se rappeler des informations et à en mémoriser de nouvelles. Par la suite, au fur et à mesure que la maladie progresse dans les différentes aires cérébrales, d'autres déficits cognitifs vont apparaître (troubles exécutifs, aphasie, agnosie, apraxie).

A noter qu'il existe également des **phénotypes de MA dits « atypiques »** (48):

- L'aphasie progressive primaire logopénique associée à des troubles inauguraux du langage.
- L'atrophie corticale postérieure associée à un déficit inaugural des fonctions visuo-spatiales ou visuo-perceptives.

- La variante frontale de la MA associée à des troubles inauguraux de type changements comportementaux ou à un dysfonctionnement exécutif.

L'apparition des dépôts amyloïdes n'est pas superposable à celle de la pathologie Tau et sa topographie semble un peu moins stéréotypée. Néanmoins, deux classifications existent pour décrire leur évolution.

- La **classification de Braak** (39) (Figure 9) décrit l'évolution des dépôts au niveau du cortex : les dépôts se situent initialement au niveau des portions « basales » du cortex (stade A) pour ensuite s'étendre au néocortex (à l'exception des cortex primaires) et à l'hippocampe (stade B) puis à l'ensemble du néocortex (stade C).

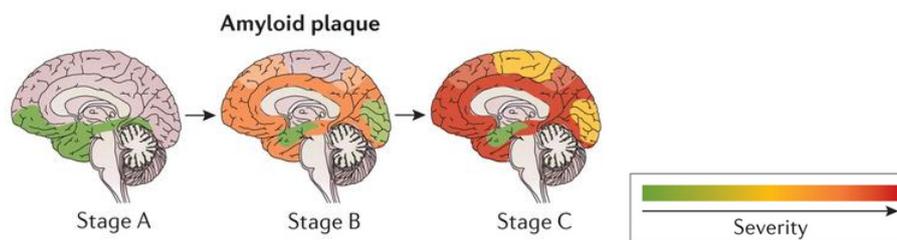


Figure 9 : D'après Masters (49), stades de Braak décrivant la répartition des lésions amyloïdes au niveau cortical

- La **classification de Thal** et al (50) (Figure 10) distingue cinq phases impliquant à la fois des structures corticales et non corticales. Les dépôts amyloïdes débutent au niveau du néocortex (phase 1) pour ensuite s'étendre à l'hippocampe et au cortex entorhinal (phase 2), puis au striatum et aux noyaux diencephaliques (phase 3) puis à différents noyaux du tronc cérébral (phase 4 puis 5) et au cervelet (phase 5).

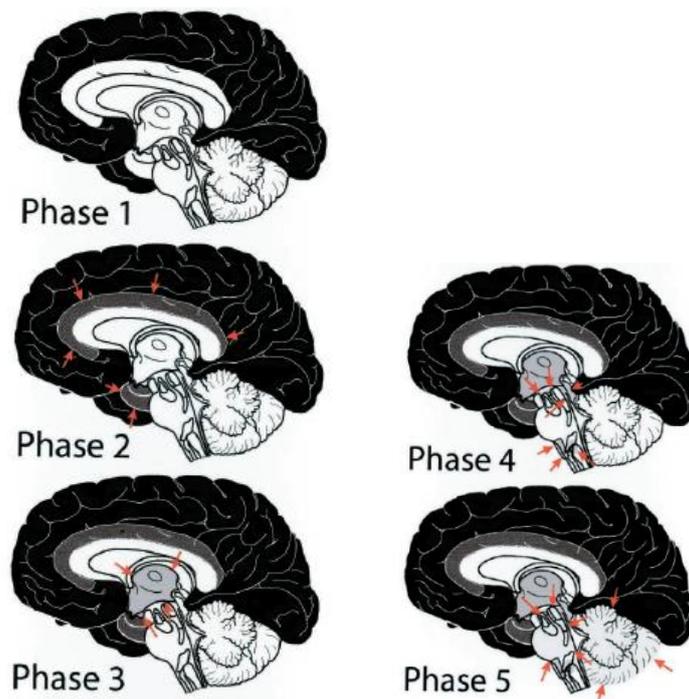


Figure 10 : D'après Thal (50), phases de Thal décrivant l'évolution des lésions amyloïdes

1.1.2.1.3 Séquence temporelle

La maladie d'Alzheimer est une maladie neurodégénérative, elle est donc par définition associée à une **évolution progressive des lésions et des symptômes associés**.

Ainsi, on peut distinguer **différentes phases de la maladie sur le plan clinique**. L'existence de troubles cognitifs isolés (stade de trouble neurocognitif mineur) précède l'apparition d'une dépendance (trouble neurocognitif majeur ou démence). Une fois le stade de démence atteint, la maladie va continuer à s'aggraver au cours du temps⁴ (Figure 11). On estime que le délai moyen entre l'apparition des premiers symptômes et le stade de démence est d'environ 12 ans (51,52).

A titre d'illustration, au stade léger de la forme typique de MA, le déficit cognitif va principalement toucher les capacités mnésiques et avoir un retentissement sur les activités de la

⁴ Le Mini Mental State Examination (MMSE) est souvent utilisé pour grader la sévérité de la démence (Annexe 1).

vie quotidiennes relativement complexes dites instrumentales (par exemple la gestion des factures, des médicaments) tandis qu'au stade sévère, les déficits cognitifs toucheront de multiples fonctions cérébrales et la perte d'autonomie pourra être totale.

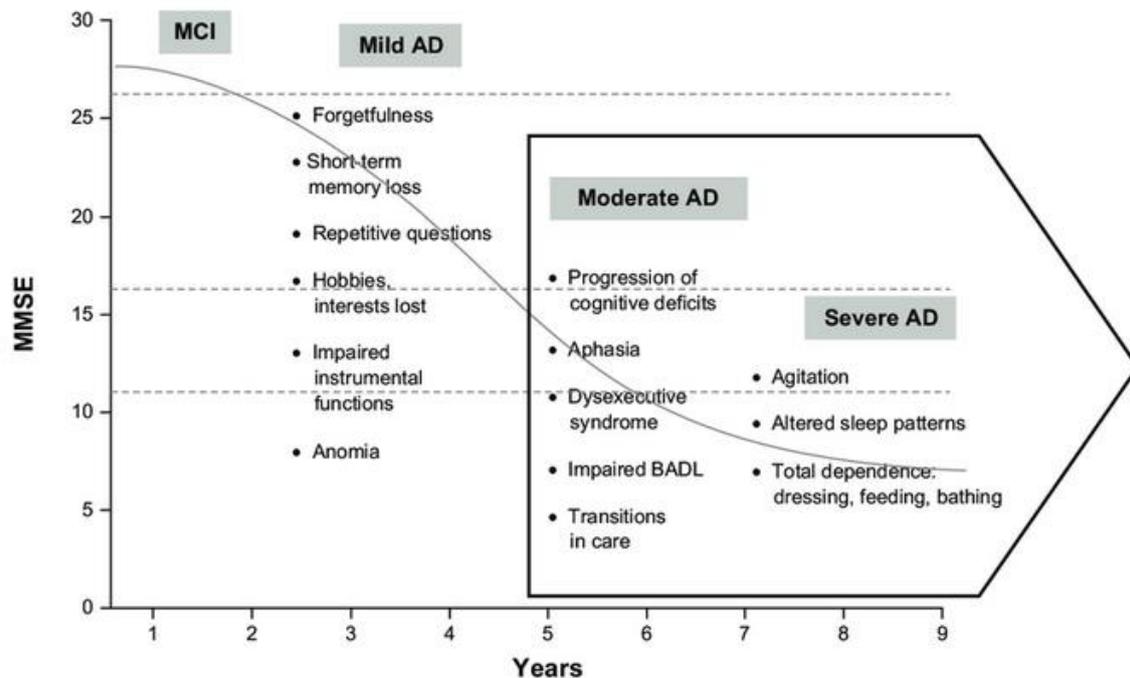


Figure 11 : D'après Ferris (53), progression des symptômes dans la maladie d'Alzheimer (adapté de Feldman et Woodward. *The staging and assessment of moderate to severe Alzheimer's disease. Neurology. 2005*)

AD: Alzheimer's disease, MCI: mild cognitive impairment, BADL: basic activities of daily living, MMSE: Mini Mental Score Examination

L'âge de début des symptômes permet de distinguer deux formes de MA.

- On parle de MA « à **début tardif** » (LOAD « Late Onset Alzheimer's Disease ») lorsque la maladie débute après 65 ans.
- On parle de MA « à **début précoce** » (EOAD « Early Onset Alzheimer's Disease ») avant 65 ans. Ces formes à début précoce représentent environ 10% des cas de maladie d'Alzheimer et parmi elles, environ 5 à 10% sont associées à des anomalies génétiques rares, de transmission autosomique dominante et dont la pénétrance est quasi complète, au niveau des gènes PSEN1 (chromosome 14), PSEN2 (chromosome 1) et APP (chromosome 21) (54). Ces gènes codent pour des molécules impliquées dans le

métabolisme de l'APP. Les sujets atteints de trisomie 21 ont également un risque augmenté de maladie d'Alzheimer à début précoce.

Néanmoins, **des anomalies en lien avec la maladie d'Alzheimer sont détectables bien avant l'apparition des symptômes** (on parle de MA asymptomatique ou pré-symptomatique (48)). On estime en effet que les biomarqueurs de la maladie d'Alzheimer précèdent de 15 à 20 ans l'apparition des premiers symptômes cliniques (49). Mais, s'il existe aujourd'hui un consensus pour dire que les pathologies amyloïde et tau précèdent l'apparition de l'atrophie cérébrale et les signes cliniques associés, **la séquence d'apparition entre dépôts amyloïdes et anomalies tau fait encore débat.**

D'une part, **l'hypothèse de la « cascade amyloïde »**, proposée par Hardy et al. (55,56) et illustrée par le modèle de Jack (35) (Figure 12), propose que l'accumulation de dépôts amyloïdes soit toxique et cause (et donc précède) la survenue de la pathologie tau ainsi que la perte neuronale. L'hypothèse du rôle initiateur et prépondérant de la pathologie amyloïde est notamment fondée sur i) le fait que les mutations génétiques affectant le métabolisme du peptide amyloïde (APP, PSEN1, PSEN2) sont associées au développement de la maladie d'Alzheimer (54,57) tandis que ce n'est pas le cas pour les mutations du gène MAPT codant pour la protéine Tau (58) et ii) sur des études réalisées en population âgée mettant en évidence la primauté de la pathologie amyloïde sur la pathologie Tau (35).

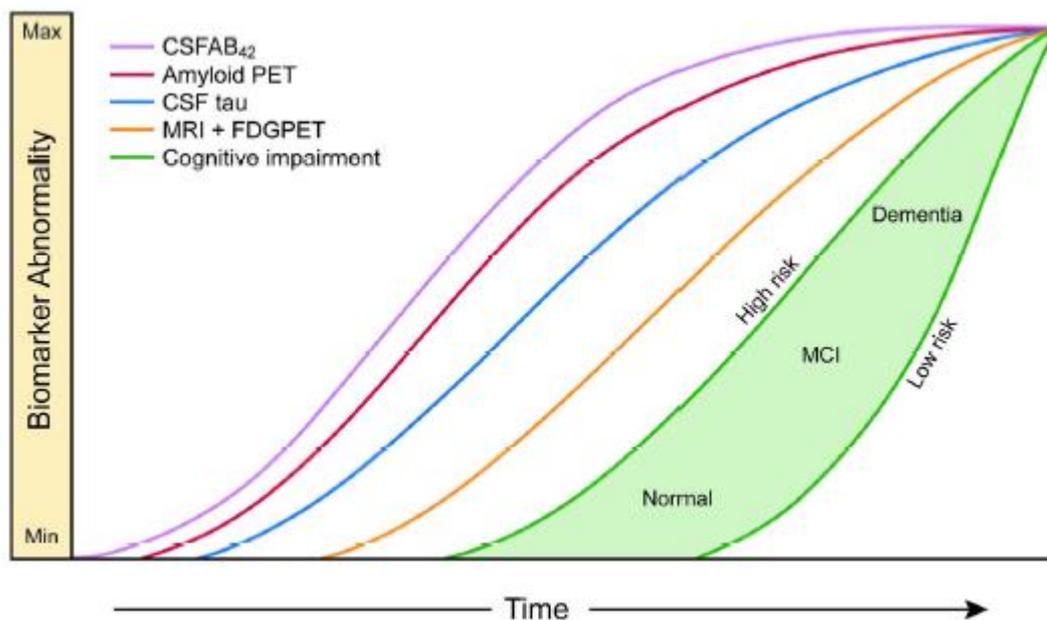


Figure 12 : D'après Jack (35), dynamique des biomarqueurs dans la pathologie Alzheimer - modèle révisé en 2012

Néanmoins, ce modèle essuie **plusieurs critiques** (32,59). Parmi celles-ci, on peut notamment citer que :

- La primauté de la pathologie amyloïde a été remise en question par certaines études anatomopathologiques ayant mis en évidence que la pathologie tau apparaissait de façon plus précoce que les plaques amyloïdes (39). Une étude anatomopathologique (60) réalisée sur 42 cerveaux de sujets de moins de 30 ans a ainsi mis en évidence que 90% des sujets présentaient une hyper-phosphorylation de la protéine Tau (« pretangles » identifiés par immunomarquage AT8) au niveau des axones du locus coeruleus et de certains noyaux du tronc cérébral et que, au même stade, 98% ne présentaient aucun dépôt amyloïde extracellulaire. Par ailleurs, cette étude a mis en évidence que la pathologie tau pouvait survenir à un âge très précoce (dès l'âge de 6 ans dans l'échantillon étudié). Face à ces critiques, Jack et al (35) ont notamment proposé que la tauopathie interviendrait en premier mais dans une proportion trop faible pour entraîner une maladie Alzheimer et que, plus tardivement, la pathologie amyloïde apparaîtrait de façon indépendante et agirait comme un accélérateur de la pathologie tau entraînant sa

propagation au niveau du cortex et la formation des dégénérescences neurofibrillaires responsables de la maladie d'Alzheimer.

- Différents éléments questionnent le rôle causal de la pathologie amyloïde : les échecs de la plupart des essais cliniques ayant ciblé le peptide $A\beta$ (59,61), la pénétrance incomplète de certaines mutations associées aux formes familiales de MA ou à une trisomie 21, y compris parfois avec la présence de plaques amyloïdes depuis une longue période (54,59,62), et enfin la mauvaise corrélation entre la charge amyloïde intracérébrale et la perte neuronale, aussi bien chez l'homme que dans certains modèles de souris transgéniques (32).

Ainsi la séquence temporelle des marqueurs anatomopathologiques de la maladie reste encore débattue reflétant la compréhension incomplète des relations existant entre ces différents marqueurs.

1.1.2.1.4 Susceptibilité génétique

Deux récentes méta-analyses d'études d'association pangénomiques⁵ (ou GWAS, genome wide association studies en anglais) (63,64) ont permis d'identifier **une trentaine de loci (et les gènes qui leur sont potentiellement associés) comme facteurs de risque génétiques de la maladie d'Alzheimer**. A titre d'exemple, les loci identifiés dans la méta-analyse réalisée par le « International Genomics of Alzheimer's Project » sont représentés dans la Figure 13.

⁵ Les études d'association pangénomiques permettent l'identification de variations génétiques situées à un endroit précis de l'ADN (ou locus) et associées à certaines pathologies. Différents moyens méthodologiques sont ensuite employés pour identifier le gène le plus susceptible d'être associé à chacune de ces variations.

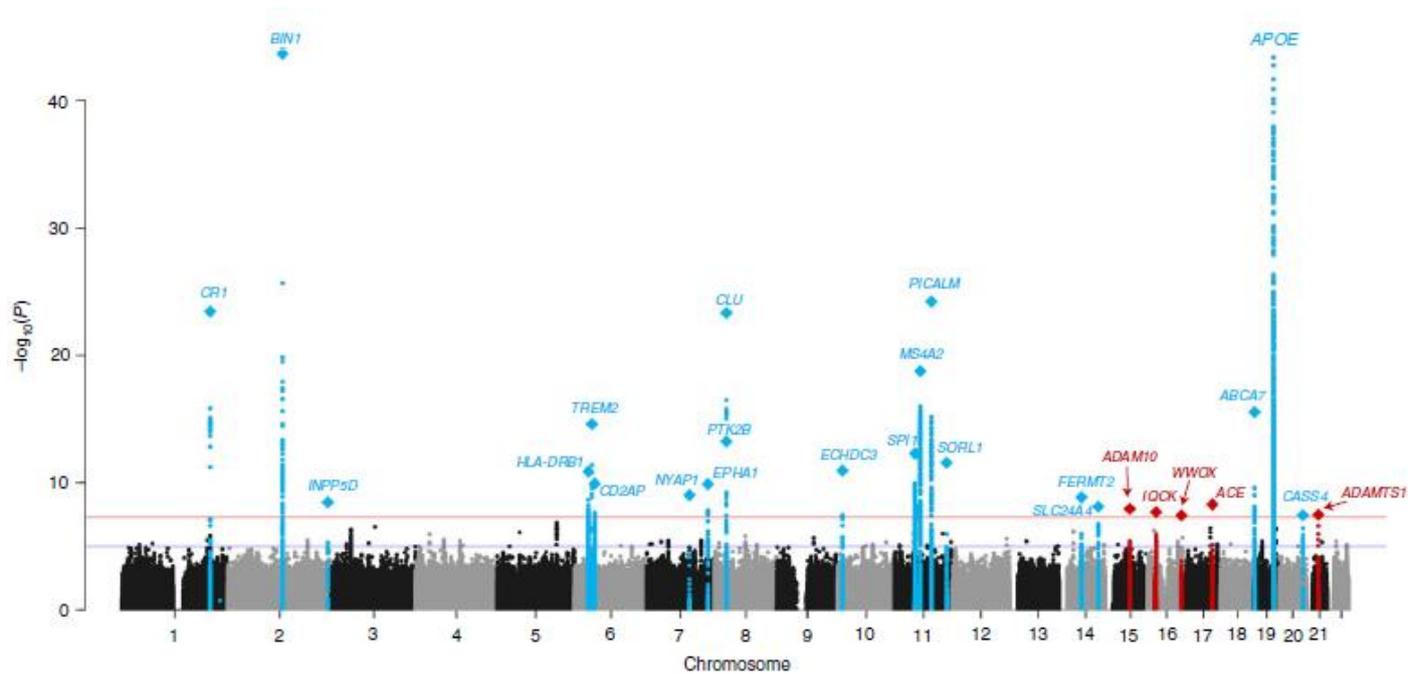


Figure 13 : D'après Kunkle (64), manhattan plot présentant les résultats de la méta-analyse des études d'association pangénomiques concernant la maladie d'Alzheimer.

Le trait rouge représente le seuil de significativité ($p < 5 \times 10^{-8}$). Les loci précédemment identifiés dans la méta-analyse de Lambert et al (65) sont représentés en bleu et les loci nouvellement identifiés dans cette méta-analyse en rouge.

L'identification de ces facteurs de risque a permis d'identifier certains **mécanismes potentiellement impliqués dans la physiopathologie de la maladie** (Figure 14) comme les métabolismes associés aux protéines tau et $\alpha\beta$ mais également le métabolisme lipidique, les défenses immunitaires, l'endocytose et les mécanismes en lien avec le développement axonal (63,64,66).

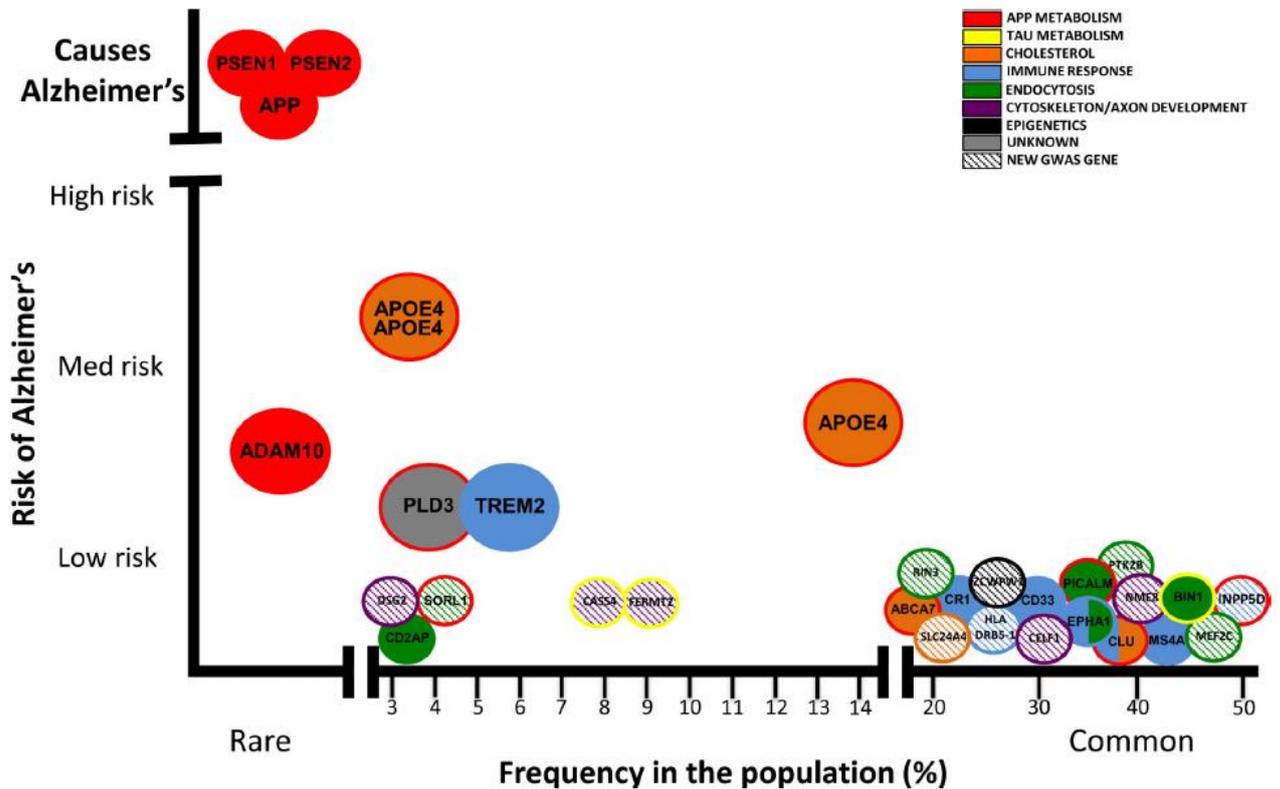


Figure 14 : D'après Karch (66), variants contribuant au risque de maladie d'Alzheimer et mécanismes potentiellement associés

Parmi les gènes identifiés (et en dehors des gènes PSEN1, PSEN2 et APP associés aux formes familiales de la maladie), le **gène APOE est le plus étudié** du fait à la fois d'une prévalence dans la population et d'un risque relatif associé à la MA relativement élevés. Le gène APOE, situé sur le chromosome 19, présente 5 allèles $\epsilon 1$, $\epsilon 2$, $\epsilon 3$, $\epsilon 4$ et $\epsilon 5$ codant pour différentes isoformes de la glycoprotéine APOE. L'allèle $\epsilon 3$ est le plus fréquent dans la population avec une prévalence variant entre 50-90%, il est suivi par l'allèle $\epsilon 4$ (5-35%) et l'allèle $\epsilon 2$ (1-5%) (67). On estime qu'être porteur d'un ou deux allèles $\epsilon 4$ augmente le risque de développer une MA d'environ 3 et 15 fois respectivement en comparaison avec les porteurs $\epsilon 3$ homozygotes. A contrario, l'allèle $\epsilon 2$ est associé à un risque diminué de MA avec un risque relatif de 0,6 (68,69). De plus, l'âge de début des symptômes est également influencé par le nombre d'allèles APOE $\epsilon 4$ et diminue d'une dizaine d'années pour les porteurs de l'allèle $\epsilon 4$ (70,71). Plusieurs mécanismes sont évoqués quant au rôle de la protéine APOE dans le développement de la MA (68,72) : i) il semble qu'elle participe à la régulation de l'agrégation et de la clairance des

dépôts amyloïdes intracérébraux, ii) elle est également impliquée dans le métabolisme lipidique ce qui pourrait avoir, au niveau du système nerveux central, des conséquences en termes de plasticité synaptique et de remodelage membranaire secondaire à l'apparition des lésions neuronales, iii) un rôle potentiel dans la régulation du métabolisme glucidique et dans la neuroinflammation est également évoqué.

1.1.2.2 **En pratique, diagnostic et prise en charge thérapeutique**

1.1.2.2.1 Diagnostic clinique et paraclinique

Le diagnostic de la maladie d'Alzheimer repose aujourd'hui sur un **faisceau d'arguments cliniques, biologiques et radiologiques** (30,73) :

- Une **évaluation cognitive et fonctionnelle** en faveur d'un profil clinique cohérent avec les critères diagnostiques définis
 - o soit dans le DSM V en 2013 par « the American Psychiatric Association » (2) (Tableau 3)
 - o soit en 1984 par “the National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke and the Alzheimer's Disease and Related Disorders Association” (NINCDS-ADRDA) (74) (Tableau 3)
- Une **IRM cérébrale** permettant à la fois d'éliminer la présence d'autres lésions susceptibles de causer les troubles cognitifs et de mettre en évidence une atrophie corticale. Cette atrophie est principalement localisée au niveau temporal et notamment hippocampique dans la forme typique de MA.
- Un **bilan biologique plasmatique** permettant d'éliminer certains diagnostics différentiels.
- Dans certains cas, seront également réalisés :
 - o Des **dosages intrathécaux** (dosage dans le LCS après réalisation d'une ponction lombaire). Un profil associant une augmentation de tau total, tau phosphorylée et une diminution $\alpha\beta 1-42$ est en faveur d'une maladie d'Alzheimer.

- Une imagerie métabolique de type **TEP au ^{18}F -fluorodeoxyglucose** mettant en évidence un hypométabolisme au niveau des cortex temporaux, pariétaux et cingulaires postérieurs.

Tableau 3 : Critères diagnostiques de la maladie d'Alzheimer selon DSMV et NINCDS-ADRDA

NINCDS-ADRDA	DSM V
<p>1. Critères pour un diagnostic clinique de MA PROBABLE</p> <ol style="list-style-type: none"> Syndrome démentiel établi sur des bases cliniques et documenté par le MMSE, 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 <p>2. Le diagnostic de MA PROBABLE est renforcé par :</p> <ol style="list-style-type: none"> 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: <ul style="list-style-type: none"> -normalité du liquide cérébro-spinal -EEG normal ou siège de perturbations non spécifiques comme la présence d'ondes lentes -présence d'atrophie cérébrale d'aggravation progressive <p>3. Autres caractéristiques cliniques compatibles avec le diagnostic de MA PROBABLE après exclusion d'autres causes :</p> <ol style="list-style-type: none"> 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 	<ol style="list-style-type: none"> Les critères du trouble neurocognitif majeur (démence) ou du trouble neurocognitif léger sont rencontrés. Début insidieux et progression graduelle d'une déficience dans un ou plusieurs domaines cognitifs (pour le trouble neurocognitif majeur, au moins deux domaines). <p>3. Pour le trouble neurocognitif majeur :</p> <p>> la MA PROBABLE est diagnostiquée si une des conditions suivantes est présente</p> <ol style="list-style-type: none"> Évidence d'une mutation génétique responsable de la maladie d'Alzheimer selon l'histoire de la famille ou des tests génétiques. Les trois éléments suivants sont présents : <ol style="list-style-type: none"> Évidence claire de déclin de la mémoire et de l'apprentissage et d'au moins un autre domaine cognitif (basée sur l'histoire détaillée ou des tests neuropsychologiques). Déclin progressif régulier de la cognition, sans plateaux prolongés. Aucune évidence d'étiologie mixte (c'est-à-dire, absence d'autres maladies neurodégénérative ou cérébro-vasculaire, ou d'une autre maladie neurologique, mentale ou systémique ou d'une condition susceptible de contribuer au déclin cognitif). <p>> autrement, la MA POSSIBLE doit être diagnostiquée.</p> <p>Pour le trouble neurocognitif léger :</p> <p>> la MA PROBABLE est diagnostiquée</p> <ol style="list-style-type: none"> s'il y a évidence d'une mutation génétique responsable de la maladie d'Alzheimer provenant de tests génétiques ou des antécédents familiaux. <p>> la MA POSSIBLE est diagnostiquée</p> <ol style="list-style-type: none"> s'il n'y a pas d'évidence d'une mutation génétique responsable de la maladie d'Alzheimer provenant de tests génétiques ou de l'histoire de la famille,

<p>maladie, notamment des signes moteurs tels qu'une hypertonie, des myoclonies ou des troubles de la marche.</p> <p>c. Crises comitiales aux stades tardifs</p> <p>d. Scanner cérébral normal pour l'âge</p> <p>4. Signes rendant le diagnostic de MA PROBABLE incertain ou improbable : Début brutal</p> <p>a. Déficit neurologique focal tel qu'hémi-parésie, hypoesthésie, déficit du champ visuel, incoordination motrice à un stade précoce</p> <p>b. Crises convulsives ou troubles de la marche en tout début de maladie</p> <p>5. Le diagnostic clinique de la MA POSSIBLE :</p> <p>a. 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</p> <p>b. 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</p> <p>c. Pourrait être utilisé en recherche clinique quand un déficit cognitif sévère progressif est identifié en l'absence d'autre cause identifiable.</p> <p>6. Les critères pour le diagnostic de MA CERTAINE sont :</p> <p>a. Les critères cliniques de la maladie d'Alzheimer probable</p> <p>b. Et la preuve histologique apportée par la biopsie ou l'autopsie.</p>	<p>b. et les trois des éléments suivants sont présents :</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Évidence claire de déclin de la mémoire et de l'apprentissage 2. Déclin progressif régulier de la cognition, sans plateaux prolongés. 3. Aucune évidence d'étiologie mixte (c'est-à-dire, absence d'autres maladies neurodégénérative ou cérébrovasculaire, ou d'une autre maladie neurologique, ou systémique ou d'une condition susceptible de contribuer au déclin cognitif). <p>4. La perturbation n'est pas mieux expliquée par une maladie cérébrovasculaire, une autre maladie neurodégénérative, les effets d'une substance ou d'un autre trouble mental, neurologique ou systémique.</p>
--	---

Dans le **contexte de la recherche**, d'autres examens sont disponibles comme, par exemple le dosage plasmatique des peptides $a\beta$ et tau, la réalisation de TEP amyloïde et tau permettant d'évaluer la quantité et la topographie des lésions intracérébrales ou la réalisation de séquences particulières d'IRM cérébrale comme l'imagerie par tenseur de diffusion (ou DTI « diffusion tensor imaging ») permettant d'étudier la microstructure de la substance blanche.

En 2014, de **nouveaux critères diagnostiques destinés à une utilisation en recherche** ont ainsi été définis par "the International Working Group" et "the US National Institute on Aging–Alzheimer's" (48) prenant en compte certains de ces examens. La **classification A/T/N** a également été proposée plus récemment par Jack et al (75) permettant de classer les différents cas en fonction de la présence de biomarqueurs amyloïdes (TEP amyloïde ou $a\beta$ 1-42 dans le LCS), de biomarqueurs Tau (TEP tau ou P-Tau dans le LCS) et de biomarqueurs de neurodégénération (TEP au fluorodeoxyglucose, IRM structurelle ou T-Tau dans le LCS).

1.1.2.2.2 Prise en charge thérapeutique

La **prévention de la maladie d'Alzheimer** repose sur le dépistage et la prise en charge des facteurs de risque modifiables de démence, ceci à différents âges de la vie. Parmi les mesures proposées au niveau individuel ou sociétal, on peut notamment citer (18) : la prévention du tabagisme, de la consommation excessive d'alcool et de la pollution aérienne, la prévention des traumatismes crâniens, le maintien d'un équilibre tensionnel, la prévention de l'obésité et du diabète, la pratique d'une activité physique et la prise en charge des troubles sensoriels et des troubles du sommeil.

Concernant les traitements médicaments, il n'existe à ce jour **aucun traitement étiologique** de la maladie d'Alzheimer disposant d'une autorisation de mise sur le marché en France. Néanmoins, **plusieurs essais cliniques** sont actuellement en cours (76) ciblant les étapes clés du développement de la maladie. On peut par exemple citer les essais visant à éliminer, grâce à l'utilisation d'anticorps, la protéine β -amyloïde (majorité des essais) ou la protéine Tau.

Certains **traitements symptomatiques** existent néanmoins. En France, il existe quatre molécules dont l'objectif est d'influer sur le déclin cognitif en agissant sur la biodisponibilité de certains neurotransmetteurs :

- **Trois inhibiteurs de la cholinestérase** (ou anti-cholinestérasiques) empêchent la dégradation de l'acétylcholine au niveau du système nerveux central
 - Le Donépézil (prise orale) : Aricept®.
 - La Rivastigmine (prise orale ou dispositif transdermique) : Exelon®.
 - La Galantamine (prise orale) : Reminyl®.
- **Un antagoniste des récepteurs NMDA du glutamate** (ou anti-glutamate) limite la libération du glutamate au niveau du système nerveux central
 - La mémantine (prise orale) : Ebixa®.

Ces traitements ont actuellement une autorisation de mise sur le marché uniquement aux phases démentielles de la maladie⁶ (77) et leur utilisation est recommandée en monothérapie :

- Au stade léger (MMSE > 20) pour les anti-cholinestérasiques.
- Au stade modéré (MMSE entre 10 et 20) pour les anti-cholinestérasiques ou la mémantine.
- Au stade sévère (MMSE <10) pour la mémantine.

A noter néanmoins qu'en 2016, la réévaluation du Service Médical Rendu de ces quatre traitements par la Commission de Transparence de la Haute Autorité de Santé a entraîné leur **déremboursement total** par l'Assurance Maladie à compter du 1^{er} août 2018 (78). En effet, leur efficacité était considérée comme modeste sur les troubles cognitifs, sans bénéfice établi sur les troubles du comportement, la qualité de vie, l'autonomie, l'entrée en institution ou la mortalité et avec un risque d'évènements indésirables parfois graves⁷ (77,79–82). Cette décision, contestée par une partie du milieu médical, soulève de nombreux débats et entraîne un risque d'inégalité d'accès aux soins. En effet, si ces médicaments restent disponibles à la prescription et prescrits par une partie des médecins, le coût du traitement est aujourd'hui à la charge du patient.

A ces quatre molécules, s'ajoute également les **traitements psychotropes** qui doivent être utilisés avec précaution comme traitements symptomatiques des troubles comportementaux.

⁶ A noter que les inhibiteurs de la cholinestérase sont également utilisés dans le cadre des démences liés à la maladie de Parkinson et dans les démences à corps de Lewy.

⁷ Ex : troubles de conduction auriculoventriculaire, vertige, confusion, hypertension artérielle, troubles digestifs, interactions médicamenteuses...

La prise en charge est également **non médicamenteuse** pouvant faire intervenir par exemple des techniques de stimulation cognitive (atelier mémoire, accueil de jour, rééducation orthophonique, rééducation cognitive...) mais également une prise en charge psycho-sociale (73) dont l'objectif est avant tout de préserver la qualité de vie des patients et de leurs aidants tout en palliant à la perte d'autonomie progressive du patient. Pour cela, il s'agit de mettre en place au moment adéquat des aides humaines, matérielles, financières, légales et de structures de répit pour les aidants.

1.1.3 Introduction à l'hypothèse infectieuse

Comme nous l'avons vu précédemment, la cause de la maladie d'Alzheimer reste aujourd'hui mal comprise et l'hypothèse de la « cascade amyloïde », actuellement la plus plébiscitée, présente certaines limites. Une **hypothèse alternative/complémentaire est celle de l'implication d'agents infectieux dans la survenue de la maladie** (83,84). Cette hypothèse, investiguée dès le début des années 1980, a vu le jour notamment suite à la mise en évidence de certains pathogènes au sein du système nerveux central des personnes âgées et à l'existence de certaines similarités topographiques et/ou anatomopathologiques entre ces infections et la maladie d'Alzheimer (85).

Si cette hypothèse a d'abord rencontré un certain scepticisme de la part de la communauté scientifique, la remise en question de l'hypothèse amyloïde (notamment suite aux échecs de la majorité des thérapies anti-amyloïdes à ce jour) ainsi que certains résultats récents comme la mise en évidence du rôle antimicrobien du peptide a β (86) ravivent l'intérêt pour cette hypothèse. Aujourd'hui investiguée par de nombreuses équipes à travers le monde, elle reste néanmoins relativement controversée...

Dans le cadre de cette hypothèse, différents germes ont été suspectés parmi lesquels on peut citer la famille des Herpès virus ainsi que certaines bactéries ou champignons (*Chlamydia Pneumoniae*, certains spirochètes comme *Borrelia Burdgorferi*, *Phorphyromonas gingivalis*...) (83). Parmi eux, **le virus Herpès Simplex de type 1 (HSV-1) est le candidat ayant été le plus étudié** (83,87) **et celui sur lequel nous nous concentrerons dans cette thèse**. Ainsi, avant de

développer les éléments sous-tendant son implication dans la maladie d'Alzheimer, nous présenterons dans la partie 1.2 certaines de ses caractéristiques.

Points clés sur la démence et la maladie d'Alzheimer

- La démence, définie comme l'apparition de troubles cognitifs associés à un retentissement fonctionnel, est un enjeu majeur de santé publique étant donné i) sa prévalence importante (estimée à 50 millions de personnes dans le monde en 2015 et à 75 millions en 2030) et ii) ses conséquences majeures pour le malade, son entourage et la société.
- Si certains facteurs de risque sont aujourd'hui bien identifiés, l'étiologie de la plupart des démences de type neurodégénératives reste encore inconnue. Parmi cet ensemble de maladies aux phénotypes très variés, la maladie d'Alzheimer semble largement représentée, qu'elle soit isolée ou associée à d'autres pathologies.
- La maladie d'Alzheimer est caractérisée par la présence de trois principaux marqueurs anatomopathologiques : i) l'accumulation de dépôts amyloïdes intracérébraux, ii) l'hyperphosphorylation de la protéine Tau associée à la présence de dégénérescences neurofibrillaires et iii) la présence d'une neuroinflammation. Le tout aboutit à une perte neuronale responsable des symptômes cliniques.
- L'apparition de ces différents marqueurs suit une séquence topographique assez stéréotypée et la pathologie Tau semble la mieux corrélée à l'atrophie corticale et aux symptômes cliniques. Le phénotype clinique « typique » de la maladie d'Alzheimer se caractérise ainsi par des troubles mnésiques inauguraux suivis par l'apparition de troubles cognitifs plus variés.
- L'évolution de la maladie se fait de manière progressive avec un âge de début > à 65 ans dans le cadre de la maladie d'Alzheimer dite « à début tardif ». Les premières lésions de la maladie peuvent précéder d'environ 15-20 ans les premiers symptômes cliniques. La séquence d'apparition des différents marqueurs de la maladie reste discutée et reflète les interrogations quant au processus physiopathologique sous-jacent. La mise en évidence de différents facteurs de risque génétiques éclaire en partie les mécanismes sous-jacents mais beaucoup reste encore à comprendre.
- Sur le plan pratique, les moyens diagnostiques se développent de plus en plus permettant d'affiner le diagnostic étiologique en ante mortem. À l'inverse, les moyens thérapeutiques à la disposition des cliniciens restent peu nombreux et d'efficacité modeste.

1.2 Le virus Herpès Simplex de type 1 (HSV-1)

1.2.1 Carte d'identité du virus HSV-1

1.2.1.1 La famille des *Herpesviridae*

Le virus Herpès simplex de type 1 (HSV-1) appartient à la **famille des *Herpesviridae*** (88) qui comprend notamment huit virus pouvant infecter l'homme, les Herpès Virus Humains (HHV) :

- HHV1 : Herpès simplex virus de type 1, HSV-1
- HHV2 : Herpès simplex virus de type 2, HSV-2
- HHV3 : Virus de la varicelle ou du zona, VZV
- HHV4 : Epstein Barr virus, EBV
- HHV5 : Cytomégalovirus, CMV
- HHV6 : Herpès virus humain 6A et 6B, HHV6A et HHV6B
- HHV7 : Herpès virus humain 7, HHV7
- HHV8 : Herpès virus associé au sarcome de Kaposi, KSHV.

Ces virus ont notamment en commun leur structure similaire et leur séquence d'infection qui se déroule en trois phases (primo-infection, latence et réactivations). Ils se distinguent cependant par leur tropisme cellulaire et la symptomatologie en rapport.

1.2.1.2 La structure du virus HSV-1

La particule virale infectieuse HSV-1 (ou virion) mesure environ 200 nm de diamètre et est constituée de différents compartiments (Figure 15) (89):

- Une molécule d'ADN double brin, linéaire
- Une capsid protéique, sorte de « cage » enveloppant l'ADN
- Le tégument, une couche contenant des protéines et ARN messagers viraux
- L'enveloppe externe, membrane lipoprotéique à deux couches (issue de membranes cellulaires) recouverte de spicules, les glycoprotéines virales qui déterminent notamment l'infectiosité du virus.

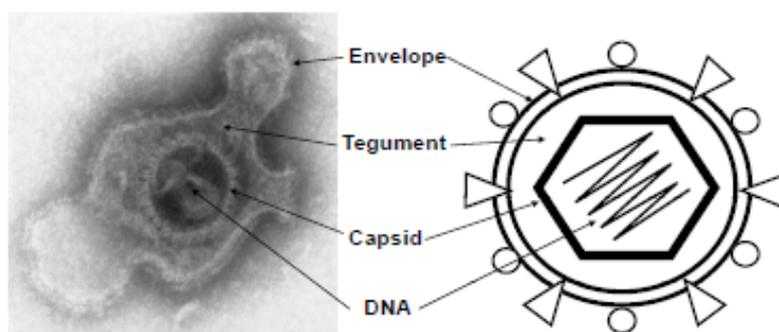


Fig. (1). Morphology of herpes simplex virus particle. Left : virus particle visualized by transmission electron microscopy (kindly provided by P. Lebon). Right : schematic representation of virus particle through a cross section of envelope and capsid.

Figure 15 : D'après Rozenberg [69], structure du virus Herpès Simplex de type 1

1.2.2 Une infection qui se déroule en trois phases

1.2.2.1 Primo-infection, latence, réactivations : aspects cliniques

1.2.2.1.1 Transmission

La primo-infection à HSV-1, premier contact infectant avec le virus, a généralement lieu dans l'enfance (90). La transmission se fait par contacts cutanéomuqueux avec un sujet excréteur du virus (que ce soit à l'occasion d'une primo-infection ou d'une réactivation). La transmission est strictement interhumaine car l'homme est le seul réservoir du virus (spécificité d'espèce) et, du fait de la fragilité du virus dans le milieu extérieur, la transmission nécessite généralement des contacts étroits (91,92).

Le virus HSV-1 étant **classiquement responsable d'atteintes de la partie haute du corps** (muqueuses bucco-pharyngées, oculaires, nasales, peau), la transmission se fait notamment par le biais de la salive (ex : baisers). A noter que les lésions de type herpès génital sont la plupart du temps en lien avec une infection à HSV-2 dont la transmission se fait plus tard dans la vie principalement lors de rapports sexuels. Néanmoins, cette répartition topographique n'est pas

absolue (93) et il existe des atteintes génitales à HSV-1 et des atteintes bucco-pharyngées à HSV-2.

Différents facteurs sont connus pour favoriser la transmission : l'existence de lésions cutanéomuqueuses, un contact dans les premières heures suivant la formation des vésicules (excrétion de virus plus importante), le caractère asymptomatique des réactivations (moins de précautions prises quant à un risque de transmission).

1.2.2.1.2 Primo-infection

La primo-infection à HSV-1 est la plupart du temps asymptomatique. Lorsqu'elle est symptomatique, les **symptômes reflètent la diversité du site de primo-infection** (description des différents symptômes dans le Tableau 4) (91,92). Le dénominateur commun est souvent la présence de vésicules, classiquement regroupées « en bouquet ».

Le diagnostic est clinique mais, en cas de présentation atypique, compliquée ou dans le cadre d'un herpès génital survenant au cours de la grossesse, la détection du virus (inoculation en culture de cellules, détection d'antigènes ou d'ADN viraux) au niveau du contenu des vésicules ou de divers liquides biologiques ainsi que la réalisation de sérologies herpétiques peuvent aider au diagnostic (94).

Tableau 4 : Symptomatologie associée à la primo-infection HSV-1 et à ses récurrences (hors cas particuliers)

Localisation	Primo-infection	Récurrences (réactivations symptomatiques)
Oro-pharyngée	<p>> Le plus souvent asymptomatique</p> <p>> Gingivo-stomatite aigue chez l'enfant à partir de 6 mois : quelques jours après la primo-infection (3 à 6 jours), tableau associant une fièvre importante, des adénopathies cervicales et des lésions au niveau des gencives (saignements), de la muqueuse buccale (ulcérations recouvertes d'un enduit blanchâtre) ainsi que des lèvres ou du menton (vésicules groupées en bouquet). Il existe également une augmentation de la salivation et une haleine fétide. Le retentissement sur l'état général peut être majeur avec un malaise général, des douleurs et une dysphagie rendant l'alimentation impossible ; néanmoins la guérison est spontanée dans les 2 semaines.</p> <p>> Pharyngite ou angine chez l'adulte</p>	<p>> Herpès labial (« bouton de fièvre ») : signes prodromiques à type de brûlures ou de prurit suivi par l'apparition de vésicules en bouquets à la jonction entre la peau et les lèvres. Evolution favorable en quelques jours.</p>
Oculaire	<p>> Kérato-conjonctivite : souvent unilatérale, association d'une rougeur de la conjonctive, de larmoiements, d'une photophobie et de douleurs. Des vésicules peuvent être présentes au niveau des paupières ou de la conjonctive. Adénopathie prétragienne. Risque de cécité cornéenne ou d'uvéïte. Contre-indication à une corticothérapie.</p>	
Cutanée	<p>> Formes cutanées pouvant atteindre toutes les parties du corps. La surinfection de lésions cutanées préexistantes, comme l'eczéma ou la dermatite atopique, entraîne un risque de dissémination systémique grave.</p> <p>> Herpès nasal : présence de vésicules au niveau des narines associé à une obstruction nasale</p>	
Génital	<p>> Atteinte génitale (symptomatique dans environ 1/3 des cas)</p> <p>Chez la femme : apparition de vésicules en bouquet sur les lèvres, la vulve, le périnée, les parois du vagin, le col, parfois l'anus et la peau alentour. Les vésicules sont rapidement suivies d'érosions à contours polycycliques avec un enduit blanchâtre et associées à des douleurs importantes.</p> <p>Chez l'homme : vésicules en bouquet au niveau du pénis, du gland ou du méat urinaire. Symptômes moins intenses que chez la femme.</p> <p>Atteinte anale (isolée ou non) possible dans les deux sexes.</p> <p>Association à une fièvre, un malaise général et des adénopathies inguinales sensibles.</p> <p>Après une incubation de 2 à 7 jours, les signes cliniques et la cicatrisation des lésions peuvent durer plusieurs semaines.</p>	<p>> Apparition de bouquets de vésicules au niveau du site de la primo-infection, suivis d'ulcérations. Moins douloureux que la primo-infection.</p> <p>Prodromes à type de brûlures, douleurs, prurit, picotements.</p> <p>Disparition en une semaine environ.</p>

1.2.2.1.3 Latence

Après la primo-infection, le virus HSV-1 va persister dans l'organisme sous forme latente tout au long de la vie. Comme les autres Herpès virus de la sous-famille des alpha-herpès virus⁸ (HSV-2 et VZV), le virus HSV-1 emprunte les axones des nerfs sensitifs innervant le site de primo-infection⁹ et va établir son lieu de latence dans le ganglion neuro-sensitif correspondant (95). En cas d'atteinte bucco-pharyngée, le virus HSV-1 emprunte le nerf trijumeau (responsable notamment de l'innervation sensitive de la face et de la cornée). Il s'établit ensuite au niveau du ganglion trigéminal (également appelé ganglion de Gasser, ganglion trigéminé ou semi-lunaire) qui se situe à la base du crâne au niveau du rocher de l'os temporal. Il est protégé dans un dédoublement de la dure-mère, le cavum trigéminal ou de Merckel (Figure 16).

A noter qu'en cas d'infection *génitale* à HSV-1 (ou à HSV-2), le site de latence se situe au niveau des ganglions spinaux sacrés (responsable de l'innervation sensitive de la sphère génitale).

La phase de latence est cliniquement asymptomatique.

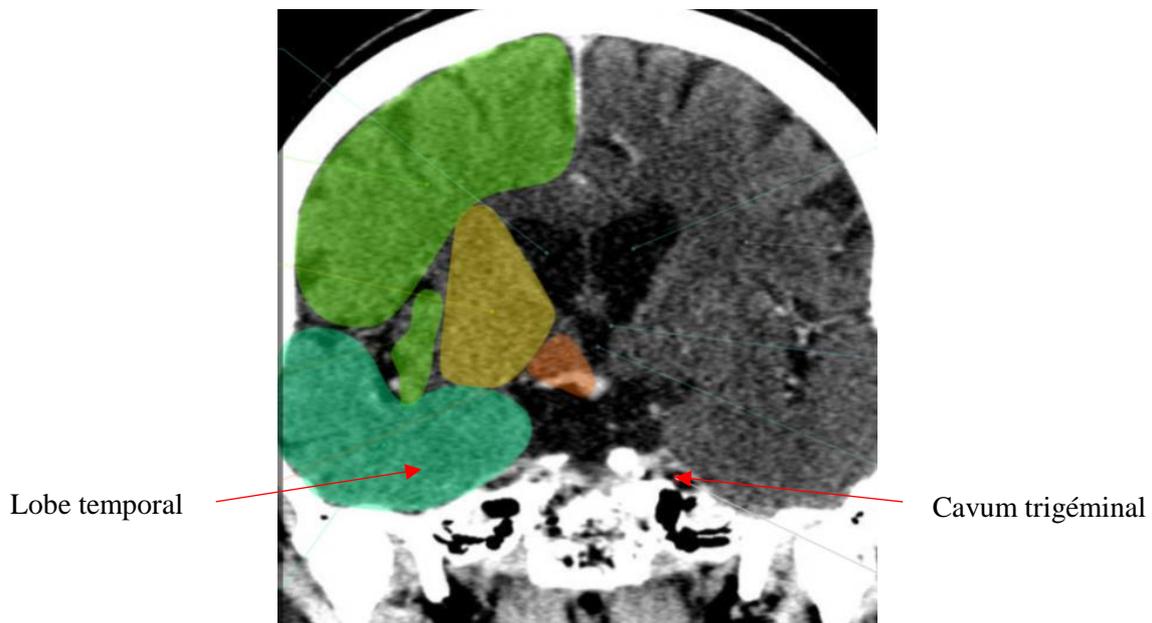


Figure 16 : Emplacement du ganglion trigéminal au sein du cavum trigéminal

(Image issue du site : <https://www.imaios.com>)

⁸ Les sites de latence des autres sous-familles d'herpès virus sont variés incluant notamment certaines cellules épithéliales et sanguines (lymphocytes, monophages-macrophages, moelle osseuse...).

⁹ La diffusion par voie sanguine est rare.

1.2.2.1.4 Réactivations

Une fois établi dans l'organisme, **le virus HSV-1 va ensuite périodiquement se réactiver**. Les réactivations peuvent être **soit asymptomatiques** (simple excrétion du virus dans un liquide biologique tel que la salive par exemple) **soit symptomatiques (on parlera alors de récurrences)**.

La symptomatologie est également déterminée par le site de primo-infection (symptômes décrits dans le Tableau 4).

1.2.2.1.5 Aparté sur les formes graves de l'infection à HSV

Sur certains terrains, l'infection à HSV-1 peut entraîner des formes cliniques graves (91) telles que :

- Chez la femme enceinte et son bébé :
 - Risque d'hépatite fulminante ou d'encéphalite chez la mère en cas de primo-infection
 - Risque d'infection in utero du bébé pouvant entraîner avortement, atteintes neurologiques, oculaires ou cardiaques ou retard de croissance en cas de primo-infection avec virémie de la mère (par passage transplacentaire du virus)
 - Risque d'infection du nouveau-né lors de l'accouchement ou dans les premiers jours de vie avec risques d'atteintes neurologiques, d'infection systémique et de décès.
- Chez le sujet atopique :
 - Risque de gingivostomatite grave
 - Risque de syndrome de Kaposi-Juliusberg en cas d'infection sur des lésions d'eczéma
- Chez le sujet immunodéprimé :
 - Risque de méningo-encéphalite
 - Risque d'hépatite, d'œsophagite, pneumopathie
 - Risque d'atteinte cutanée grave avec lésions nécrotiques

Nous nous limiterons ici à la description détaillée des atteintes *neurologiques* graves liées à HSV-1.

La méningo-encéphalite herpétique est une infection rare dont la prévalence est estimée à 2-4 cas par million d'habitants et par an (96). Elle est principalement due au virus HSV-1.

Le tableau clinique regroupe (96–98):

- Une fièvre associée à un syndrome méningé (céphalées, raideur de nuque, nausées, vomissements, photophobie) et à l'installation rapide en quelques jours de troubles mnésiques, de crises convulsives temporales, de troubles du langage ou du comportement révélant une atteinte temporale.
- L'IRM cérébrale retrouve des lésions fronto-temporales bilatérales asymétriques.
- La ponction lombaire retrouve une méningite lymphocytaire normoglycorachique et la positivité de la PCR¹⁰ HSV signe le diagnostic (mais la négativité de la PCR n'élimine pas le diagnostic car elle peut mettre quelques jours à se positiver).
- L'anatomopathologie retrouve des lésions nécrotiques et hémorragiques et une infiltration lymphocytaire périvasculaire.

La physiopathologie de la maladie est encore mal connue. Elle peut survenir à tout âge mais prédomine à deux âges de la vie : avant 3 ans et après 50 ans (99), probablement suite à une primo-infection dans le premier cas et à une réactivation ou à une ré-infection dans le second. Décrite chez des sujets immunodéprimés, elle survient également chez des sujets immunocompétents.

Sans traitement, la mortalité est de l'ordre de 70%. Il s'agit ainsi d'une urgence thérapeutique nécessitant un traitement antiviral intraveineux par aciclovir.

¹⁰ PCR (Polymerase chain reaction) : technique permettant de mettre en évidence l'ADN viral.

1.2.2.2 **Primo-infection, latence, réactivations : aspects cellulaires**

De manière très succincte, nous décrirons dans les lignes suivantes quelques éléments concernant les aspects cellulaires de l'infection herpétique (100,101).

Lors de la primo-infection, le **virus va pénétrer dans la cellule par fusion membranaire** grâce à l'interaction entre certaines glycoprotéines d'enveloppe virales et des récepteurs membranaires de la cellule **ou par un mécanisme d'endocytose** (102,103). La nucléocapside va ensuite rejoindre le noyau grâce au système de microtubules et y délivrer l'ADN viral.

Au niveau des cellules épithéliales des muqueuses infectées, le virus va entraîner une infection dite « lytique » : il utilisera la machinerie de la cellule hôte pour répliquer son ADN et synthétiser les protéines nécessaires à la formation de nouveaux virions. Cette infection lytique aboutira à la mort de la cellule infectée et à l'infection des cellules voisines.

Le virus va ensuite pouvoir se déplacer de manière rétrograde pour infecter les cellules nerveuses sensibles des ganglions trigéminals (en cas de primo-infection oro-pharyngée notamment). Au niveau de ces neurones, **deux types d'infections sont possibles : « lytique » ou « latente »**.

En cas d'infection dite « latente », l'ADN viral persiste au niveau de la cellule infectée sous forme circulaire mais n'aboutit pas à la production de nouveaux virions. Seul le gène codant pour les LAT (« latency associated transcripts ») est exprimé durant la latence et aboutit à la synthèse de 2 ARN nucléaires (qui ne seront pas traduits par la suite en protéines). Le rôle des LAT est encore insuffisamment connu mais il semble qu'ils aient un rôle dans le maintien de l'état de latence ainsi qu'un rôle anti-apoptotique permettant la survie des neurones infectés. De nombreux autres facteurs influencent également le maintien ou non de l'état de latence (voir paragraphe 1.2.3.4). On peut par exemple citer le rôle prépondérant des lymphocytes T CD8+ (LT CD8+), acteurs de l'immunité dite « acquise ». Suite à l'infection par le virus HSV-1, ils infiltreront le ganglion trigéminal et empêchent le virus de se répliquer sans pour autant entraîner la destruction des cellules infectées (104–106). En cas de diminution de leur activité, une réactivation survient entraînant la production de nouveaux virions.

En cas de réactivation au niveau des neurones, l'ADN viral va se linéariser et la synthèse des protéines virales permettra la formation de nouveaux virions. Ceux-ci pourront migrer de façon

antérograde vers la zone initiale de primo-infection et entraîner à nouveau la destruction de cellules épithéliales. A l'inverse, l'impact de la réactivation virale sur la viabilité des cellules nerveuses infectées semble encore discuté (101).

1.2.3 Epidémiologie de l'infection à HSV

1.2.3.1 Prévalence de l'infection à HSV

Les études de prévalence sont majoritairement basées sur la détection d'anticorps anti-HSV dans le sang ou le sérum des patients, on parle **d'études de séroprévalence**. Dans ce type d'études, on identifiera la **présence d'immunoglobulines G (IgG) anti-HSV**. Ces anticorps apparaissent deux à trois semaines après la primo-infection et persistent tout au long de la vie témoignant ainsi d'une exposition antérieure au virus. A noter que les sérologies employées peuvent être spécifiques du virus HSV-1 ou témoigner à la fois d'une infection par HSV-1 et/ou HSV-2¹¹.

Une revue systématique des études de séroprévalence réalisée en 2002 par Looker et al (90,107) met en évidence que, **en Europe, la séroprévalence est déjà de l'ordre de 50% avant l'âge de 10 ans**, témoignant de la précocité de la primo-infection (Figure 17). Elle augmente ensuite avec l'âge pour atteindre un plateau vers la trentaine. On estime ainsi que **plus de 70% des sujets adultes sont séropositifs à HSV-1**.

En comparaison, la transmission d'HSV-2 se fait à un âge un peu plus tardif, coïncidant avec le début des rapports sexuels, et moins de 20% des sujets sont séropositifs (en dehors de certains groupes considérés comme à haut risque d'infection sexuellement transmissible¹²).

¹¹ Au cours des travaux réalisés lors de cette thèse, nous utiliserons dans certaines analyses des données de sérologies non spécifiques d'HSV-1. C'est pourquoi nous décrirons dans cette partie l'épidémiologie à la fois d'HSV-1 mais également d'HSV-2.

¹² Définition des groupes à risque dans l'article : séropositivité VIH, consultation pour une infection sexuellement transmissible, homosexuel masculin, travailleur du sexe

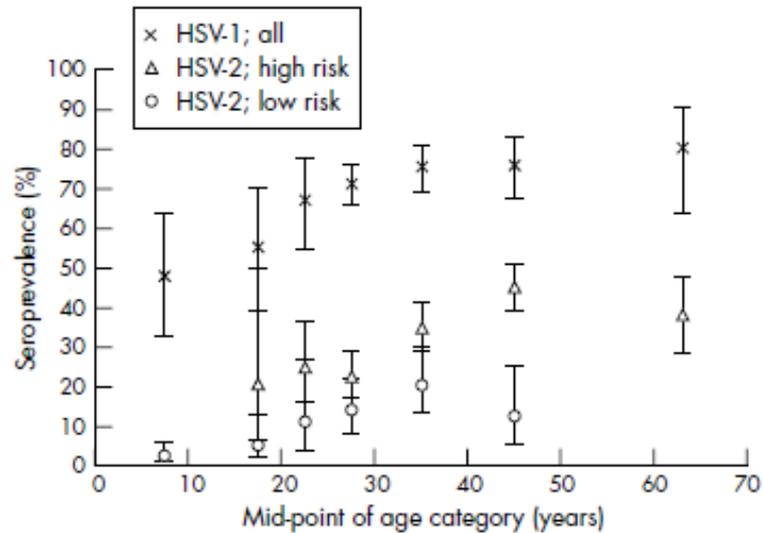


Figure 1 Overall age categorised seroprevalence of HSV-1 and HSV-2 in "low risk" and "high risk" populations, weighted by the inverse of the study variance, in Europe

Figure 17 : D'après Looker (90), séroprévalence des virus HSV-1 et HSV-2 en Europe.

Les études de séroprévalence réalisées en France retrouvent des résultats similaires :

- Dans l'étude HERPIMAX (108) (n=4412 sujets, prélèvements en 2002) : les séroprévalences HSV-1 et HSV-2 étaient respectivement de 67% et 17%. La séroprévalence HSV-1 augmentait avec l'âge. (Tableau 5)
- Dans l'étude bordelaise PAQUID (109) (n=512 sujets âgés non-déments, prélèvements réalisés à l'inclusion en 1989), la séroprévalence HSV était de 82,8%.

Tableau 5 : D'après Malkin (108), séroprévalence des virus HSV-1 et HSV-2 dans l'étude HERPIMAX réalisée en France en 2002

	35-40 years	40-45 years	45-50 years	50-55 years	>55 years
HSV-1					
Male	-	-	64.5	64.6	70.9
Female	58.8*	59.2*	66.4*	68.5*	74.7*
HSV-2					
Male	-	-	12.5	14.2	15.0
Female	15.7	18.8	18.1	17.0	19.5

*p<0.01.

Le virus HSV-1 est un virus ubiquitaire dont la séroprévalence est relativement haute dans toutes les régions du monde (107) (Figure 18).

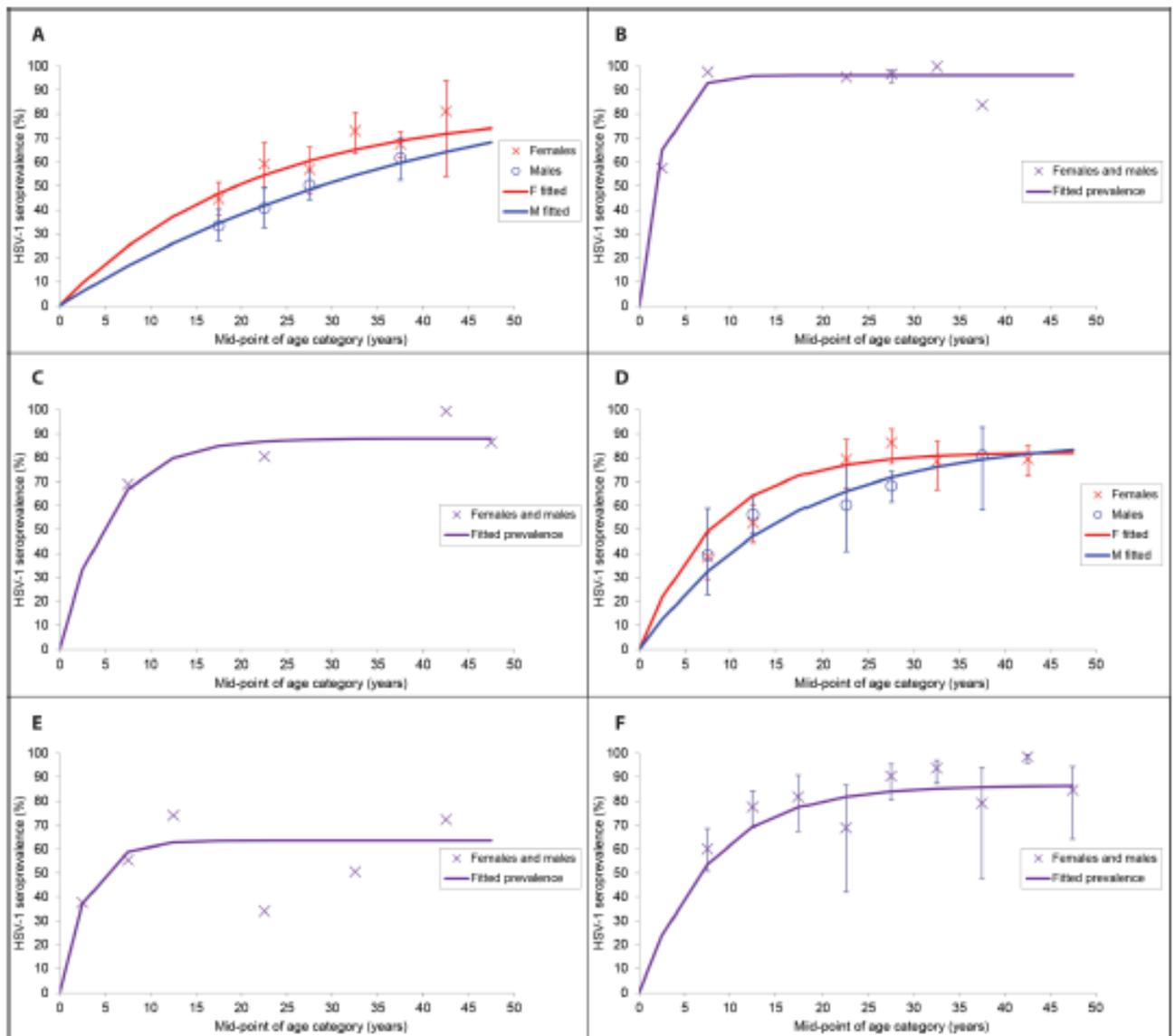


Fig 2. Model fits to pooled HSV-1 prevalence values by age for (A) the Americas, (B) Africa, (C) Eastern Mediterranean, (D) Europe, (E) South-East Asia and (F) Western Pacific, to generate smoothed HSV-1 prevalence and calibrate HSV-1 incidence for the HSV-1 estimates. Confidence intervals are not shown for the pooled prevalence values for those regions for which data without finite age limits and/or with estimated sample size were additionally used in the pooling (Eastern Mediterranean and South-East Asia), or where individual prevalence values were used for the model fitting in addition to pooled values (Africa).

Figure 18 : D'après Looker (107), séroprévalence HSV-1 selon les régions du monde.

1.2.3.2 Facteurs de risque d'infection à HSV

En dehors de l'âge, certains facteurs sont parfois identifiés comme étant associés à l'infection HSV-1 :

- **Le sexe féminin** est, de manière inconstante, identifié comme facteur de risque d'infection à HSV-1 (93,107,108,110–113).
- **Un faible niveau d'éducation et une catégorie sociale défavorisée** étaient également parfois associés à une séroprévalence plus élevée d'infection à HSV-1 (93,108,111–113).
- **L'origine ethnique** (111).
- **Le fait d'avoir des rapports sexuels et l'âge de début précoce de ces rapports** (111).
- **Certains facteurs de risque génétiques** semblent également associés à la présence d'anticorps anti-HSV-1 (114).

A noter que les facteurs associés à l'infection HSV-2 semblent mieux identifiés et sont la plupart du temps en rapport avec les pratiques sexuelles du sujet : l'âge, le sexe féminin, la précocité du premier rapport sexuel, les comportements sexuels à risque, un antécédent d'infection sexuellement transmissible, les personnes non mariées, un haut niveau d'éducation, la taille de la commune et l'origine géographique (91,93,108,110). L'impact d'une infection antérieure à HSV-1 sur le risque d'infection à HSV-2 reste débattu (90,93).

1.2.3.3 Fréquence des réactivations du virus

L'étude des symptômes associés à l'infection herpétique renseigne sur la fréquence de récurrences (réactivations symptomatiques). Ainsi, on estime qu'environ **20 à 50% des sujets infectés par HSV-1 présentent des récurrences** (113,115,116).

D'autres méthodes permettent d'étudier la fréquence des réactivations (qu'elles soient symptomatiques ou non). En 2008, Miller et al (117) ont réalisé une revue de littérature regroupant 22 études ayant évalué **l'excrétion asymptomatique de virus HSV-1 au niveau de la salive et des larmes**. Parmi les études utilisant une technique de PCR et ayant des prélèvements sur au moins 3 semaines, **70% des sujets présentaient une excrétion d'HSV-1**

au moins une fois par mois et une partie plus de 6 fois par mois. Dans une étude (118) ayant réalisé des prélèvements 2 fois par jour pendant 30 jours, une excrétion d'HSV-1 était retrouvée chez 49 sujets sur 50 (98%). La durée d'excrétion moyenne variait entre 1 et 3 jours. Le pourcentage d'échantillons positifs était similaire au niveau de la salive (38%) et des larmes (34%) mais la charge virale était plus importante au niveau de la salive.

1.2.3.4 **Facteurs associés aux réactivations**

Le maintien à l'état de latence dépend de facteurs liés à la fois au virus, à l'hôte et à son environnement.

Concernant le virus lui-même, si peu de choses sont connues concernant l'impact de la souche virale (119), on sait par exemple que **la charge virale au niveau du site de latence et la souche virale est directement associée à la fréquence et à la sévérité des réactivations** (120–122).

Concernant l'hôte et son environnement, certains facteurs de risque de réactivations ont été identifiés (101,123–130) incluant notamment :

- **Le sexe féminin ainsi que les menstruations.**
- **Un faible niveau d'éducation.**
- **Un épisode de fièvre.**
- **L'exposition aux ultra-violets.**
- **Certains gestes chirurgicaux impliquant une lésion axonale du neurone infecté.**
- **Le stress.**
- **Une coinfection par le CMV.**

A noter que l'évolution de la fréquence de réactivations avec l'âge sera discutée au paragraphe 1.3.3.2.

Bien que ces facteurs semblent très hétérogènes, certains mécanismes sous-jacents ont été proposés et impliquent notamment une modulation des défenses immunitaires (123). A titre d'exemple, un stress psychosocial important (124), via une sécrétion accrue de glucocorticoïdes, va entraîner une diminution du nombre et de la capacité des lymphocytes T

CD8+ à maintenir le virus à l'état de latence (131–133). De façon cohérente, il a été mis en évidence in vitro que certains corticostéroïdes de synthèse (comme la Dexaméthasone) favoriseraient la réactivation d'HSV (134,135). Certaines situations perçues par le virus comme dangereuses pour l'hôte et/ou le neurone infecté pourraient également favoriser sa réactivation (100).

Peu de facteurs génétiques sont actuellement identifiés comme facteurs de susceptibilité aux réactivations (136). C'est néanmoins le cas du gène c21orf91 (chromosome 21) (137) et de certains gènes impliqués dans l'immunité adaptative (138).

Enfin, certains aliments et nutriments semblent avoir des propriétés anti-herpétiques et pourraient être associés à un risque diminué de réactivations¹³. On peut citer notamment certains polyphénols contenus dans les végétaux, le thé vert ou le café (139–151), le cholestérol (152), la vitamine D (153) et certains acides aminés comme l'arginine ou la glutamine (154,155).

1.2.4 Prise en charge thérapeutique

En France, les dernières recommandations de la Société Française de Dermatologie concernant la prise en charge de l'herpès cutanéomuqueux chez le sujet immunocompétent datent de 2001 (94). La prise en charge repose principalement sur **l'usage d'antiviraux à usage systémique ou topique** et diffère selon le site et le stade de l'infection (primo-infection ou récurrences, traitement curatif ou préventif) (Tableau 6).

¹³ Durant ma thèse, j'ai eu l'occasion d'encadrer des étudiants de Master 1 dans la réalisation d'une revue de littérature visant à identifier les aliments et/ou nutriments avec une potentielle action anti-herpétique.

Tableau 6 : Recommandations de traitement pour la prise en charge de l'herpès cutanéomuqueux chez le sujet immunocompétent

Herpès oro-facial	Herpès génital
<p>Primo-infection Aciclovir per os 200mg x 5 pendant 5 à 10 jours (voie IV si administration orale impossible). Pas de preuve d'efficacité des traitements locaux.</p> <p>Traitement curatif des récurrences Seul l'aciclovir a été évalué et les résultats ne permettent pas de formuler des recommandations.</p> <p>Traitement préventif en cas de récurrences fréquentes (au moins 6 fois par an) ou de retentissement socioprofessionnel Aciclovir 400mg x2 – durée non déterminée. Pas de preuve d'efficacité des traitements locaux.</p>	<p>Primo-infection Aciclovir per os 200mg x 5 pendant 10 jours ou Valaciclovir per os 500mg x 2 pendant 10 jours. Pas de preuve d'efficacité des traitements locaux.</p> <p>Traitement curatif des récurrences en cas de gêne ou de risque de contagion Aciclovir per os 200mg x 5 pendant 5 jours ou Valaciclovir per os 1000mg en 1 ou 2 prises pendant 5 jours. Pas de preuve d'efficacité des traitements locaux.</p> <p>Traitement préventif en cas de récurrences fréquentes (au moins 6 par an) Aciclovir per os 400mg x 2 - durée indéterminée ou Valaciclovir per os 500mg x 1 – durée indéterminée. Pas de preuve d'efficacité des traitements locaux.</p>

Les deux molécules recommandées, **l'aciclovir et sa prodrogue le valaciclovir**¹⁴, sont des **analogues nucléosidiques**. Ils ne permettent pas de supprimer le virus, et donc de guérir l'infection, mais **empêchent la réplication de l'ADN viral** en s'y insérant à la place d'un nucléoside. A noter que le traitement agit sélectivement sur les cellules infectées : en effet, pour être actif, l'aciclovir doit être tout d'abord phosphorylé par une enzyme d'origine virale qui, dans le cas de l'infection à HSV, n'est présente que dans les cellules infectées. Ceci explique en partie sa bonne tolérance.

Il n'existe pas à ce jour de vaccin commercialisé contre HSV-1.

¹⁴ A noter que d'autres antiviraux présentent également une efficacité contre le virus HSV-1. C'est le cas par exemple des autres analogues nucléosidiques (comme le ganciclovir, le valganciclovir...) ou du foscarnet. A noter également que ces molécules peuvent être prescrites dans le cadre d'autres types d'infections comme les infections à VZV ou CMV.

Points clés sur le virus HSV-1

- Le virus HSV-1 est un virus enveloppé à ADN appartenant à la famille des *Herpesviridae*.
- Son infection se caractérise par trois étapes : i) une primo-infection ayant lieu la plupart du temps dans l'enfance et souvent asymptomatique, ii) une phase de latence au niveau des neurones sensitifs du ganglion trigéminal et iii) des réactivations périodiques symptomatiques ou non.
- Le type de lésions dépend notamment du site de primo-infection (ex : herpès labial en cas de primo-infection oro-pharyngée) et, dans certains cas, le virus HSV-1 est associé à des complications graves comme la méningo-encéphalite herpétique.
- Sa prévalence avoisine les 70% dans la population adulte et il s'agit d'une infection ubiquitaire présente dans toutes les régions du monde. On estime que 20 à 50% des sujets présentent des réactivations symptomatiques tandis que les réactivations asymptomatiques sont beaucoup plus fréquentes.
- La survenue de réactivations dépend d'un équilibre complexe entre l'hôte et le virus et différents facteurs de risque de réactivation ont été identifiés (sexe féminin, exposition aux UV, fièvre, stress, lésion axonale, charge virale...). Certains aliments ou nutriments semblent également présenter une activité anti-herpétique.
- La prise en charge thérapeutique repose principalement sur l'utilisation d'antiviraux à usage systémique ou topique. Les deux molécules recommandées sont l'Aciclovir ou le Valaciclovir qui sont des antiviraux appartenant à la famille des analogues nucléosidiques. Ceux-ci empêchent la réactivation du virus et ont une bonne tolérance étant donné leur spécificité pour les cellules infectées.

1.3 Implication d'HSV-1 dans la maladie d'Alzheimer ?

Nous allons voir dans les paragraphes suivants les éléments permettant ou non de faire un lien entre l'infection par le virus HSV-1 et les différentes caractéristiques de la maladie d'Alzheimer¹⁵.

1.3.1 Séquence topographique

1.3.1.1 Présence du virus au sein du système nerveux central et réactivations

De nombreuses études post-mortem ont permis de mettre en évidence la présence d'HSV-1 au niveau d'échantillons de cerveau humain. Dans cette recherche, l'évolution des techniques d'identification a été déterminante. Dans les années 80, les techniques de détection du virus HSV-1 comprenaient principalement la recherche d'ADN viral par hybridation ou la recherche de protéines virales (156–165). Ces techniques relativement peu sensibles ont, dans la majorité des cas, fait conclure à l'absence de virus au sein du système nerveux central. Par la suite, les techniques de détection de l'ADN viral par PCR ont permis la mise en évidence du virus dans de nombreuses études (Tableau 7) (166–169).

L'ADN viral était ainsi retrouvé dans le cerveau de sujets âgés, qu'ils soient atteints ou non de la maladie d'Alzheimer. A noter qu'il était également retrouvé dans le cerveau de sujets atteints de forme familiale de maladie d'Alzheimer (170) et de sujets porteurs de trisomie 21 (171). L'ADN viral était retrouvé **dans les zones corticales préférentiellement atteintes par la maladie** (hippocampe, lobe temporal, lobe frontal) et absent des régions plus préservées comme le lobe occipital (172–174).

¹⁵ Cette partie n'a pas pour vocation d'être une revue systématique des études sur le sujet et ne permettra pas toujours d'expliquer en détail certains éléments qui nécessiteraient une expertise dans de nombreux domaines ne relevant pas de l'épidémiologie (notamment en virologie, biologie moléculaire, immunologie...). De plus, certaines hypothèses ou interprétations sont personnelles (présentées la plupart du temps sous forme de questions) et ne reflètent pas forcément l'opinion de la communauté scientifique experte sur le sujet.

Néanmoins, un élément pourrait limiter la plausibilité de l'hypothèse infectieuse impliquant HSV-1 : **la proportion de sujets chez qui l'ADN viral était retrouvé au niveau du système nerveux central varie considérablement d'une étude à l'autre**. On peut globalement distinguer 2 groupes d'études. D'une part, des études retrouvant des taux de positivité élevés variant de 50 à 100%, chez les sujets atteints comme chez les contrôles (171,172,175–180). D'autre part, un groupe d'études retrouvant des taux de positivité beaucoup plus faibles variant de 2 à 10% chez les sujets atteints et de 7% à 30% chez les sujets contrôles (173,181–183). Afin de tenter d'expliquer cette variabilité, plusieurs éléments méthodologiques ont été incriminés (parfois par les auteurs eux-mêmes) (183–186) : la méthode de fixation utilisant de la paraffine (187), le choix de sondes de PCR impliquant des sections d'ADN peu conservées, la présence d'inhibiteurs de PCR (183), l'âge des sujets, la localisation des prélèvements et la faible quantité des tissus utilisée.

Par ailleurs, s'il semble à première vue problématique que le **pourcentage de positivité soit similaire entre les cas de maladie d'Alzheimer et les sujets contrôles**, cela ne suffit pas à réfuter l'hypothèse infectieuse. En effet, à l'image des lésions amyloïdes présentes également chez les sujets asymptomatiques, la présence du virus HSV-1 au sein du système nerveux central pourrait être tolérée dans certaines circonstances et ainsi ne pas aboutir systématiquement à une mort neuronale. Celle-ci pourrait-elle dépendre de la réaction du neurone ou du système immunitaire à l'encontre du virus et/ou des mécanismes régulant le maintien ou non du virus dans un état de latence ?

Plus récemment, l'**utilisation de données « -omiques » a également permis d'apporter des éléments de réponse**. Ainsi, Readhead et al (188) ont mis en évidence, au sein de cerveaux de patients atteints de la maladie d'Alzheimer, une modification d'expression de certains gènes dont certains impliqués dans la régulation de la transcription virale. Par la suite, ils ont cherché à évaluer chez les sujets MA s'il existait des modifications des transcrits associés à des centaines de virus connus pour infecter l'homme. Ils ont ainsi mis en évidence une augmentation des transcrits associés aux virus herpétiques. Il existait notamment une augmentation des LAT (latency-associated transcript) du virus HSV-1 mais les résultats pointaient principalement du doigt les virus HHV-6A et HHV-7. A noter que i) contrairement

au virus HSV-1 qui est un virus neurotrope, les virus HHV-6A et HHV-7 sont plus connus pour infecter les cellules immunitaires et leur présence au sein du système nerveux central pourrait potentiellement refléter l'infiltration du parenchyme cérébral par des cellules immunitaires plutôt qu'une infection des cellules neuronales elles-mêmes (189) et ii) une deuxième étude, plus récente et utilisant des méthodes similaires, ne retrouvait pas d'association entre HHV-6 et la MA (190).

A noter également que deux études ayant recherché **la présence d'anticorps anti-HSV1 dans le liquide cérébro-spinal sont également en faveur de la présence du virus HSV-1 au niveau du système nerveux central et attestent également de sa capacité à s'y réactiver.** Wozniak et al (180) ont ainsi analysé le liquide cérébro-spinal de 27 patients atteints de MA et de 13 sujets âgés indemnes de la maladie, tous séropositifs pour HSV1. Une synthèse intrathécale d'IgG anti-HSV1 a été retrouvée chez 52% des malades et 69% des sujets âgés sains. Libikova et al (191) avaient également décrit que, dans leur échantillon, 47% des sujets avec une démence sénile présentaient une synthèse intrathécale d'anticorps anti-HSV1.

Tableau 7 : Etudes ayant recherché la présence de l'ADN du virus HSV-1 au sein d'échantillons de cerveaux post-mortem

Auteur Année Pays	Caractéristiques des groupes	Diagnosti c de la MA	Identification d'HSV1	Localisation	Patients Alzheimer	Patients contrôles
Etudes comportant principalement des sujets âgés						
Jamieson 1991 UK (175)	8 patients MA 6 patients contrôles NB / pas d'indication sur le statut sérologique HSV des sujets	Clinique et anatomop athologi ue	PCR-TK	Echantillons issus de l'hippocampe ou des cortex temporaux ou frontaux (Résultats non présentés par localisation)	8/8 (100%)	6/6 (100%)
Jamieson 1992 UK (172)	Banque de cerveaux d'Edinburgh : âge moyen 84 (min 79 max-89) chez les MA et 84 (76-93) chez les contrôles Banque de cerveaux de Bristol : âge moyen 83 (min 74 max 96) chez les MA et 79 (64-95) chez les contrôles NB / pas d'indication sur le statut sérologique HSV des sujets	Clinique et anatomop athologi ue	PCR-TK	Cortex temporal – Edinburgh Cortex temporal – Bristol Hippocampe – Bristol Cortex frontal – Bristol Cortex occipital - Brisol	3/5 (60%) 9/14 (64%) 3/4 (75%) 4/12 (33%) 0/9 (0%)	2/5 (40%) 6/7 (86%) 2/4 (50%) 7/9 (78%) 0/5 (0%)
Lin 1996 UK (176)	36 patients MA- Age moyen: 79 ans 36 patients contrôles - Age moyen: 78 ans NB / pas d'indication sur le statut sérologique HSV des sujets	Non spécifié	PCR-TK	Echantillons issus des cortex frontaux, temporaux ou de l'hippocampe (Résultats non présentés par localisation)	28/36 (78%)	23/36 (64%)
Itzhaki 1997 UK (177)	46 patients MA : Age moyen 79 ans (min 54 max 96) 44 patients contrôles : Age moyen 79 ans (min 58 max 95) NB / Sérologie HSV réalisée chez 27 sujets sans antécédent d'herpès labial et 27 avec : tous + sauf 2 sans antécédent	Clinique et anatomop athologi ue	PCR- TK	Cortex temporal Hippocampe Cortex frontal	23/39 (59%) 3/6 (50%) 23/39 (59%)	19/33 (58%) 3/6 (50%) 19/36 (58%)
Beffert 1998 Canada (179)	73 patients MA : Age moyen 77 ans (min 53 max 93) 33 patients contrôles : Age moyen 72 ans (min 43 max 95) NB / pas d'indication sur le statut sérologique HSV des sujets	Clinique et anatomop athologi ue	PCR- gD	Pas d'information	54/73 (74%)	24/33 (73%)
Cheon 2001 Autriche	10 patients MA – Age moyen 60,8 +/-8,4 10 patients contrôles –Age moyen : 62,6+/-8,0	Clinique	PCR – gD	Cortex frontal Cervelet	10/10 (100%)	10/10 (100%)

(171)	NB / pas d'indication sur le statut sérologique HSV des sujets				10/10 (100%)	10/10 (100%)
Marques 2001 USA (173)	15 patients MA : Age moyen 79 ans (min 56 max 93) 15 patients contrôles : Age moyen 79 (min 59 max 93) NB / pas d'indication sur le statut sérologique HSV des sujets	Clinique et anatomopathologique	PCR- gB	Cortex temporal Cortex frontal Cortex occipital	1/15 (7%) 1/15 (7%) 0/15 (0%)	0/15 (0%) 1/15 (7%) 0/15 (0%)
Hemling 2003 Finlande (181)	34 patients MA: Age moyen : 80,2+/-7,5 (min 64 max 94) 40 patients contrôles Age moyen 77,1+/- 6,5 (min 64 max 89) NB / pas d'indication sur le statut sérologique HSV des sujets	Clinique et anatomopathologique	Echantillon considéré comme + si PCR gD confirmée par PCR gB	Echantillons provenant de l'hippocampe, du cortex frontal, temporal et du cortex cingulaire antérieur (Résultats non présentés par localisation)	1/34 (3%)	10/40 ? (25%)
Wozniak 2004 UK (180)	6 patients MA : Age moyen : 69,8 ans (min 52 max 84) NB / tous les sujets étaient séropositifs pour HSV1	Clinique ?	PCR-TK	Cortex temporal et frontal	5/6 (83%)	-
Mori 2004 Japon (174)	2 patients MA : Age moyen : 62 ans 6 patients contrôles : Age moyen : 58 ans (min 44 max 65) NB / pas d'indication sur le statut sérologique HSV des sujets *Données complétées avec l'autre article de Mori	Non précisé	PCR-gD	Cortex temporal Cortex frontal Cortex occipital	0/2 (0%) 2/2 (100%) 0/2 (0%)	0/6 (0%) 1/6 (17%) 0/5 (0%)
Mori 2004 Japon (170)	3 patients avec une forme familiale de MA (44-69 ans)	Clinique + anatomopathologique	« nested » PCR gD	Cortex temporal Cortex frontal Cortex occipital	3/3 (100%) 3/3 (100%) 1/2 (50%)	
Wozniak 2008 UK (178)	6 patients MA : âge moyen 77 (min 67 max 87) 5 patients contrôles : âge moyen 77 (min 67 max 87) NB / pas d'indication sur le statut sérologique HSV des sujets	Clinique et anatomopathologique	In situ PCR-gG ?	Cortex temporal Cortex frontal	6/6 (100%)	5/5 (100%)

Pisa 2017 Espagne (182)	10 patients MA : Age moyen 81,9 (min 62 max 92) 8 patients contrôles : Age moyen 60,4 (min 37 max 78) NB / pas d'indication sur le statut sérologique HSV des sujets	Clinique anatomop athologi ue	PCR-gD	Hippocampe et cortex enthorinal	1/10 (10%)	2/7 (29%)
Etudes comportant également des sujets jeunes						
Baringer 1994 USA (192)	40 patients décédés de causes non-neurologiques. Age au décès allant de 6 semaines à 92 ans. NB : chez les 4 sujets IgG-, pas d'ADN HSV1 dans le cerveau	X	PCR-TK (gène UI23) PCR-gC (gène UI44) PCR-gD (gène Us6) PCR-gG (gène Us4) !! Seules les PCR-TK et les PCR-gD ont permis de détecter des séquences d'HSV1.	Hippocampe, cortex frontal, bulbe olfactif, moelle épinière, amygdale, pons (Résultats non présentés par localisation)	-	14/40 (35%)
Olsson 2016 Suède (183)	603 patients initialement sans démence - Age moyen : 63 ans (0-97)	X	PCR-gJ? (gène Us5) PCR-hélicase? (gène UI5) PCR-gB? (gène UI27) Echantillon + si ≥ 2 PCR+	Hippocampe, cervelet, corps calleux, gyrus frontal moyen	x	10/584 (2%) Parmi les plus de 60 ans: 6/346 (2%)

Abréviations PCR -TK: détection par PCR de l'ADN viral codant pour une thymidine kinase

PCR – gD ou gB ou gC ou gG : détection par PCR de l'ADN viral codant pour des glycoprotéines virales

NB : Certaines études rapportées dans la littérature n'ont pas été intégrées dans ce tableau pour différentes causes : texte intégral non disponibles (193,194), étude introuvable (Bertrand 1993) ou étude ne précisant pas l'âge des sujets (195)

1.3.1.2 Migration du virus HSV-1 et topographie des lésions tau

Afin d'expliquer la topographie stéréotypée de la pathologie tau dans la MA, Braak et Del Tredici (41) ont proposé que celle-ci débute au niveau du locus coeruleus et se transmette ensuite de façon trans-synaptique vers d'autres aires cérébrales en suivant des réseaux de neurones anatomiquement connectés. Si l'hypothèse d'une transmission « prion-like » de la protéine tau est aujourd'hui étudiée et ne peut être écartée (41,196), l'implication du virus HSV-1 pourrait fournir une explication alternative.

En effet, le virus HSV-1 est un **virus neurotrope bien connu pour sa capacité à se déplacer de neurones en neurones**. Son utilisation comme vecteur viral dans le cadre de l'étude des réseaux neuronaux témoigne de cette compétence particulière (197,198).

De plus, si le virus HSV-1 n'est pas le seul pathogène neurotrope capable d'infecter le système nerveux central, c'est la **similarité des zones cérébrales atteintes dans la maladie d'Alzheimer et dans les cas d'encéphalite herpétique** qui a permis initialement de suspecter son implication dans la maladie (85,199).

Néanmoins, **la voie de propagation utilisée par le virus pour rejoindre le système nerveux central reste discutée mais pourrait expliquer le point de départ de la pathologie**.

- D'un côté, la migration du virus pourrait se faire **directement depuis son lieu de latence** (85), le ganglion trigéminal, dont le noyau est anatomiquement relié au locus coeruleus (200,201) fournissant ainsi une « porte d'entrée » directe vers le point de départ suspecté de la maladie d'Alzheimer. Les résultats d'une étude anatomopathologique ayant mis en évidence la présence de protéines tau hyperphosphorylées dans le noyau trigéminal dès la première décennie de vie pourraient-ils être en faveur de cette hypothèse (202) ?
- D'un autre côté, plusieurs auteurs discutent une potentielle propagation du virus **via le système olfactif** qui, via les bulbes olfactifs, est relié au cortex entorhinal et aux hippocampes (revue dans (203)). Les éléments sous-tendant cette hypothèse sont : i) le fait que l'altération de l'olfaction est parfois rencontrée précocement dans la maladie d'Alzheimer (204), ii) la présence de l'ADN d'HSV1 au niveau des bulbes olfactifs dans différentes études post-mortem (193) et iii) les expérimentations animales montrant la propagation du virus au niveau du cortex entorhinal et de l'hippocampe après inoculation intranasale. Néanmoins, d'autres voies d'inoculation (comme par

exemple la scarification labiale) permettent également l'invasion du système nerveux central après inoculation du virus HSV-1 chez la souris (205).

- Enfin, une **combinaison de différentes voies de propagation** n'est peut-être pas à exclure ? Ainsi, on pourrait faire l'hypothèse que les formes atypiques de la maladie d'Alzheimer pourraient être le reflet de voies de propagation moins fréquentes dépendant par exemple du site de primo-infection. Une primo-infection oculaire et la présence d'ADN viral au niveau de l'œil (206) pourraient-elles expliquer la topographie occipitale (où se situe le cortex visuel primaire) retrouvée dans l'atrophie corticale postérieure ?

Enfin une **asymétrie** dans le degré d'infection des ganglions trigéminaux droit et gauche pourrait-elle expliquer l'asymétrie des lésions tau retrouvée dans la maladie d'Alzheimer ?

Qu'en est-il enfin de la topographie de la pathologie amyloïde ? A ma connaissance, aucune explication précise concernant la séquence topographique de la pathologie amyloïde n'existe à l'heure actuelle dans l'hypothèse infectieuse. Néanmoins, dans l'hypothèse infectieuse, on suppose que les peptides amyloïdes jouent un rôle de biofloculant (ce rôle sera détaillé au paragraphe 1.3.2.1). Un biofloculant est une molécule capable de se lier à des substances neurotoxiques (infectieuses ou non) et de permettre ainsi leur neutralisation. Dans cette optique, la topographie de la pathologie amyloïde pourrait-elle refléter des agressions du système nerveux central de différentes natures (infections par HSV-1 mais également par d'autres pathogènes ou suite à un traumatisme, une hypoxie...) et l'incapacité des cellules microgliales à les éliminer ? La diversité des stimuli potentiellement impliqués pourrait ainsi peut-être expliquer l'absence de superposition entre pathologies tau et amyloïde ?

1.3.2 Virus HSV-1 et marqueurs anatomopathologiques

Si les lésions retrouvées dans les cas d'encéphalite herpétique sont loin d'être similaires à celles rencontrées dans la maladie d'Alzheimer, il est possible que, comme la brûlure d'une flamme entraîne une simple rougeur ou une brûlure au 3^{ème} degré selon son degré d'intensité, une **infection « à petit feu »** (on parle de « slow virus infection » (207)) puisse aboutir à l'apparition de marqueurs anatomopathologiques différents de ceux observés dans les atteintes aiguës. De plus, il existe différents témoignages en faveur de l'**existence de forme « modérée » d'infection du système nerveux central par le virus HSV-1**. Il peut s'agir notamment de formes cliniques modérées apparaissant plusieurs années après une méningoencéphalite herpétique ou de cas de détection d'ADN du virus HSV dans le liquide cérébro-spinal de sujets asymptomatiques (97,184,185,208). Pour autant, **les raisons influant sur l'intensité de l'infection (i.e. sur la survenue d'une forme neurologique aigüe ou d'une forme chronique « modérée ») restent encore à élucider** (virulence de la souche ?, efficacité du système immunitaire de l'hôte ?, prédisposition génétique...).

Dans l'hypothèse d'une infection HSV-1 évoluant à bas bruit au sein de système nerveux central, plusieurs groupes de recherche ont étudié la capacité du virus à entraîner l'apparition des lésions retrouvées dans la maladie d'Alzheimer. Ils ont ainsi mis en évidence que **la survenue de la plupart des marqueurs anatomopathologiques de la maladie d'Alzheimer pourrait être le reflet du cycle cellulaire d'HSV-1 et de la réaction immunitaire à son encontre** (38). Nous nous intéresserons dans les prochains paragraphes plus particulièrement aux marqueurs amyloïde et tau.

1.3.2.1 HSV-1 et pathologie amyloïde

Si le peptide a β a longtemps été perçu comme une molécule anormale et sans rôle physiologique, plusieurs arguments suggèrent aujourd'hui le contraire. D'une part, le peptide a β est retrouvé à l'état physiologique chez l'homme notamment dans le sérum et dans le liquide cérébro-spinal où sa concentration est plus importante à l'état normal que dans la maladie d'Alzheimer (209,210). D'autre part, la séquence d'acides aminés du peptide a β est conservée chez la majorité des vertébrés terrestres depuis des millions d'années, suggérant l'importance de son rôle en termes de survie (211,212).

Plusieurs études suggèrent l'implication du peptide amyloïde notamment dans la réponse aux dommages tissulaires via notamment un rôle trophique, dans la neurogénèse et la plasticité synaptique, une action sur la barrière hémato-encéphalique et sur les vaisseaux corticaux (209,211). Plus particulièrement, Robinson et al (32) ont proposé en 2002 un **rôle de « biofloculant »**. Le rôle d'aβ serait ainsi de se lier à des substances neurotoxiques et, via leur précipitation sous forme de plaques, de faciliter leur présentation aux phagocytes. Le peptide aurait ainsi notamment un rôle à la fois **antioxydant** (32,209) par sa capacité à se lier à divers ions métalliques et un rôle **antimicrobien** relevant de l'immunité innée. L'activité antimicrobienne du peptide aβ a inspiré une nouvelle hypothèse physiopathologique concernant la maladie d'Alzheimer, l'hypothèse « de protection antimicrobienne » décrite par Moir et al (213) également dénommée « hypothèse infectieuse ».

Plusieurs résultats confortent l'hypothèse d'un rôle antimicrobien pour le peptide aβ :

1. Des études in vitro, chez l'animal et chez l'homme ont montré que **différents types d'infections ou d'agressions du système nerveux central étaient associés à une accumulation de peptides amyloïdes**.
2. In vitro et in vivo dans des modèles animaux, le peptide amyloïde présente une **activité antimicrobienne dont le mode d'action et les caractéristiques structurelles sont similaires à ceux des « peptides antimicrobiens »** (AMP pour « *antimicrobial peptide* »), acteurs de l'immunité innée. De plus, chez l'homme, certains **traitements visant à bloquer la production de peptides amyloïdes ont été associés à une survenue plus fréquente d'infections**.

Nous allons approfondir ces différents points dans les lignes suivantes.

1.3.2.1.1 Agressions du système nerveux central et pathologie amyloïde

In vitro, plusieurs équipes ont mis en évidence que l'inoculation du virus HSV-1 dans un milieu cellulaire entraînait une diminution de la concentration d'APP et une augmentation de ses produits de dégradation via la voie amyloïdogénique ainsi qu'une accumulation de peptides $\text{A}\beta$ au niveau extra et intracellulaire (Tableau 8).

In vivo après inoculation intra-nasale du virus HSV-1 chez la souris, deux études ont mis en évidence une accumulation intracérébrale de peptides amyloïdes notamment au niveau de l'hippocampe et du cortex somato-sensoriel (Tableau 8). Dans l'étude de De Chiara et al. (205), la quantité de dépôts était proportionnelle au nombre de réactivations. Une troisième étude (214) a mis en évidence, après inoculation intracérébrale d'HSV-1, la co-localisation des peptides amyloïdes et du virus.

Chez l'homme (Tableau 8), une diminution du peptide $\text{A}\beta$ 1-42 dans le liquide cérébro-spinal était retrouvée chez des patients atteints de différentes infections cérébrales (encéphalite herpétique, méningite bactérienne, démences liées au VIH) par rapport à un groupe contrôle (215). Cette diminution était d'ailleurs plus importante que dans le groupe des sujets atteints de maladie d'Alzheimer. Féart et al (216) ont également mis en évidence des taux d' $\text{A}\beta$ plasmatiques 1-40 ou 1-42 plus faibles en cas de réactivation du virus HSV (présence d'immunoglobulines M (IgM) anti-HSV). Néanmoins, aucune association significative n'était retrouvée entre le statut sérologique HSV et la charge amyloïde intracérébrale évaluée à partir d'échantillons de cerveaux humains en post-mortem (183).

De plus, **la présence de dépôts de type « amyloïde » n'est pas spécifique à l'infection herpétique**. Elle est retrouvée chez l'homme dans un grand nombre d'autres infections comme par exemple le VIH, la neurosyphilis ou la tuberculose (168,215,217–222) ainsi que dans le cadre d'autres types d'agressions du système nerveux central (32) comme par exemple les traumatismes crâniens et les accidents vasculaires cérébraux ischémiques (32,223–225). Certaines études in vitro ou sur modèle animal ont également mis en évidence la possibilité d'induire l'accumulation de peptides amyloïdes après inoculation d'autres agents infectieux (226–228) comme par exemple les spirochètes ou *Chlamydia pneumoniae*.

Tableau 8 : Etudes ayant évalué l'association entre infection HSV et pathologie amyloïde

Auteur - Année	Milieu / Echantillon	Virus	Résultats
In vitro			
Shipley – UK – 2005 (229)	Cellules neuronales humaines	HSV1 HSV2	Diminution de la concentration intracellulaire d'APP Accumulation intracellulaire d'un fragment de 55 kDA contenant la séquence aβ
Wozniak – UK - 2007 (230)	Cellules neuronales et gliales humaine	HSV1	Diminution de la concentration intracellulaire d'APP Accumulation intracellulaire de protéines aβ 1–40 et aβ 1–42
De Chiara – Italie - 2010 (231)	Cellules neuronales humaines ou de rat	HSV1	Diminution de la concentration intracellulaire d'APP Accumulation intracellulaire de protéines aβ 1–40 Accumulation intra et extracellulaire de protéines aβ 1–42 Accumulation intra et extracellulaire d'APP-F35, possible oligomères d'aβ Accumulation intracellulaire d'AICD et de CTF notamment au niveau du noyau (composants de la dégradation d'APP)
Piacentini – Italie – 2011 (232)	Cellules neuronales de rat	HSV1	Accumulation intracellulaire d'aβ 1–42 (pas d'analyse sur aβ 1–40)
Santana- Espagne - 2012 (233)	Cellules neuronales humaines	HSV1	Diminution des composants de la voie « non-amyloïdogénique » : αCTF et sAPPα Accumulation intracellulaire de protéines aβ 1–40 et 1–42 au sein d'autophagosomes Diminution de la sécrétion extracellulaire d'aβ
Civitelli– Italie - 2015 (234)	Cellules neuronales humaines ou de rat	HSV1	Accumulation intranucléaire d'AICD (composant de la dégradation d'APP)
Piacentini – Italie – 2015 (235)	Cellules neuronales de souris	HSV1	Accumulation d'aβ 40/42 Altération de la transmission synaptique
Kristen – Espagne - 2015 (236)	Cellules neuronales humaines	HSV2	Diminution des composants de la voie « non-amyloïdogénique » Accumulation intracellulaire de protéines aβ 1–40 et aβ 1–42 au sein d'autophagosomes Diminution la sécrétion extracellulaire d'aβ 1–40
Bourgade – Canada – 2016 (237)	Cellules neuronales et gliales humaines	HSV1	Accumulation d'aβ 1–42 mais pas d'aβ 1–40 pour les cultures de cellules neuronales Faible augmentation d'aβ 1–40 pour les cultures de cellules gliales En co-culture, accumulation d'aβ 1–42 mais en plus faible quantité que dans les cultures de cellules neuronales - en lien avec une probable rapide phagocytose d'aβ 1–42 par les cellules gliales
Powell-Doherty - USA - 2020 (238)	Cellules neuronales hippocampiques de souris	HSV1	Accumulation intracellulaire d'aβ 24 et 72 heures après une infection aigue (concentration respectivement 2,9 fois et 4,1 fois plus importante que pour les cellules non infectées) versus accumulation extracellulaire dans le cas d'une infection latente ?

Cairns – USA 2020 (239)	Modèle 3D de cerveau humain (cellules neuronales et gliales)	HSV1	Infection avec une dose plus faible de virus entraîne une accumulation d'aβ 1–42 mais pas d'aβ 1–40 et l'apparition de plaques
In vivo chez l'animal			
Wozniak – UK - 2007 (230)	Souris BALB/c Inoculation intranasale du virus	HSV1	Accumulation intracérébrale d'aβ 1–42 mais pas d'aβ 1–40 (hypothèse : meilleure élimination d'aβ 1–40)
Eimer – USA – 2018 (214)	Souris 5XFAD et WT Inoculation intracérébrale du virus	HSV1	Accumulation intracérébrale d'aβ et localisation avec HSV-1
De Chiara- Italie - 2019 (205)	Souris BALB/c (n=74) Inoculation du virus après scarification de la lèvre (n=45) Réactivations induites par un stress thermique	HSV1	Accumulation significative d'aβ au niveau intra et extracellulaire chez les souris infectées vs contrôle au niveau du gyrus denté (augmentation d'un facteur 2.4 ± 0.9 ; $p = 0.008$) et de la couche CA1 de l'hippocampe (2.3 ± 0.7 ; $p = 0.0028$) ainsi qu'au niveau du cortex somato-sensoriel (3.0 ± 0.6 , $p = 0.028$) Augmentation de la quantité de dépôts avec le nombre de réactivations
In vivo chez l'homme			
Krut – Suède - 2013 (215) Etude sur LCS	Echantillon : LCS de 42 patients contrôles, 21 MA, 10 encéphalites herpétiques HSV1, 12 méningites bactériennes, 13 neuroborrélioses de Lyme, 21 démences associées au VIH	HSV1	Diminution de la concentration d'aβ 1–42 dans le LCS dans tous les groupes (à l'exception de la neuroborréliose) par rapport aux contrôles (700 ng/l; 521–800) : MA (médiane 471 ng/l; IQR 415–556), encéphalite HSV1 (360 ng/l; 239–577), méningite bactérienne (63 ng/l; 63–396), démences liées au VIH (486 ng/l; 327–686). Les concentrations en sAPPα et β étaient plus basses chez les cas d'encéphalite HSV1, démences liées au VIH, neuroborréliose et de méningites bactériennes que chez les MA.
Féart – France - 2011 (216) Etude transversale dans le cas cohorte de 3C (1999-2000)	Echantillon : 1222 sujets inclus dans 3C - âge moyen 73.9 (min 65.0–max 94.1) – 20.4% d'ApoE4 Sous-échantillon : 754 sujets avec données génétiques sur les gènes CLU et CR1 - âge moyen = 74.0 (min 65.0– max 92.0). Exposition : Sérologies plasmatiques IgG et IgM anti-HSV à l'inclusion (technique ELISA)	HSV	Taux d'IgG en continu - Echantillon principal : pas de corrélation significative entre taux d'IgG et taux d'aβ - Plusieurs modèles de régression linéaire évaluant l'association avec taux aβ1-40, aβ 1-42 et ratio : <ul style="list-style-type: none"> ○ Modèle 1 ajusté sur le centre, l'âge en continu, le sexe, le niveau d'éducation : non significatif ○ Modèle 2 ajusté également sur ApoE4 : non significatif ○ Modèle 3 ajusté également sur CLU et CR1 : non significatif ○ Test de l'interaction entre statut HSV et ApoE4, CLU et CR1 : non significatif

	<p>Outcome : Taux plasmatiques d'aβ 1-40, d'aβ 1-42 et ratio aβ 1-42/aβ 1-40 à l'inclusion (3 indicateurs utilisés dans des modèles séparés et utilisé comme des variables continues)</p>		<p>Taux d'IgG (3 premiers quartiles vs 4ème)</p> <ul style="list-style-type: none"> - Echantillon principal : Pas de différence de moyennes d'aβ 1-40 ou 1-42 ou ratio entre les différents quartiles de taux d'IgG - Non significatif quel que soit le modèle <p>Taux d'IgM (3 premiers quartiles vs 4ème)</p> <ul style="list-style-type: none"> - Echantillon principal : différence de taux moyen d'aβ 1-40 et 1-42 selon les quartiles d'IgM. Les taux d'aβ les plus bas étaient observés chez les sujets ayant un taux d'IgM dans le 4ème quartile (p=0.0036 et 0.0035 respectivement). Pas d'association avec le ratio. - Modèle 1 : taux plasmatiques d'aβ 1-40 et d'aβ 1-42 plus bas chez les sujets dans le 4ème quartile d'IgM (p=0.0003 et p=0.007 pour aβ 1-40 et aβ 1-42 respectivement) – pas d'association avec le ratio - Modèles 2 et 3 : résultats similaires. Pas d'interaction avec APOE4, CLU ou CR1
<p>Olsson- Suède - 2016 (183)</p> <p>Etude sur des échantillons de cerveaux post-mortem</p>	<p>Echantillon :</p> <p>141 sujets avec sérologies HSV-1</p> <p>Age moyen chez les IgG+ : 64.5±17.5 et chez les IgG- : 57.6±15.3</p> <p>Exposition : Sérologies plasmatiques IgG et IgM anti-HSV1</p> <p>Outcome : dépôts amyloïdes intracérébraux</p>	<p>HSV1</p>	<p>Présence d'IgG+ : 85.8% d'IgG+ (121/141)</p> <ul style="list-style-type: none"> - 32.4% de sujets IgG+ (36/111) avaient des dépôts amyloïdes intracérébraux vs 10.5% (2/19) des sujets IgG- - Modèle de régression logistique ajusté sur l'âge: Odds Ratio ajusté (ORa) = 2.771 Intervalle de confiance à 95% (IC 95%) [0.567–13.541], P=0.208 <p>Présence d'IgM+ : 2.5% d'IgM+</p> <ul style="list-style-type: none"> - Modèle de régression logistique ajusté sur l'âge et le sexe, pas d'association significative entre IgM+ et les dépôts amyloïdes (p=0.346). <p>Taux d'IgG chez les IgG+ : Pas de corrélation entre taux d'IgG et dépôts amyloïdes intracérébraux (corrélation de Pearson -0.002, p=0.987).</p>

1.3.2.1.1 Le peptide amyloïde présente une activité antimicrobienne

Le système nerveux central présente des particularités sur le plan des défenses immunitaires : on parle de « statut immuno-privilegié » (240). Ce statut est caractérisé notamment par une participation plus importante de l'immunité innée par rapport à l'immunité adaptative (241). Les cellules microgliales en sont un acteur important notamment via leur capacité de phagocytose. Néanmoins, récemment, certaines études semblent avoir identifié **un autre acteur majeur de l'immunité innée... le peptide aβ** ! Celui-ci présente en effet des propriétés similaires à celles des « **peptides antimicrobiens** » (242) (ou AMP « antimicrobial peptide ») aussi bien sur le plan structural que fonctionnel. A noter qu'un autre peptide antimicrobien appartenant au groupe des « défensines » est également surexprimé dans la maladie d'Alzheimer (243).

Sur le plan structural (86,213,242), comme d'autres AMP, il s'agit d'un peptide amphiphile de bas poids moléculaire produit à partir du clivage d'une protéine intra-membranaire et présentant plusieurs isoformes. Largement exprimé, il est particulièrement présent dans les organes immuno-privilegiés comme le cerveau. Il est capable de se fixer aux membranes cellulaires et, secondairement, de former des oligomères résistants aux protéases microbiennes.

Sur le plan fonctionnel, sa production est stimulée notamment par l'exposition à des pathogènes et par la neuroinflammation. Il possède une activité antimicrobienne liée notamment à sa capacité à s'auto-agréger pour capturer les pathogènes et une activité de modulation de l'immunité. Nous allons parcourir les différentes études ayant mis en évidence son rôle antimicrobien dans les paragraphes suivants.

In vitro (revue dans (33,221)), plusieurs équipes ont mis en évidence une activité antimicrobienne d'aβ à l'encontre des virus enveloppés comme HSV-1 (214,237,244,245), HHV-6 (214) et les virus influenza A H3N2 et H1N1 (246) ainsi que pour certaines bactéries et levures (86,247–249). Ce n'était par contre pas le cas pour les virus non enveloppés comme les adénovirus (245). Il semble que le peptide agisse à un stade précoce de l'infection en se liant à la paroi des pathogènes empêchant ainsi leur entrée dans la cellule (214,245,247) et les séquestrant dans un réseau fibrillaire (214,247) (Figure 19). Concernant le virus HSV-1, du fait d'une forte homologie entre la séquence d'acides aminés de sa glycoprotéine d'enveloppe gB et celle du peptide aβ (250), il est possible que le peptide interagisse avec cette glycoprotéine pour empêcher l'entrée du virus dans la cellule.

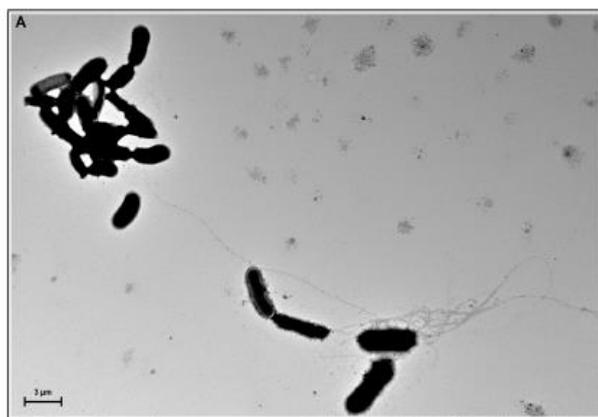


Figure 19 : D'après Kumar (247), filaments amyloïdes séquestrant une levure de type *Candida albicans* en se fixant à sa paroi

Plusieurs études ont également mis en évidence que le peptide $\text{A}\beta$ était impliqué dans **la modulation de l'immunité** (251). Après inoculation du virus HSV-1, l'accumulation de peptides amyloïdes entraînaient la production des cytokines pro-inflammatoires et la survenue d'une gliose (237,239). Lukiw et al (244) ont également montré un rôle du peptide $\text{A}\beta$ 1-42 dans la réponse antivirale via la régulation du système du complément. Par ailleurs, Carter et al (252) ont mis en évidence que l'expression des gènes associés au métabolisme de l'APP était principalement retrouvée au niveau des cellules immunitaires.

Ces études ont également permis de mettre en évidence certains des **mécanismes cellulaires impliqués dans la réaction à l'encontre de l'infection HSV-1**. Ainsi, la liaison d'HSV-1 avec la membrane neuronale entraînerait une entrée importante de calcium dans le milieu intracellulaire (232,235) (de manière intéressante, des anomalies de la concentration en calcium sont également retrouvées dans la MA). Ceci entraînerait ensuite la phosphorylation d'APP, l'augmentation de l'activité des β et γ sécrétases (230,231,239) et la diminution de l'activité des α sécrétases (233,236). Au total, ces modifications aboutiraient au clivage de différents récepteurs du virus HSV-1 par les γ sécrétases (253) et à la production du peptide antimicrobien $\text{A}\beta$ empêchant l'entrée du virus dans les cellules.

On peut également noter que la molécule APP participe au transport antérograde rapide du virus HSV-1 depuis le corps du neurone vers l'axone (254–256). Pourrait-on faire l'hypothèse qu'il

s'agirait d'une manière pour la cellule de se « débarrasser de l'intrus » pour éviter sa réplication ?

Par ailleurs, l'accumulation des peptides amyloïdes en intracellulaire semble expliquée par leur accumulation au sein d'autophagosomes, structures impliquées dans la dégradation de certains déchets cellulaires (on parle d'autophagie) ou de pathogènes (on parle d'hétérophagie). Cette accumulation semble secondaire à une incapacité de fusion entre ces autophagosomes et les lysosomes qui contiennent les enzymes nécessaires à la dégradation (233,236,257). Cette anomalie, également rapportée dans la maladie d'Alzheimer (37,258), pourrait-elle être le reflet de la génération de sites de réplication par le virus au sein des autophagosomes (259) ou d'un mécanisme d'échappement mis en place par le virus notamment pour limiter la présentation antigénique qui en résulte (260) ?

In vivo, après inoculation intracérébrale du virus HSV-1 chez des souris, Eimer et al. (214) ont également mis en évidence une meilleure survie chez les souris transgéniques 5XFAD exprimant $a\beta$ que chez les contrôles ainsi que l'apparition de marqueurs histologiques assez similaires aux plaques amyloïdes après infection. L'activité antimicrobienne du peptide amyloïde a également été mis en évidence pour d'autres types d'infections (247,261).

Chez l'homme, de façon cohérente avec l'hypothèse d'une séquestration d'HSV par les plaques amyloïdes, Wozniak et al (178) ont mis en évidence grâce à des techniques de PCR in situ la présence d'ADN d'HSV-1 au sein de la majorité des plaques amyloïdes chez les sujets atteints de maladie d'Alzheimer comme chez les sujets contrôles (Figure 20).

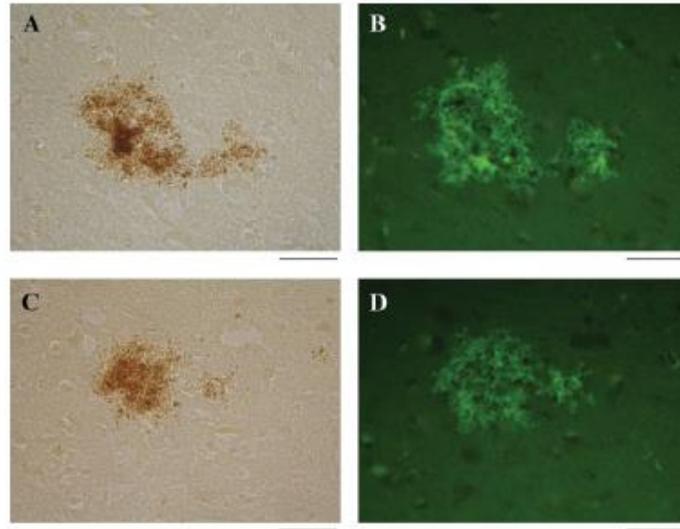


Figure 20 : D'après Wozniak (178) , co-localisation de l'ADN HSV-1 et des plaques amyloïdes au sein de cerveaux de patients atteints de maladie d'Alzheimer (A,B) et de sujets contrôles (C,D).

Détection de l'ADN d'HSV-1 par PCR in situ (A,C) et des plaques amyloïdes par marquage à la thioflavine 5 (B,D)

Carter et al (262) ont également mis en évidence que les plaques amyloïdes (ainsi que les dégénérescences neurofibrillaires) présentaient une concentration particulièrement élevée en protéines capables de se lier au virus HSV-1 ou impliquées dans les différentes étapes de son cycle cellulaire ainsi que des composants impliqués dans la défense anti-infectieuse. Ils ont ainsi fait l'hypothèse que ces structures étaient l'équivalent de « cimetières secondaires à un affrontement entre le virus et le système immunitaire de l'hôte ».

De plus, de manière indirecte, **l'augmentation du taux d'infection dans certains essais cliniques ciblant la protéine $\text{a}\beta$** semblent aller également en faveur d'un rôle antimicrobien du peptide amyloïde. Ainsi, entre 2005 et 2008, un essai de phase 3 randomisé multicentrique et en double aveugle a tenté d'évaluer l'efficacité et la tolérance du Tarenflurbil (molécule diminuant le taux d' $\text{a}\beta_{1-42}$) chez 1684 patients atteints de la maladie d'Alzheimer (263). Cet essai n'a pas permis de mettre en évidence l'efficacité du traitement mais a mis en évidence une augmentation des cas de zona dans le groupe traité par rapport au groupe placebo (2,0% vs 0,7% - $p=0,03$). De plus, en 2002, un essai de phase 2 évaluant l'efficacité et la tolérance du vaccin anti-amyloïde AN-1792 chez 375 patients atteints de la maladie d'Alzheimer (264) a dû

être stoppé en raison de la survenue de 15 cas de méningoencéphalites, dont certaines liées au virus HSV-1 (265,266).

1.3.2.2 **HSV-1 et pathologie Tau**

1.3.2.2.1 **L'infection à HSV-1 entraîne l'apparition de la pathologie Tau**

In vitro, plusieurs études (Tableau 9) ont mis en évidence que l'inoculation du virus HSV-1 dans un milieu cellulaire entraînait une augmentation de la concentration en protéine Tau hyper-phosphorylée, ceci à la fois au niveau du cytoplasme et au niveau du noyau, ainsi qu'une modification de la structure et de la dynamique du cytosquelette et une réduction de la viabilité neuronale suite à l'infection virale. Néanmoins, les études in vitro n'ont pas produit de résultats concordants pour le moment quant au type de kinases humaines activées suite à l'inoculation du virus HSV-1 (234,267,268) et un rôle de kinases d'origine virale a également été proposé (269).

In vivo chez la souris (Tableau 9), deux études ont également mis en évidence que l'inoculation du virus HSV-1 entraînait une accumulation de P-Tau au niveau du ganglion trigéminal, des hippocampes et du cortex.

Chez l'homme (Tableau 9), Krut et al retrouvaient une augmentation des concentrations intrathécales de Tau totales et phosphorylées chez les sujets atteints d'encéphalite herpétique par rapport aux sujets contrôles et aux sujets ayant d'autres infections du système nerveux central. Néanmoins, Olsson et al ne retrouvaient pas d'association entre le statut sérologique HSV et la quantité de dégénérescences neurofibrillaires intracérébrales dans des échantillons de cerveaux post-mortem.

A noter que les marqueurs de la pathologie tau semblent également retrouvés dans d'autres types d'infections virales comme dans la panencéphalite sclérosante subaiguë liée au virus de la rougeole (270–272), dans une forme de parkinsonisme secondaire à une encéphalite virale (199) et dans les atteintes neurologiques liées au VIH (273,274). Ce type de lésions semble également avoir été retrouvé en rapport avec des infections bactériennes à spirochètes (275).

Tableau 9 : Etudes ayant évalué l'association entre infection HSV et pathologie Tau

Auteur - Année	Milieu	Virus	Résultats
In vitro			
Zambrano – Chili - 2008 (276)	Cellules neuronales de souris	HSV1	Altération de la structure du cytosquelette (réduction de la longueur des axones, « ballooning » du soma, réarrangement des microtubules...) Altération de la dynamique du cytosquelette Réduction de la viabilité neuronale Accumulation de P-Tau (phosphorylée au niveau S396 et S404) et diminution de Tau déphosphorylée (S202 T205)
Wozniak – UK - 2009 (267)	Cellules neuronales humaines	HSV1	Phosphorylation de Tau au niveau des acides aminés T212, S214 (spécifiques de la MA), S396, S404 et S202 Augmentation de la concentration de T-Tau
Lerchundi – Chili - 2011 (277)	Cellules neuronales et astrocytaires de souris	HSV1	Activation de caspase-3 et clivage de Tau au niveau de l'acide aminé D421 (dans les 4 premières heures suivant l'infection et indépendamment de la réplication virale)
Alvarez – Espagne - 2012 (268)	Cellules neuronales humaines	HSV1	Phosphorylation de Tau Accumulation de P-Tau dans le noyau au niveau des sites habituels de réplication virale
Kristen – Italie – 2015 (236)	Cellules neuronales humaines	HSV2	Accumulation intranucléaire et cytoplasmique de P-Tau
Powell-Doherty – USA – 2020 (238)	Cellules neuronales hippocampiques de souris	HSV1	Après une infection aiguë, augmentation de la concentration en P-Tau, 24 et 72h après infection, chez les cellules infectées par rapport aux non-infectées Augmentation également (mais phosphorylation différente ?) chez les cellules non-infectées et traitées par aciclovir ?
Cairns – USA 2020 (239)	Modèle 3D de cerveau humain (cellules neuronales et gliales) + modèle cellulaire classique	HSV1	Infection avec une dose importante de virus entraîne une apoptose cellulaire Infection avec une dose plus faible de virus entraîne l'apparition de P-Tau ainsi qu'une diminution de la fonctionnalité neuronale
In vivo chez l'animal			
Martin – Chili - 2014 (278)	Modèle d'encéphalite herpétique chez des souris BALB/c après inoculation intranasale du virus	HSV1	Accumulation au niveau du ganglion trigéminal et du cortex de deux marqueurs liés à la neurodégénération 1/ Tau phosphorylé au niveau de l'acide aminé S396 2/ Tau clivé par caspase3 au niveau de l'acide aminé D421

De Chiara – Italie - 2019 (205)	Souris BALB/c (n=74) Inoculation du virus après scarification de la lèvre (n=45) Cycle de réactivations virales induites par un stress thermique	HSV1	Chez les souris soumises à de multiples réactivations virales induites par stress thermique (vs souris contrôles): 1/ Accumulation au niveau des hippocampes de phosphoT205-Tau et phosphoT212S214-Tau (p=0,03) 2/ Accumulation dans le néocortex de phosphoT212S214-Tau (p=0,06) et de « paired helical filaments tau » (p=0.03) 3/ Pas de différence concernant phosphoS396-Tau entre les deux groupes de souris 4/ L'accumulation de P-Tau augmentait avec le nombre de réactivations. 5/ Clivage de la protéine Tau par caspase 3 au niveau de l'acide aminé D421 au niveau de l'hippocampe Chez les souris infectés mais n'ayant pas été soumises à des réactivations (vs souris contrôles) : 1/ Augmentation de phosphoS396-Tau 2/ Diminution de phosphoT212S214-tau 3/ Aucune différence n'était retrouvée pour phosphoT205-Tau et le clivage de la protéine Tau.
In vivo chez l'homme			
Krut – Suède - 2013 (215) Etude sur le LCS	Echantillon : LCS de 42 patients contrôles, 21 MA, 10 encéphalites herpétiques HSV1, 12 méningites bactériennes, 13 neuroborrélioses de Lyme, 21 démences associées au VIH	HSV1	Augmentation de T-Tau dans le LCS chez les patients MA (773 ng/l; 635–955) et chez ceux ayant une encéphalite herpétique (6 042 ng/l; 4 372–10 137) par rapport aux contrôles (240 ng/l; 160–380) ou à ceux avec une autre infection du SNC Augmentation de P-Tau chez les patients MA (87 ng/l; 71–98) et chez ceux ayant une encéphalite herpétique (87 ng/l; 71–113) par rapport aux contrôles (35 ng/l; 26–51) ou à ceux avec une autre infection du système nerveux central
Olsson – Suède - 2016 (183) Etude sur des échantillons de cerveaux post- mortem	Echantillon : 141 sujets avec sérologies HSV-1 Exposition : Sérologies plasmatiques IgG et IgM anti-HSV1 Outcome : dégénérescences neurofibrillaires	HSV1	Prévalence d'IgG+ : 85.8% d'IgG+ - 39.0% des sujets IgG+ avaient des dégénérescences neurofibrillaires vs 25.0% des sujets IgG- (p=0.352) - Modèle de régression logistique ajusté sur l'âge ORa=1.264 [0.281–5.681] p=0.760 Prévalence d'IgM+ : 2.5% d'IgM+ - Modèle de régression logistique ajusté sur l'âge et le sexe : p=0.519 Taux d'IgG chez les IgG+ : Pas de corrélation entre taux d'IgG et dégénérescences neurofibrillaires (corrélation de Pearson –0.039, p=0.734).

1.3.2.2.2 Pourquoi HSV-1 entraînerait-il l'apparition de lésions Tau ?

Les mécanismes liant infection HSV et pathologie Tau semblent, pour le moment, moins bien compris que ceux relatifs à la pathologie amyloïde. Néanmoins, certaines pistes d'explication existent reflétant la diversité des kinases potentiellement impliquées dans la phosphorylation de Tau et activées lors de diverses interactions existant entre l'hôte et le virus :

- **Lors du transport intracellulaire du virus :** Le virus HSV-1 utilise le réseau de microtubules (dont Tau est un composant essentiel) pour se déplacer au sein de la cellule et notamment pour atteindre son lieu de réplication, le noyau (279,280). Ses déplacements entraînent des modifications au niveau des microtubules (276) et impliquent plusieurs protéines virales (comme VP22 et UL21) présentant des propriétés similaires à celles de Tau en termes de stabilisation et d'assemblage des microtubules (253,267,269,281,282). Certaines de ces protéines nécessitent d'être phosphorylées comme, par exemple, la protéine VP22 qui est phosphorylée par une Caséine kinase 2 (283), également capable de phosphoryler la protéine Tau (253) et associée aux dégénérescences neurofibrillaires (284).
- **Lors de la réplication virale :** Certains auteurs suggèrent que l'accumulation de protéines Tau hyperphosphorylées au niveau du noyau reflète des réentrées anormales dans le cycle cellulaire (285,286). Ces réentrées pourraient être induites par HSV-1 qui est capable d'activer notamment la protéine kinase cdc2 impliquée dans la régulation du cycle cellulaire (287,288), capable de phosphoryler la protéine tau (253) et associée aux dégénérescences neurofibrillaires (289). Ceci pourrait ainsi expliquer les résultats obtenus par Alvarez et al in vitro montrant une accumulation de protéines tau hyperphosphorylées dans les régions nucléaires où siège la réplication virale (268) ainsi que les résultats de Wozniak et al montrant que l'accumulation de phospho-tau est dépendante de la réplication du virus (290).
- **Lors de la réponse immunitaire de l'hôte :** Moir et al (213) ont également proposé que, à l'instar du peptide a β , la formation de filaments de protéines Tau ait aussi un rôle de biofloculant. L'équipe de Kobayashi a également mis en évidence que certaines séquences de la protéine Tau présentaient une activité antimicrobienne contre certaines bactéries et levures (291). Powell et al (238) ont émis l'hypothèse que phospho-tau serve à signaler la présence d'une agression (virale ou non) et soit impliquée dans la défense antivirale innée.

- **Lors de la régulation de l'apoptose** : HSV-1 est capable d'activer la protéine JNK, kinase capable de phosphoryler la protéine Tau (253) et impliquée dans le phénomène d'apoptose (277).

A noter également que des liens existent entre certaines des autres anomalies retrouvées dans la MA et l'infection à HSV-1. Ces liens ne seront pas détaillés ici mais on peut néanmoins citer le fait que le virus HSV-1 est capable d'induire une dysfonction mitochondriale (292) et pourrait être impliqué dans les anomalies associées au métabolisme lipidique (103,293).

1.3.3 Séquence temporelle

1.3.3.1 Une infection par le virus HSV-1 tôt dans la vie

Comme nous l'avons vu précédemment, on estime que l'infection par le virus HSV-1 a lieu majoritairement dans l'enfance ou l'adolescence. Pourrait-on ainsi faire l'hypothèse que cette infection précoce expliquerait la présence de **protéines tau hyperphosphorylées au niveau du locus coeruleus dès les premières décennies de vie** comme cela a été mis en évidence chez les sujets de moins de 30 ans (et même dès 6 ans !) par Braak et al (60) ?

Cette hypothèse impliquerait une invasion du système nerveux central (au moins a minima) par le virus HSV-1 relativement tôt dans la vie - concomitamment à l'apparition des premières lésions tau - et va à l'encontre des rares études ayant recherché la présence d'HSV-1 chez les sujets jeunes. En effet, les résultats d'une étude anatomopathologique menée par Jamieson et al (172) ne mettaient pas en évidence d'ADN HSV-1 au sein des cortex frontaux ou temporaux chez des sujets de moins de 65 ans (n=9) et Wozniak et al (180) ne retrouvaient pas non plus de synthèse intrathécale d'anticorps anti-HSV chez les sujets jeunes (n=4). Pour autant, ces études menées sur de faibles effectifs ne permettent pas d'éliminer formellement la présence du virus dans le système nerveux central des plus jeunes, soit en moindre quantité limitant sa détection soit dans des zones plus précocement atteintes par la maladie d'Alzheimer. En effet, l'invasion du système nerveux pourrait rester relativement circonscrite tant que le système immunitaire de l'hôte reste capable de contenir correctement l'infection. Des études chez un

plus grand nombre de sujets jeunes seraient bienvenues afin de clarifier ce point ; d'autant plus que certaines études épidémiologiques semblent montrer un lien entre infection herpétique et diminution des capacités cognitives y compris chez les plus jeunes (112,294,295).

1.3.3.2 Immunosénescence des lymphocytes T CD8+ et réactivations

Par la suite, avec l'âge, surviennent des modifications des défenses immunitaires, souvent regroupées sous le terme parfois trompeur¹⁶ d'« immunosénescence » (297,298).

Ces modifications, retrouvées plus fréquemment chez les sujets atteints de MA que chez des sujets contrôles d'âge équivalent (299), touchent les différents acteurs de l'immunité à des degrés variables et affectent plus **particulièrement les lymphocytes T CD8+** (300), acteurs majeurs de la défense antivirale :

- Le nombre de LT CD8+ « naïfs » dans le sang a tendance à diminuer tandis que le nombre de LT CD8+ « mémoire » augmente. Ceci est une conséquence à la fois de l'involution thymique et d'une adaptation du système immunitaire secondairement à une exposition antigénique au cours de la vie. Les infections virales latentes – particulièrement l'infection par le CMV (301) – semblent participer largement à cette exposition de par leurs réactivations fréquentes.
- Ces changements sont également associés à des altérations fonctionnelles des LT CD8+ qui influent notamment sur leur capacité à protéger l'organisme face aux infections ainsi que sur la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires.

L'assouplissement du contrôle de l'infection herpétique pourrait ainsi entraîner la survenue de **réactivations plus fréquentes et/ou plus intenses**. Chaque réactivation étant une opportunité d'infecter de nouvelles cellules neuronales, ceci pourrait ainsi entraîner **une accélération de la propagation du virus (et donc des marqueurs tau et amyloïde) au sein du système nerveux central**. Cette intensification pourrait-elle être à l'origine du développement de la maladie à un âge avancé de la vie ?

¹⁶ En effet, on peut estimer que certaines de ces modifications relèvent plus d'adaptations de système immunitaire que d'anomalies liées à l'âge (sénescence) (296).

Pour autant, dans les faits, **qu'en est-il d'une augmentation de la fréquence de réactivations du virus HSV-1 avec l'âge ?** Certaines études, basées sur le recueil des symptômes à type d'herpès labial, décrivent une diminution des réactivations avec l'âge (116,302). A l'inverse, Stowe et al, dans une étude de séroprévalence, évoque une augmentation des réactivations du virus HSV avec l'âge, spécifiquement chez les sujets co-infectés par le CMV (129). A noter qu'une augmentation de la fréquence de réactivations des virus CMV et EBV était également mise en évidence avec l'avancée en âge (128). Plusieurs pistes pourraient être envisagées pour expliquer ces discordances : un biais de mémorisation dans les études basées sur la déclaration de symptômes ? Pourrait-on enfin envisager un « switch » en termes de localisations des réactivations – périphériques d'abord puis plus fréquemment centrales secondairement à l'invasion du système nerveux ?

1.3.3.3 **Rôle du peptide amyloïde et clairance par les cellules microgliales**

Une fois le virus HSV-1 présent dans le système nerveux central, nous avons vu précédemment qu'il pourrait entraîner l'accumulation des marqueurs physiopathologiques de la maladie d'Alzheimer. **Dans l'hypothèse infectieuse, si le peptide $\text{A}\beta$ est supposé avoir un rôle bénéfique via son action antimicrobienne, sa toxicité n'est pas pour autant remise en question.** Ainsi, Kumar et al (214,247) ont proposé, qu'à l'instar d'autres peptides antimicrobiens, $\text{A}\beta$ possède un rôle bénéfique à faible dose mais soit toxique en cas d'accumulation (303,304).

Sa clairance, réalisée en grande partie par les cellules microgliales, aurait alors un rôle majeur dans l'évolution de la maladie et notamment dans la survenue de lésions symptomatiques (305–307). En effet, d'après les résultats d'une étude anatomopathologique, c'est le niveau d'activation de la microglie qui permet de différencier les sujets symptomatiques et asymptomatiques à niveau égal de pathologies tau et amyloïde (308). De plus, comme les autres composantes du système immunitaire, **les cellules microgliales n'échappent pas à l'apparition lente et progressive d'une immunosénescence** (241,309). Ainsi, chez les sujets atteints par la MA, des cellules microgliales « dystrophiques » (sénescentes) sont retrouvées au niveau des zones présentant des dégénérescences neurofibrillaires. De plus, chez la souris, il semble que, avec l'âge, la clairance d' $\text{A}\beta$ diminue et que, en parallèle, le vieillissement des

cellules microgliales soit associé à une augmentation de la sécrétion de cytokines (notamment interleukine 6 (IL-6) et tumor necrosis factor α (TNF- α)) (310).

Parmi les études ayant étudié l'implication du virus HSV-1 dans la MA, deux éléments semblent indirectement en faveur d'une association entre microglie et apparition de lésions symptomatiques. D'une part, Cheon et al (171), s'ils retrouvaient l'ADN d'HSV-1 chez les sujets atteints comme chez les contrôles, notaient que les sujets MA différaient des contrôles par un taux d'IL-6 plus élevé. D'autre part, Wozniak et al (178), mettant en évidence la présence d'HSV-1 au sein des plaques amyloïdes dans le cerveau à la fois des sujets atteints et des sujets contrôles, notaient deux différences : i) la quantité de plaques était plus faible chez les sujets contrôles et ii) chez les sujets contrôles, seul 24% de l'ADN viral était associé aux plaques contre 72% chez les sujets atteints de MA. Cette dernière observation pourrait-elle refléter l'importance de la clairance des dépôts amyloïdes (et des toxiques qui y sont piégés) sur la survenue de lésions symptomatiques ?

Néanmoins, les mécanismes moléculaires et cellulaires aboutissant à la perte neuronale ne semblent pas encore entièrement compris (311). Impliquent-ils une action toxique directe des pathologies tau ou amyloïde ? Ou, dans le cadre de l'hypothèse infectieuse, une action directe du virus ? Une action délétère de la réaction immunitaire à leur rencontre ? La survenue d'une neuroinflammation pourrait-elle fragiliser l'équilibre existant entre la cellule hôte et le virus et entraîner soit l'apoptose de la cellule soit la sortie du virus HSV-1 de son état de latence et la survenue d'une infection lytique ? A noter également que d'autres mécanismes sont suspectés d'intervenir dans la mort neuronale. On peut notamment citer la survenue d'une dysfonction mitochondriale (qui pourrait potentiellement être médiée par l'infection à HSV-1 (292) comme vu précédemment). Autant de questions restant à élucider pour permettre d'avoir une vision fine de la physiopathologie de la maladie...

1.3.4 Profil des patients et facteurs de risque

Parmi les maladies infectieuses, il n'est pas rare de rencontrer des pathologies pour lesquelles une partie des sujets infectés ne développent pas de symptômes et sont ainsi considérés comme « porteurs sains » (la tuberculose par exemple ou plus récemment l'infection à SARS-Cov2) (312). Une situation comparable pourrait exister concernant l'infection herpétique et ainsi expliquer que, malgré une séoprévalence avoisinant les 80% dans la population âgée, seule une partie des sujets infectés développent la maladie d'Alzheimer. **Cette susceptibilité pourrait être liée à différents facteurs associés à la fois à l'hôte** (qu'ils soient génétiques (313) ou environnementaux) **et/ou au virus**. Ces facteurs pourraient également influencer sur l'âge de début des symptômes.

1.3.4.1 Facteurs de susceptibilité génétiques

Parmi les facteurs de risque de MA, nombre d'entre eux semblent pouvoir être impliqués soit directement dans le cycle cellulaire d'HSV-1 soit dans la réaction immunitaire à son encontre (66,252,253,262,314–318). Ceux-ci sont en partie répertoriés sur le site <http://www.polygenicpathways.-co.uk/hsvgenes.htm>. On peut notamment citer les gènes des formes familiales de MA (APP, PSEN1, PSEN2), APOE mais également des dizaines d'autres comme CLU, CR1, PICALM, BIN1, CD33, MAPT...

Dans la suite de ce paragraphe, nous nous intéresserons particulièrement **au gène APOE** qui est l'un des facteurs de risque génétiques majeurs de la MA.

Chez l'homme, l'allèle APOE4 semble être un facteur de risque d'herpès labial. D'après Lin et al (319), la fréquence d'APOE4 chez 31 sujets souffrant d'herpès labial était de 31% vs 8% chez 31 sujets asymptomatiques ($p < 0.001$). Itzhaki et al retrouvaient des résultats similaires (177). Koelle et al (320) retrouvaient également un risque augmenté d'herpès labial chez les sujets APOE4 (RR 4.62 [1.32-15.05] $p = 0.016$) tandis que le génotype APOE n'était pas associé ni à l'excrétion virale au niveau oral ou génital ni à la présence de lésions symptomatiques au niveau génital. Quant à elles, les études ayant évalué une potentielle association entre le génotype APOE et la survenue et/ou la sévérité d'une encéphalite herpétique (321,322) ou

d'une kératite herpétique (323,324) rapportent des résultats discordants. A noter que le génotype APOE est également associé à la fréquence et/ou à la sévérité des lésions dans d'autres infections comme l'infection par le VIH, le VZV ou l'hépatite C (revue dans (325)).

L'existence d'une interaction entre APOE et HSV-1 pouvant influencer la survenue d'une maladie d'Alzheimer a également été proposée par différents auteurs :

- Cette interaction a d'abord été suggérée dans le cadre d'études post-mortem ayant mis en évidence une prévalence plus importante d'APOE4 chez les sujets MA seulement s'ils étaient infectés par HSV-1 (55% versus moins de 10% chez les MA non infectés ou chez les contrôles quel que soit leur statut HSV) (177,194,319,326). Ces premiers résultats ont été très discutés (327–331) notamment en raison du faible nombre de sujets contrôles porteurs d'APOE4 et des résultats de Beffert et al (179) qui eux ne retrouvaient pas de différence significative de fréquence d'APOE4 chez 73 sujets MA, infectés ou non (37% vs 24%, $p=0.19$).
- Plus récemment, deux études épidémiologiques ont rapporté des résultats en faveur d'une interaction : l'équipe de Lövheim a mis en évidence un risque augmenté de maladie d'Alzheimer (332) et de déclin en mémoire épisodique (333) chez les sujets infectés par HSV-1 et porteurs de l'allèle APOE4. A l'inverse, Letenneur et al (109) ne retrouvaient pas d'interaction significative entre le statut HSV et l'allèle APOE.
- Les études chez la souris semblent également conforter les résultats en faveur d'une interaction : après inoculation du virus HSV-1, la charge virale intracérébrale était plus importante chez les porteuses de l'allèle APOE4 que chez les porteuses d'APOE3 (334,335).

Néanmoins, **les mécanismes pouvant expliquer cette interaction sont encore mal compris** et plusieurs hypothèses ont été proposées (32,325,329) impliquant notamment un impact de l'isoforme apoE soit sur l'entrée du virus dans la cellule (293,336), soit sur le maintien du virus à l'état de latence (337), soit sur la capacité d'apoE à participer à la réparation des dommages tissulaires (338) ou soit sur la réponse immunitaire de l'hôte y compris via une possible interaction avec $\alpha\beta$ (32,252).

1.3.4.2 Facteurs liés à l'infection

Plusieurs facteurs liés au virus HSV-1 (122,185) pourraient influencer sur la survenue ou non de la maladie d'Alzheimer : l'âge et le site de primo-infection, la fréquence de réactivations, la charge virale, la souche virale et ses capacités de neuroinvasion et/ou de neurovirulence... Actuellement, ces facteurs n'ont pas été investigués chez l'homme dans le cadre de l'hypothèse infectieuse centrée sur HSV-1.

La **combinaison de plusieurs pathogènes différents** semble également être un facteur important à prendre en compte. Une origine « poly-microbienne » pourrait-elle expliquer la diversité des formes cliniques de MA et/ou la cooccurrence de différentes pathologies neurodégénératives chez un même patient? Certaines infections pourraient-elles également moduler l'effet d'un autre pathogène ?

Parmi les études ayant investigué **l'impact du nombre de coinfections par différents pathogènes**, Bu et al (339) ont mis en évidence qu'un nombre élevé de coinfections (parmi lesquelles HSV-1, CMV, *Borrelia Burgdorferi*, *Chlamydia pneumoniae* et *Helicobacter Pylori*) était associé à la maladie d'Alzheimer, à un score cognitif plus faible au MMSE et à des taux plus élevés de cytokines inflammatoires et d' $\alpha\beta$ plasmatiques. Une association était également retrouvée lorsque virus et bactéries étaient étudiés séparément. Katan et al (340) retrouvaient une association entre des performances cognitives moindres et le nombre élevé d'infections (parmi HSV-1, HSV-2, CMV, *Chlamydia pneumoniae* et *Helicobacter Pylori*). Mais, contrairement aux résultats de Bu, cette association n'était retrouvée que pour les virus et pas pour les bactéries lorsque ceux-ci étaient étudiés séparément. Strandberg et al (341) ont également mis en évidence que le nombre d'infections virales (HSV1, HSV2, CMV) était associé à un score plus bas au MMS à l'inclusion et au déclin cognitif sur une seule année tandis que le nombre d'infections bactériennes (*Chlamydia pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae*) n'était pas associé à la cognition. A l'inverse, George et al (342) ne retrouvaient pas d'association entre le fardeau infectieux (HSV-1, CMV, *Chlamydia pneumoniae* et *Helicobacter Pylori*) et le déclin cognitif, ceci sur 20 ans de suivi.

Plus particulièrement, l'action du CMV pourrait être primordiale étant donné son rôle potentiel dans « l'épuisement » du système immunitaire (129) entraînant une possible modulation de

l'effet d'autres pathogènes. Ainsi, Lövheim et al ont par exemple mis en évidence une interaction entre le CMV et HSV-1 concernant la survenue d'une maladie d'Alzheimer (343).

1.3.4.3 Autres facteurs environnementaux

On peut noter que **plusieurs facteurs de risque (ou facteurs protecteurs) semblent communs à la maladie d'Alzheimer et à l'infection par le virus HSV-1 :**

- Comme vu précédemment, le **sexe féminin** et un **moindre niveau d'éducation** sont à la fois des facteurs de risque de MA et de réactivations du virus HSV-1.
- Une implication du virus HSV-1 dans le développement de lésions **d'athérosclérose et des maladies cardio-vasculaires**, facteur de risque de MA, a également été suggérée (344–346).
- Il pourrait également exister un lien entre le fait que les **traumatismes crâniens** soient un facteur de risque de MA et le fait que les lésions axonales soient un facteur de réactivation du virus. La survenue d'un traumatisme crânien (et les potentielles lésions axonales associées) pourrait-elle stimuler la réactivation du virus et la propagation de la pathologie ? Néanmoins, ceci nécessite également de discuter la possibilité que **les réactivations virales d'HSV-1 ne soient pas l'élément déclencheur de la pathologie mais uniquement un phénomène secondaire aux premières lésions axonales survenant dans la MA**. Dans cette optique, l'infection à HSV-1 pourrait être uniquement un facteur aggravant une pathologie préexistante (et dont la cause resterait à définir).
- Certains **facteurs nutritionnels** associés à une diminution du risque de démence ont également démontré une activité anti-herpétique notamment certains nutriments comme les polyphénols, la vitamine D, le zinc, le cholestérol et certains aliments comme le thé, le café ou certaines noix comme les amandes.

1.3.5 HSV-1 et marqueurs cliniques ou radiologiques

Qu'en est-il finalement des études ayant évalué l'impact de l'infection herpétique sur la survenue de déficits cognitifs et sur les atteintes radiologiques sous-jacentes ?

1.3.5.1 HSV-1 et atteintes radiologiques

A ce jour, à notre connaissance, **aucune étude n'a évalué l'association entre infection herpétique et présence d'atteintes radiologiques compatibles avec un diagnostic de maladie d'Alzheimer en population générale âgée**, ceci qu'il s'agisse d'anomalies de la substance grise ou de la substance blanche.

On peut néanmoins citer certaines **études réalisées sur d'autres types de populations** :

- **Uniquement chez des patients atteints de MA ou diagnostiqués comme ayant un MCI amnésique**, trois études du même groupe (Tableau 10) ont évalué l'association entre statut herpétique et volume de substance grise par des techniques de type VBM « Voxel Based Morphometry »¹⁷ (347–349). Les auteurs ont ainsi mis en évidence une corrélation positive entre le taux d'IgG anti-HSV et les volumes corticaux au niveau des pôles temporaux, du cortex orbito-frontal et des gyri frontaux inférieurs et concluaient à un rôle protecteur d'un taux élevé d'IgG anti-HSV chez les sujets MA. A noter que paradoxalement le taux d'IgG était significativement plus élevé chez les sujets MA par rapport aux sujets contrôles. De plus, chez les sujets MCI amnésiques, une corrélation positive entre volumes corticaux et taux d'IgG n'était retrouvée que chez les sujets « converters » identifiés comme développant par la suite une maladie d'Alzheimer (vs sujets « non converters »). A l'inverse, une corrélation positive entre volume corticaux et index d'avidité HSV¹⁸ n'était retrouvée que chez les sujets « non converters ».
- Chez **5 patients ayant un antécédent d'encéphalite herpétique**, la réalisation d'une imagerie cérébrale plusieurs années après l'épisode (délai médian de 4 ans) n'a pas mis en

¹⁷ Ces techniques permettent de comparer entre les sujets le volume de substance grise voxel à voxel. Il est possible d'étudier l'atrophie de la substance grise soit sur l'ensemble des régions cérébrales sans hypothèse a priori sur la région atteinte soit sur des régions d'intérêt (ROI).

¹⁸ La mesure d'un index d'avidité semble avoir été développée en obstétrique pour distinguer une primo-infection HSV d'une infection ancienne (350–354). Ceci semble reposer sur le fait qu'il existe une « maturation » des anticorps quelques mois après la primo-infection (355). Pour certains auteurs, un index d'avidité important serait le marqueur de multiples réactivations virales (349).

évidence de différence concernant le volume ou l'épaisseur de l'hippocampe (hippocampe controlatéral à l'infection initiale) par rapport à un groupe de 51 sujets contrôles appariés sur l'âge. Néanmoins, des anomalies de la substance blanche dans les faisceaux reliant le lobe temporal médian aux autres régions cérébrales étaient retrouvées en analyse par DTI (356).

- **Chez des patients schizophrènes**, plusieurs études ont mis en évidence une association entre l'infection herpétique et la présence d'atrophie corticale particulièrement au niveau des régions frontales et cingulaires (revue dans (357–359)).

Tableau 10 : Etudes ayant évalué l'association entre infection HSV et anomalies de la substance grise chez des sujets atteints de maladie d'Alzheimer

Auteurs	Echantillon d'étude	Méthodes	Résultats
Mancuso 2014 Italie (348)	- 44 patients atteints de MA à un stade modéré (MMSE entre 18 et 23) et séropositifs à HSV1 - 22 sujets sains appariés sur l'âge et le sexe et séropositifs à HSV1	Analyse VBM - Régression linéaire pour évaluer les corrélations entre taux d'IgG et volume cortical chez les MA puis chez les contrôles. Pas d'ajustement	Chez les sujets MA, il existe une corrélation positive entre taux d'IgG et volumes corticaux au niveau du pôle temporal gauche, du cortex orbito-frontal droit et du gyrus frontal inférieur droit/pôle temporal. Chez les sujets contrôles, pas de corrélation ? (Résultats non fournis). NB : Taux d'IgG + élevé chez les MA que chez les contrôles.
Mancuso 2014 Italie (349)	- 44 patients atteints de MA au stade modéré - 23 patients diagnostiqués comme ayant un MCI amnésique	Analyse VBM - Régression linéaire pour évaluer les corrélations entre taux d'IgG et volume de substance grise dans 4 régions d'intérêt (définies a priori à partir des données du 1 ^{er} article de Mancuso en 2014) : cortex orbito-frontal, gyri frontaux inférieurs D et G, pôles temporaux. Zone « contrôle » : cortex préfrontal dorso-latéral. Ajustement sur le volume intracrânien	Chez les sujets MA : Corrélation positive entre le taux d'IgG et le volume de substance grise au niveau du cortex orbito-frontal, des pôles temporaux et des gyri frontaux inférieurs. Pas de corrélation au niveau des zones « contrôles ». Chez les sujets MCI amnésiques : pas de corrélation NB : Taux d'IgG plus élevé chez les MA et chez les MCI que chez les contrôles.
Agostini 2016 Italie (347)	29 patients diagnostiqués comme ayant un MCI amnésique Suivi pendant 24 mois minimum a permis de distinguer - un groupe de 15 patients « converters » qui ont développé une MA - et un groupe de 14 « non converters »	Analyse VBM – Régression linéaire pour évaluer les corrélations entre statut herpétique à l'inclusion i) taux d'IgG anti-HSV1 ou ii) index d'avidité HSV1 et le volume cortical à l'inclusion séparément chez les « converters » et les « non-converters » Analyse 1 : uniquement sur les zones en rapport avec MA comportant de façon bilatérale : cortex hippocampique et parahippocampique, cortex et pôle temporal, insula, amygdale, planum polare (régions contrôles : gyri pré et post-central) Analyse 2 : analyses exploratoires sur cerveau entier Ajustement sur l'âge, le sexe, le volume total intracrânien, le MMSE	Taux d'IgG anti-HSV1 - Chez les « converters » *Dans les zones associées à la MA : Corrélation positive avec les volumes corticaux au niveau de l'hippocampe gauche et de l'amygdale. *Sur cerveau entier : corrélation positive avec le volume cortical du lobe temporal médian gauche et des cortex occipitaux latéraux bilatéraux - Chez les « non-converters » : pas de corrélation Index d'avidité HSV1 - Chez les « converters » : pas de corrélation - Chez les « non-converters » : *Pas de corrélation dans les zones associées à la MA *En cerveau entier : corrélation positive avec volume cortical au niveau de l'hippocampe gauche, de l'amygdale gauche, gyrus fusiforme gauche, cortex occipital droit et cervelet

1.3.5.2 HSV-1 et déclin cognitif ou survenue d'une démence

Chez l'animal, De Chiara et al (205) ont mis en évidence qu'après inoculation du virus HSV-1 à des souris, celles chez qui des réactivations multiples du virus avaient été provoquées par stress thermique présentaient un déclin cognitif plus important (tâches de mémoire) par rapport aux souris contrôles non infectées ou aux souris infectées mais n'ayant pas subi de réactivations multiples.

Chez l'homme, de nombreuses études de qualité variable ont évalué l'association entre le statut herpétique et la survenue d'un déclin cognitif ou d'une démence. Parmi elles, on peut compter :

- Douze études transversales ou cas-témoins (Tableau 11) : Ces études étaient toutes de taille petite (<100) ou modérée (<500) (à l'exception de l'étude de Tarter comptant plus de 2000 sujets), disposaient de sérologies spécifiques à HSV-1 (sauf pour Whalley et Renvoize) et n'étaient ajustées sur aucun facteur de confusion (sauf pour Tarter, Bu et Costa).
- Huit études étaient réalisées au sein de cohortes (Tableau 12) : Ces études étaient la plupart du temps réalisées sur des effectifs \geq à 500 participants (à l'exception de deux cas-témoins nichés réalisés sur la cohorte BETULA) et, pour la moitié d'entre elles, sur des sérologies spécifiques à HSV-1. Malgré les effectifs plus conséquents, seule l'étude de George et al. était ajustée à la fois sur les comorbidités et les facteurs de risque génétiques.
- Une méta-analyse réalisée par Warren-Gash et al (360) regroupe les articles publiés jusqu'en décembre 2017 et présente des résultats poolés selon i) la réalisation de sérologies spécifiques à HSV-1 ou non et ii) le type d'études (cas-témoins ou cohorte). Une méta-analyse plus récente réalisée par Wu et al. (361) regroupe les études ayant évalué l'association entre la présence d'IgG anti-HSV et le risque de maladie d'Alzheimer entre 1990 et février 2020, que celles-ci soient réalisées sur des données ante-mortem ou sur des échantillons de cerveaux. La méta-analyse ne prenait pas en compte les études ayant étudié le déclin cognitif ou celles utilisant d'autres marqueurs sérologiques comme le taux d'IgG anti-HSV ou la présence d'IgM anti-HSV.

Concernant les études s'étant intéressées à l'association entre présence d'IgG anti-HSV (ou anti-HSV1) et cognition :

- Parmi les 8 études cas-témoins ou transversales présentant ce type de données, la majorité retrouvait une prévalence élevée d'IgG dans tous les groupes et ne mettaient pas en évidence de différence significative entre les sujets atteints de maladie d'Alzheimer ou de MCI et les sujets contrôles. Seules 2 études trouvaient un risque augmenté de déclin cognitif chez les infectés (294,341).
 - o A noter que, plus récemment, l'étude d'Agostini et al (362) s'est intéressée à un marqueur plus précis en comparant les prévalences de 4 sous-classes d'IgG anti-HSV1 chez des sujets MA, MCI et contrôles. S'ils n'ont pas retrouvé de différences pour les sous-classes d'IgG1, 2 et 4, ils ont mis en évidence une prévalence d'IgG3 plus élevée chez les MCI (89%) vs MA (75%) et témoins (68%) (MCI vs MA $p < .05$; MCI vs témoins $p = 0.003$). De plus, parmi 9 sujets présentant de fortes concentrations d'IgG3 (3 MA, 3 MCI et 3 contrôles), ils ont mis en évidence que la capacité de neutralisation du virus HSV-1 par les IgG3 était altérée chez les sujets MA par rapport aux autres.
- Parmi les 7 études de cohorte présentant des résultats sur la présence d'IgG, quatre études ne trouvaient pas d'association avec l'incidence de la MA tandis qu'un cas témoin niché retrouvait une prévalence d'HSV plus importante chez les MA. Deux études ne trouvaient pas d'association avec les scores cognitifs et deux trouvaient de moindres performances chez les sujets infectés.
- Selon la méta-analyse de Warren-Gash, concernant les études ayant réalisé des sérologies spécifiques à HSV-1, il n'y avait pas d'association avec la cognition dans les études de type cohorte ou dans celles de type cas-témoin. Concernant les études ayant réalisé des sérologies HSV-1/2, il n'y avait pas d'association significative dans les études de cohortes et une association juste significative dans deux études cas témoins (OR poolé 2,53 [1,01-6,34]).

Selon la méta-analyse de Wu, le fait d'être infecté par le virus HSV-1 était associé à un risque augmenté de maladie d'Alzheimer (OR poolé = 1,40 [1,13–1,75] pour les 21 études ante ou post-mortem considérées, OR poolé = 1,51 [1,10-2,06] dans le sous-

groupe de 8 études avec une qualité jugée élevée, OR poolé =1,47 [1,16-1,87] dans le sous-groupe de 12 études ante-mortem).

Concernant les études s'étant intéressées à l'association entre le taux d'IgG anti-HSV (ou anti-HSV-1) et la cognition:

- Neuf études cas-témoins ou transversales (dont 5 faisaient partie du même groupe et utilisaient potentiellement les mêmes données) ont retrouvé des résultats discordants : 2 études de faible taille ne retrouvant pas d'association, une étude retrouvant un taux plus bas chez les MA et 5 études un taux plus élevé chez les MA par rapport aux contrôles, les MCI ayant un taux intermédiaire.
- Parmi les 5 études de cohortes ayant étudié ce marqueur, 4 ne trouvaient pas d'association avec la MA et une ne retrouvait pas d'association avec le déclin cognitif.

Concernant les études s'étant intéressées à l'association entre la présence d'IgM anti-HSV (ou anti-HSV-1) et la cognition:

- Aucune étude cas-témoin ou transversale n'a étudié ce marqueur.
- Parmi les 4 études de cohorte ayant étudié ce marqueur, les résultats sont également discordants. Deux études ont retrouvé un risque augmenté de MA chez les sujets IgM+, suspectés d'avoir un risque augmenté de réactivations, et deux études cas-témoins nichés ne trouvaient soit pas d'association soit un risque diminué de déclin cognitif chez les sujets IgM+.
- Selon les résultats de la méta-analyse de Warren-Gash, le risque de démence était augmenté en cas de présence d'IgM (OR poolé=1.73 [1.12-2.68]). Cette méta-analyse ne prenait néanmoins pas en compte les résultats négatifs publiés plus récemment et concluait à une possible association mais avec un faible niveau de preuve.

Au total, il semble que, du fait notamment d'une grande hétérogénéité méthodologique, les études réalisées chez l'homme ne permettent pas de conclure pour l'instant à l'existence ou non d'une association entre infection à HSV-1 et maladie d'Alzheimer.

Tableau 11 : Etudes transversales ou cas-témoins ayant évalué l'association entre infection HSV et déclin cognitif ou démence chez l'homme

Auteurs	Echantillon	Association(s) testée(s)
Whalley 1980 (363) Royaume-Uni Transversale	14 sujets avec une « démence présénile de type Alzheimer » 64 sujets contrôles	Taux d'IgG anti-HSV : Pas de différence significative entre les sujets MA et les contrôles
Renvoize 1987 (364) Royaume-Uni Transversale	33 sujets MA (diagnostic clinique) 28 sujets contrôles souffrant de troubles psychiatriques	Taux d'IgG anti-HSV : Pas de différence significative entre MA et les contrôles
Ounanian 1990 (365) France - Transversale	19 sujets MA 21 sujets sains appariés sur l'âge 30 sujets sains jeunes	Prévalence d'IgG+ anti-HSV1 : 84,0% chez les MA et 90,5% chez les contrôles Taux d'IgG+ anti-HSV1 : taux significativement plus bas chez les MA que chez les contrôles
Strandberg 2003 (341) Finlande - Transversale	58 sujets avec un déclin cognitif 325 sujets sans déclin cognitif	Prévalence d'IgG+ anti-HSV1 : 100% chez les sujets avec un déclin cognitif vs 85,8% chez les contrôles (p=0,002)
Kobayashi 2013 (366) Japon - Transversale	85 sujets MA 34 sujets MCI amnésiques 28 sujets sains et 13 sujets avec des troubles de l'humeur	Prévalence d'IgG+ anti-HSV1 : 77,6% d'IgG+ chez les MA, 85,3% chez aMCI et 60,7% chez les contrôles (p=0,07) Taux d'IgG anti-HSV1 : Taux plus élevé chez les MCI que chez les contrôles sains (p<0,05) – pas de différence significative entre les autres groupes Index d'avidité HSV1 : Index plus élevé chez les aMCI que chez les contrôles sains ou les MA (p<0,05). Pas de corrélation entre index d'avidité et score à la FAB (r=0,09 p=0,45) ou au MMSE (r=0,18 p=0,08) mais corrélation avec l'orientation dans le temps (r=0,26 p<0,05) et la réalisation de l'ordre en 3 étapes (r=0,25 p<0,05)
Mancuso 2014 (348) Italie - Cas témoin	83 sujets MA à un stade modéré 51 sujets sains appariés sur âge et sexe	Prévalence d'IgG+ anti-HSV1 : Prévalence similaire (97,6% chez MA et 98,0% chez les contrôles) Taux d'IgG+ anti-HSV1 : en continu plus élevé chez MA (p=0,06), plus de sujets dans le 4 ^{ème} quartile chez MA que chez contrôle (31% vs 14% - p=0,03)
Mancuso 2014 (349) Italie - Transversale	83 sujets MA au stade modéré 68 MCI amnésiques 74 témoins	Prévalence d'IgG anti-HSV1 : 97,6 % chez MA, 95,6% chez MCI et 98,6% chez témoins (NS) Taux d'IgG anti-HSV1 : plus élevé chez MA vs contrôle (P=0,0049) et chez MCI vs contrôle (p=0,025) Index d'avidité HSV1 : pas d'association significative
Tarter 2014 (294) USA - Transversale	2394 sujets âgés de plus de 60 ans	Prévalence d'IgG+ anti-HSV1 : Modèle de régression logistique ajusté sur l'âge, le sexe, l'ethnicité, le niveau d'éducation et pays d'origine

		Association avec altération au rappel immédiat du MMSE (ORa 3,26 [1,68–6,32]) Pas d'association avec altération au rappel différé ou à la série de soustractions du MMSE
Bu 2015 (339) Chine Cas-témoins	128 sujets MA et 135 contrôles sains	Prévalence des IgG anti-HSV1 : 78,5% chez les contrôles vs 85,2% chez les MA (p=0,166) Régression logistique ajustée sur l'âge, le sexe, l'éducation, APOE, l'hypercholestérolémie, hypertension, maladie coronarienne, diabète OR 1,37 [0,69–2,74] p=0,37
Agostini 2016 (347) Italie Cas-témoin	Sujets MCI amnésiques suivis au moins 24 mois – diagnostic clinique de maladie d'Alzheimer et création de deux groupes a posteriori - 21 MCI « converters » - 15 MCI « non-converters »	Taux d'IgG anti-HSV1 : - Taux plus haut chez les MCI non-converters vs converters mais non significatif - Avec les résultats de Mancuso : Pas de différence entre MCI converters, non converters ou MA mais taux plus bas chez témoins sains (p<0,0001) Index d'avidité HSV1 - Index d'avidité plus haut chez les MCI non-converters vs converters à l'inclusion (p = 0,0018) - Avec les résultats de Mancuso : Index d'avidité plus haut chez les aMCI non-converters par rapport aux MA et aux contrôles (p < 0,005 dans les deux cas)
Costa 2017 (316) Italie - Cas-témoin	79 sujets MA IgG + 57 sujets MCI IgG+ 81 sujets contrôles sains IgG+	Taux d'IgG anti-HSV1 : Taux plus élevé chez les MA par rapport aux contrôles (p=0,037), les MCI avaient un taux intermédiaire (pas de différence significative par rapport aux MA ou aux contrôles) Régression logistique ajustée sur l'âge, le sexe et l'APOE4 : taux plus élevé chez les MA par rapport aux contrôles (OR=1,22 [1,04-1,43] p=0,016), pas d'association entre MCI et contrôle ou MCI et MA.
Agostini 2018 (362) Italie - Transversale	67 MA à un stade modéré 58 MCI 61 contrôles sains appariés sur l'âge et le sexe	Prévalence d'IgG anti-HSV1 : 95% chez MA, 95% chez MCI et 93% chez contrôles Prévalence des sous-classes d'IgG anti-HSV1 chez les IgG+ : - Pas de différence de prévalence des IgG1 2 et 4 entre MA MCI et témoins - Prévalence des IgG3 plus élevée chez les MCI (89%) vs MA (75% p< 0,05) et chez les MCI vs témoins (68% - p=0,003) Taux des différentes sous-classes d'IgG anti-HSV1 chez les IgG+ : Pas de différence de taux Capacité de neutralisation d'HSV1 chez 9 sujets avec des hautes concentrations d'IgG3 (3AD, 3 MCI, 3 témoins) et 9 sujets avec des basses concentrations d'IgG3 (3 MA, 3 MCI, 3 témoins) - Chez les 9 sujets avec de faibles concentrations d'IgG3 : faible capacité de neutralisation - Chez les sujets avec de fortes concentrations d'IgG3 : forte capacité de neutralisation chez les sujets MCI ou témoins mais pas chez MA – interprétation: chez les MA, la capacité de neutralisation de IgG3 est altérée

NB : Certaines études pour lesquelles les textes intégraux n'étaient pas récupérables ou pour lesquelles il n'y avait pas suffisamment d'informations n'ont pas été incluses dans ce tableau (191,367,368).

Tableau 12 : Etudes de cohorte ayant évalué l'association entre infection HSV et déclin cognitif ou démence chez l'homme

Auteurs	Echantillon	Association(s) testée(s)
<p>Aiello 2006 (369)</p> <p>USA</p> <p>Cohorte SALSA</p> <p>Suivi sur 4 ans (inclusion 1998/1999)</p>	<p>Echantillon : 1204 sujets avec au moins 2 suivis successifs après l'inclusion</p> <ul style="list-style-type: none"> - Age moyen à l'inclusion : 70,3 ± 6,8 (min 60) - ApoE4 : 5,7% <p>Outcome : Evaluation à l'inclusion puis annuellement pendant 4 ans du 3MSE (MMSE modifié) et du DEL-REC (liste de mots à mémoriser avec rappel différé)</p> <p>Score à l'inclusion: 3MSE 85,7 ± 13,0 - DEL-REC 8,6 ± 3,1. Score à 4 ans : 3MSE 87,1 ± 15,5 - DEL-REC 8,7 ± 3,1. Peut-on vraiment parler d'un déclin cognitif étant donné les valeurs rapportées?</p>	<p>Présence d'IgG+ anti-HSV-1 : 98% des sujets positifs</p> <p>Taux d'IgG+ anti-HSV1-1 : Modèle mixte évaluant l'association entre déclin cognitif sur 4 ans et taux d'IgG à l'inclusion (soit en continu soit en quartiles) après ajustement sur âge, sexe, éducation, revenus et nombre de pathologies à l'inclusion</p> <p>→ Pas d'association retrouvée</p>
<p>Letenneur 2008 (109)</p> <p>France</p> <p>Cohorte PAQUID</p> <p>Suivi sur 14 ans (Inclusion en 1989)</p> <p>Sérologie à 1 an de suivi</p>	<p>Echantillon : 512 sujets initialement sains</p> <ul style="list-style-type: none"> - Age moyen à l'inclusion : 72,8 +/-5,8 chez les sujets ne développant pas une démence, 75,8 +/-6,0 chez les MA incidentes, 74,4 +/-5,7 chez les autres démences incidentes - % d'ApoE4 : 20,7 chez les non-démence, 29,3% chez les MA incidents, 31,8% chez les autres démences incidentes <p>Outcome : 99 sujets ont développé une démence dont 77 MA sur un suivi moyen de 8,2 ans (4,4)</p>	<p>Présence d'IgG+ anti-HSV : 82,8% d'IgG+</p> <ul style="list-style-type: none"> - Modèle de Cox évaluant l'association avec l'incidence de la maladie d'Alzheimer sur 14 après ajustement sur l'âge, sexe, niveau d'éducation, apoE4 et MMSE à l'inclusion <ul style="list-style-type: none"> o IgG+ : Hazard Ratio ajusté (HRa) = 1,67 [0,75–3,73] o Pas d'interaction avec ApoE4 (p=0,94) - Modèle linéaire mixte évaluant l'association entre taux annuel d'évolution au MMSE après ajustement sur l'âge, sexe, niveau d'éducation, apoE4, temps depuis l'inclusion et interaction avec le temps <ul style="list-style-type: none"> o Statut IgG était marginalement associé avec le score à l'inclusion (b = 0,14, p= 0,056) – en faveur de plus d'erreurs à l'inclusion chez les sujets séropositifs et il existait augmentation négligeable et non significative du nombre d'erreurs dans le temps <p>Taux d'IgG anti-HSV chez les IgG+ : Parmi les IgG+, pas de différence significative de taux d'IgG entre les non-démence et les démence (moyennes: 141 (57,3) et 151 (58,0) - médianes : 143 et 151 IU/ml)</p> <p>Présence d'IgM+ anti-HSV: 8,4% de sujets IgM+</p>

		<ul style="list-style-type: none"> - Modèle de Cox : idem avec statut IgM <ul style="list-style-type: none"> o HRa = 2,55 [1,38–4,72] o Pas d'interaction avec ApoE4 (p=0,49) mais seulement 12 sujets IgM+ APOE4+ - Modèle linéaire mixte : idem avec statut IgM <ul style="list-style-type: none"> o Sujets IgM+ ont tendance à faire moins d'erreurs que les IgM- à l'inclusion (b=-0,069, p = 0,50) mais il y a une augmentation significative du nombre d'erreurs dans le temps
Lövheim 2015 (370) Suède Cohorte BETULA - plusieurs vagues d'inclusion entre 1988 et 2005 Suivi jusqu'en 2010	<p>Echantillon : 3432 participants avec au moins un échantillon de sérum et 1231 avec au moins 2 échantillons</p> <p>Sujets non déments à l'inclusion</p> <p>Age d'inclusion et fréquence du suivi variables selon les vagues d'inclusion (certains sujets jeunes)</p> <p>Echantillons de sérum pouvant être recueillis à différents temps. 28,3 % de porteurs d'ApoE4</p> <p>Outcome :</p> <ul style="list-style-type: none"> - Temps moyen de suivi : 11,3 +/- 5,7 ans - 430 sujets (12,5%) ont développé une démence dont 245 MA (7,1%) 	<p>Présence d'IgG + anti-HSV: 88,2% de sujets IgG+</p> <ul style="list-style-type: none"> - Modèle de Cox évaluant le risque de développer une MA après ajustement sur l'âge et le sexe : HR=0,993 [0,574–1,716], p=0,979 <p>Taux d'IgG anti-HSV quel que soit le statut IgG</p> <ul style="list-style-type: none"> - Modèle de Cox ajusté sur l'âge et le sexe : HR=1,000 [0,996–1,004] p=0,934 <p>Présence d'IgM+ anti-HSV quel que soit le statut IgG : 2,9% de sujets IgM+</p> <ul style="list-style-type: none"> - Modèle de Cox ajusté sur l'âge et le sexe →: HR=1,693 [1,003–2,858] P=0,049 <p>Changement de taux d'IgG anti-HSV entre deux prélèvements</p> <ul style="list-style-type: none"> - Délai moyen entre les 2 prélèvements 6,3 +/- 3,7 ans – médiane 5 ans avec tendance à l'élévation du taux d'IgG entre deux échantillons. - Multivarié ajusté sur l'âge : HR=1,001 [0,991–1,010], P=0,870
Lövheim 2015 (371) Suède Cohorte ? Cas témoin niché	<p>Echantillon</p> <p>360 cas MA (diagnostic clinique + paraclinique)</p> <p>360 témoins sains appariés sur l'âge, le sexe, la cohorte d'origine et la date de prélèvement.</p> <p>Temps moyen entre prélèvement et MA = 9,6 +/- 4,1 ans</p>	<p>Présence d'IgG+ anti-HSV Régression logistique conditionnelle non ajustée</p> <ul style="list-style-type: none"> - Dans tout l'échantillon : 93,9% chez MA et 90,0% chez témoins -OR=1,64 [0,96-2,78] - p=0,069 - Chez les > 60 ans (228 paires): 95,6% chez MA et 89,9% chez témoins OR=2,30 [1,10-4,83] – p=0,028 - Si délai entre prélèvement et diagnostic > 6,6 ans (270 paires) : 95,6% chez MA vs 90% chez témoins OR=2,25 [1,14-4,44] p=0,019 <p>Taux d'IgG anti-HSV : 95,7 +/- 32,3 chez les MA vs 91,8 +/- 37,3 chez les contrôles</p> <ul style="list-style-type: none"> - OR 1,00 [0,999–1,01], p=0,143 <p>Présence d'IgM+ anti-HSV: 7,5% chez MA versus 5,6% chez contrôles</p> <ul style="list-style-type: none"> - OR 1,37 [0,76–2,47] - p=0,299

<p>Barnes 2015 (372)</p> <p>USA Cohortes MAP, ROS, MARS</p>	<p>Echantillon 894 sujets âgés de plus de 65 ans non déments au moment du prélèvement sanguin et ayant au moins 2 évaluations cognitives</p> <p>Outcome Temps moyen de suivi 5 ans. 93 cas incidents de MA. Déclin cognitif évalué à l'aide d'une batterie de tests.</p>	<p>Présence d'IgG+ anti-HSV1 : 43,6% !</p> <ul style="list-style-type: none"> - Modèle de Cox ajusté sur l'âge, le sexe, le niveau d'éducation, la race : pas d'association avec l'incidence de la MA (HRa 0,84 [0,62–1,16] p =0,29), - Modèle mixte ajusté sur l'âge, le sexe, le niveau d'éducation et la race : pas d'association avec le déclin cognitif.
<p>Torniainen-Holm 2018 (112)</p> <p>Finlande Cohorte Finnish Health 2000 Study Suivi 11 ans Inclusion 2000-2001</p>	<p>Echantillon : 5783 sujets de plus de 30 ans avec un sous-échantillon de sujets de plus de 55 ans (n= ?)</p> <p>Outcome : Démences incidentes uniquement chez les plus de 55 ans recherchées dans différents registres contenant les informations sur les hospitalisations, les consultations externes spécialisées, les causes de décès et les remboursements de soins => 494 démences incidentes</p>	<p>Présence d'IgG+ anti-HSV-1</p> <ul style="list-style-type: none"> - Modèle de Cox ajusté sur l'âge, le sexe, le statut marital, le niveau d'éducation, l'urbanité, la région de résidence et la langue native <p>Pas d'association avec l'incidence de la démence (HR=0,77 [0,58-1,04]) ou la MA (HR =0,76 [0,51-1,14])</p> <p>Taux d'IgG+ anti-HSV-1 (en continu)</p> <ul style="list-style-type: none"> - Modèle de Cox : idem <p>Pas d'association avec l'incidence de la démence (HR=0,99 [0,93-1,05]) ou de MA (HR=0,98 [0,89-1,07])</p>
<p>Lövheim 2019 (333)</p> <p>Suède Cohorte BETULA Plusieurs vagues d'inclusion</p>	<p>Echantillon :</p> <ul style="list-style-type: none"> - Analyse transversale : données à l'inclusion pour 3413 sujets, âge moyen : 61,6 ± 14,4 ans (min 35), 734 APOE4+ et 1842 APOE4- - Analyse longitudinale (suivi moyen de 11,6 ans) : 136 paires de sujets IgG+ /IgG- et de 43 paires de sujets IgM+/IgM- appariés sur l'âge, le sexe et le niveau d'éducation 	<p>Analyses transversales - Régression linéaire ajustée sur l'âge et le sexe pour IgG, l'âge et l'âge au carré pour taux d'IgG et non ajusté pour IgM</p> <ul style="list-style-type: none"> - Présence d'IgG anti-HSV : 88,1% d'IgG+, interaction significative avec l'âge (p=0,003) indiquant un score composite plus bas avec l'âge chez les sujets IgG+, également chez les APOE4+ (p=0,008) mais pas chez les APOE4- - Présence d'IgM anti-HSV chez les IgG+ : 3,3% d'IgM+, pas d'association chez l'ensemble de l'échantillon ou selon statut APOE4 - Taux d'IgG chez les IgG+ : Pas d'association chez l'ensemble de l'échantillon ou selon statut APOE4

<p>entre 1988 et 2015 Suivi jusqu'en 2015?</p> <p>Sérologies pouvant être réalisées à différents temps</p>	<p>Outcome : Déclin en mémoire épisodique (score composite sur 76 points créé à partir de 5 tâches de rappels libre ou différé) avec des évaluations tous les 5 ans.</p> <p>Pour les analyses longitudinales, les sujets étaient considérés comme déclineurs (n=146) ou non selon si la variation du score composite était inférieure à une déviation standard d'un modèle de prédiction prenant en compte l'âge et le score composite à l'inclusion</p>	<p>Analyses longitudinales – T tests appariés</p> <ul style="list-style-type: none"> - Présence d'IgG anti-HSV : Chez tous : pas de différence de % de déclineurs (10,2% vs 12,5% p=0,454), quel que soit le statut APOE4 Chez les >= 65 ans, proportion plus importante de déclineurs chez les IgG+ (9,8% vs 0% p<0,001) y compris chez les APOE4+ (23,5% vs 0% p<0,004) et les APOE4- (7,4% vs 0% p<0,001). - Présence d'IgM anti-HSV chez les IgG+ : Moins de déclineurs chez les IgM+ (4,8% vs 11,1%, p = 0,026) y compris chez les >= 65 ans (4,3% versus 10,8%, p = 0,138) Chez APOE4+ : pas de différence (7,7% versus 20,7%, p = 0,150) y compris chez >=65 ans (12,5% versus 22,5%, p = 0,477) Chez APOE4- : moins de déclineurs chez IgM+ (3,3% versus 10,9%, p = 0,035) y compris chez >= 65 ans (0,0% versus 10,1%, p < 0,001)
<p>George 2019 (342) USA Cohorte ARIC Suivi sur 24 ans Inclusion 1987-89</p>	<p>Echantillon : 426 participants âgés de 45 à 64 ans à l'inclusion</p> <p>Outcome : Déclin cognitif (Z-score pour chaque test et Z-score global) avec les tests cognitifs suivants: Delayed Word Recall test, Digit Symbol Substitution test, and Word Fluency test à 3, 9 et 14 ans de suivi (mais pas à l'inclusion)</p>	<p>Présence d'IgG anti-HSV1- Régression linéaire ajustée sur âge, sexe, race, APOE4, revenus et éducation, IMC, tabagisme, consommation d'alcool, hypertension, diabète, dyslipidémie, maladie coronarienne</p> <ul style="list-style-type: none"> - Score cognitif à l'inclusion : pas de différence significative - Déclin cognitif sur 20 ans : pas de différence significative

Points clés sur l'implication du virus HSV-1 dans la maladie d'Alzheimer

- L'ADN du virus HSV-1 est retrouvé dans les cerveaux de personnes âgées, préférentiellement dans les zones atteintes par la MA. Le fait que l'ADN viral soit retrouvé aussi bien chez les sujets sains que chez les sujets atteints de MA semble indiquer que l'infection du système nerveux central à elle seule n'est pas suffisante pour développer des lésions symptomatiques. De plus, la proportion de sujets présentant de l'ADN viral au niveau du cerveau varie largement entre les études. Les études retrouvant de faibles proportions, bien que potentiellement expliquées par des problèmes méthodologiques, posent question quant à la plausibilité de l'hypothèse infectieuse liée à HSV-1.

Plus récemment, une étude réalisée sans hypothèse a priori et utilisant des données « omiques » a mis en évidence des résultats en faveur d'un lien entre infections herpétiques (HSV-1, HHV-6 et HHV-7) et MA. La mise en évidence d'une synthèse intrathécale d'anticorps anti-HSV chez les sujets MA semble également attester de la présence d'HSV-1 au niveau du système nerveux central et de la capacité d'HSV-1 à s'y réactiver.

- Le virus HSV-1 est un virus neurotrope capable de se déplacer de cellules en cellules et ayant, notamment dans le cadre de la méningo-encéphalite herpétique, un tropisme particulier pour les régions temporales. Sa propagation de façon trans-synaptique et via deux portes d'entrée possibles (le ganglion trigéminal et/ou la voie olfactive) pourrait potentiellement expliquer la topographie des lésions Tau dans la forme typique de la MA. A ma connaissance, l'hypothèse infectieuse ne fournit à ce jour pas d'explication quant à la topographie de la pathologie amyloïde. Néanmoins, la non-superposition de ces deux pathologies pourrait potentiellement être expliquée par l'implication de plusieurs toxiques (infectieux ou non) induisant une accumulation de dépôts amyloïdes dans différentes régions cérébrales.

- L'hypothèse infectieuse suppose que, à l'inverse des infections aiguës retrouvées dans le cadre des méningo-encéphalites, il existe des infections « à petit feu » du système nerveux central par le virus HSV-1 et entraînant l'apparition de marqueurs anatomopathologiques différents de ceux rencontrés dans les infections aiguës. Certains cas cliniques d'infections modérées semblent en faveur de cette hypothèse.

- D'après les résultats d'études in vitro, chez l'animal et chez l'homme, il semble que les différents marqueurs de la maladie d'Alzheimer (pathologie amyloïde, pathologie tau, neuroinflammation, dysfonction mitochondriale, anomalie de l'autophagie, réentrées en cycle cellulaire...) puissent être le reflet du cycle cellulaire d'HSV-1 ou de la réaction immunitaire à

son rencontre. A noter néanmoins que cette capacité ne semble pas spécifique à HSV-1 et est partagée également par d'autres pathogènes (tout du moins pour les pathologies amyloïde et tau).

- L'accumulation de dépôts amyloïdes pourrait être le reflet de la défense immunitaire de l'hôte sachant que plusieurs études ont mis en évidence que le peptide a β possède un rôle antimicrobien. La présence au sein des plaques amyloïdes d'ADN viral (et de nombreuses molécules en rapport avec le virus) semble refléter la « capture » des pathogènes par les peptides amyloïdes afin de les présenter aux cellules immunitaires. Enfin, ceci pourrait expliquer en partie l'échec de la plupart des essais testant des thérapies anti-amyloïde ainsi que la prévalence augmentée d'infections virales dans deux d'entre eux. Plusieurs hypothèses ont été faites quant au mécanisme expliquant l'induction de la pathologie Tau par le virus et nécessitent d'être plus investiguées.

- L'infection précoce par le virus HSV-1 pourrait potentiellement expliquer l'existence de protéines Tau hyperphosphorylées au niveau du locus coeruleus avant 30 ans. On peut également faire l'hypothèse que deux mécanismes vont ensuite être à l'origine d'une intensification de la pathologie avec l'âge et de la survenue de lésions symptomatiques : 1) l'immunosénescence des lymphocytes T CD8+ entraînant potentiellement des réactivations plus fréquentes et/ou plus intenses du virus et 2) l'immunosénescence des cellules microgliales empêchant la clairance des plaques amyloïdes et favorisant un état inflammatoire potentiellement délétère pour la survie des neurones.

- Etant donné la séroprévalence élevée de l'infection HSV-1, l'existence de facteurs de susceptibilité génétiques et/ou environnementaux est nécessaire pour expliquer que certains sujets restent « porteurs sains » tandis que d'autres développeraient des lésions neuronales en rapport avec l'infection. Plusieurs facteurs de risque génétiques de la MA semblent potentiellement impliqués dans le cycle cellulaire d'HSV-1 ou dans la réaction immunitaire à son rencontre. En particulier, le génotype APOE4 est un facteur de risque d'infections et notamment d'herpès labial. Plusieurs résultats anatomopathologiques, chez l'animal et chez l'homme suggèrent que le génotype APOE module l'impact de l'infection HSV-1 sur le système nerveux central. Plusieurs mécanismes explicatifs ont été proposés et restent à explorer. Les facteurs de susceptibilité liés au virus lui-même n'ont pas été étudiés pour l'instant. Des

facteurs environnementaux pourraient également intervenir : i) plusieurs facteurs de risque de MA sont également des facteurs de risque de réactivations virales, ii) la consommation de certains aliments/nutriments anti-herpétiques semble protectrice quant à la survenue d'une MA, iii) l'existence de co-infections pourrait avoir un impact majeur sur le développement des lésions notamment en influant sur les défenses immunitaires de l'hôte (ex : CMV).

- Enfin, aucune étude n'a étudié à ce jour l'association entre infection HSV-1 et présence d'anomalies radiologiques en population âgée (mais 3 études ont été réalisées chez des sujets MA ou MCI). De plus, bien que nombreuses, les études épidémiologiques ayant évalué une potentielle association entre le virus HSV-1 et la cognition sont de qualité variable et ne permettent pas actuellement de confirmer ou non cette hypothèse. A noter par ailleurs qu'une étude a mis en évidence l'apparition d'un déclin cognitif chez des souris soumises à de fréquentes réactivations du virus HSV-1 mais ce type d'étude n'a pas été répliqué à ce jour.

1.4 Objectifs de la thèse

Les objectifs spécifiques de cette thèse sont :

- D'évaluer, au sein de la cohorte des Trois Cités et de la cohorte AMI, l'association entre l'infection par le virus HSV-1 et i) le risque de survenue d'une maladie d'Alzheimer ou ii) la présence d'atteintes de la substance grise et/ou de la substance blanche à l'IRM cérébrale.
- D'évaluer, au sein de l'essai MAPT, l'association entre l'infection par le virus HSV-1 et la présence de dépôts amyloïdes intracérébraux (estimés par TEP amyloïde).
- D'évaluer l'association potentiellement protectrice de la prise de médicaments anti-herpétiques sur la survenue d'une démence grâce aux données de l'Echantillon Généraliste des Bénéficiaires.

L'objectif final est d'évaluer si la prévention et/ou le traitement des réactivations herpétiques pourraient être une cible potentielle pour la prévention de la maladie d'Alzheimer.

2. Méthodologie

2.1 Données utilisées

2.1.1 Cohorte des Trois Cités et cohorte AMI

2.1.1.1 Design et participants inclus dans les cohortes

La cohorte des Trois cités (3C) est une cohorte prospective dont l'objectif initial était d'évaluer le risque de démence attribuable aux facteurs de risque vasculaires en population âgée (373). Le recrutement a été réalisé entre 1999 et 2001. Les participants éligibles ont été identifiés à partir des listes électorales sur les critères suivants : 1) vivre dans les villes de Bordeaux, Dijon et Montpellier ou aux alentours, 2) être âgé de 65 ans ou plus et 3) ne pas être institutionnalisé à la date du recrutement. Après tirage au sort, 9294 sujets ont accepté de participer (taux de participation 37%) dont 2104 sujets à Bordeaux, 2259 à Montpellier et 4931 à Dijon.

La cohorte AMI (Aging Multidisciplinary Investigation study) (374) est également une cohorte prospective dont l'objectif initial était d'étudier la santé et le vieillissement de la population âgée vivant dans les zones rurales de la Gironde. Le recrutement s'est déroulé dans les années 2007-2009. Les participants éligibles ont été identifiés à partir de la base de données de remboursement de la Mutualité Sociale Agricole (MSA) selon les critères suivants : 1) vivre en zone rurale (selon les critères de l'INSEE) dans le département de la Gironde, 2) être âgé de 65 ans et plus, 3) être retraité après avoir travaillé dans l'agriculture au moins 20 ans (1/3 de propriétaires et 2/3 de travailleurs) et 4) être affilié à la MSA. Après tirage au sort, 1935 sujets éligibles ont été invités à participer et 1002 ont accepté (52%).

2.1.1.2 Recueil de données

Les participants de ces études ont ensuite été suivis régulièrement à domicile (ou, à défaut, dans quelques cas via des entretiens téléphoniques) (Figure 21):

- Pour la cohorte des Trois Cités : le suivi a eu lieu à 2, 4, 7, 10, 12, 14/15 (uniquement à Bordeaux et Montpellier) et 17 ans (uniquement à Bordeaux) après l'inclusion.
- Pour la cohorte AMI : le suivi a eu lieu à 2, 4, 7 et 10 ans (en cours) après l'inclusion.

Dans le cadre cette thèse, seules les données de la sous-cohorte bordelaise de 3C ont été analysées en raison de l'indisponibilité des sérologies herpétiques dans l'ensemble de la cohorte¹⁹.

Ce suivi a permis le recueil de nombreuses données :

- Des données sociodémographiques, cliniques et concernant les habitudes de vie des participants étaient recueillies à chaque suivi.
- Des données biologiques étaient disponibles pour une partie des participants à l'inclusion, à 4 ans et à 10 ans dans la cohorte 3C ainsi qu'à l'inclusion dans la cohorte AMI.
- Des données d'IRM cérébrale étaient disponibles pour une partie des participants à l'inclusion, à 4 et à 10 ans dans la cohorte 3C Bordeaux et approximativement à 2 et 4 ans dans la cohorte AMI.

Nous décrirons plus précisément les données utilisées dans cette thèse dans les paragraphes suivants.

¹⁹ Dans 3C, des sérologies herpétiques avaient initialement été réalisées sur les participants des 3 centres inclus dans un cas-cohorte niché. Néanmoins, en raison de l'utilisation de kits de sérologie différents, il n'était pas possible de combiner ces données avec celles de sérologies supplémentaires réalisées chez les participants bordelais.

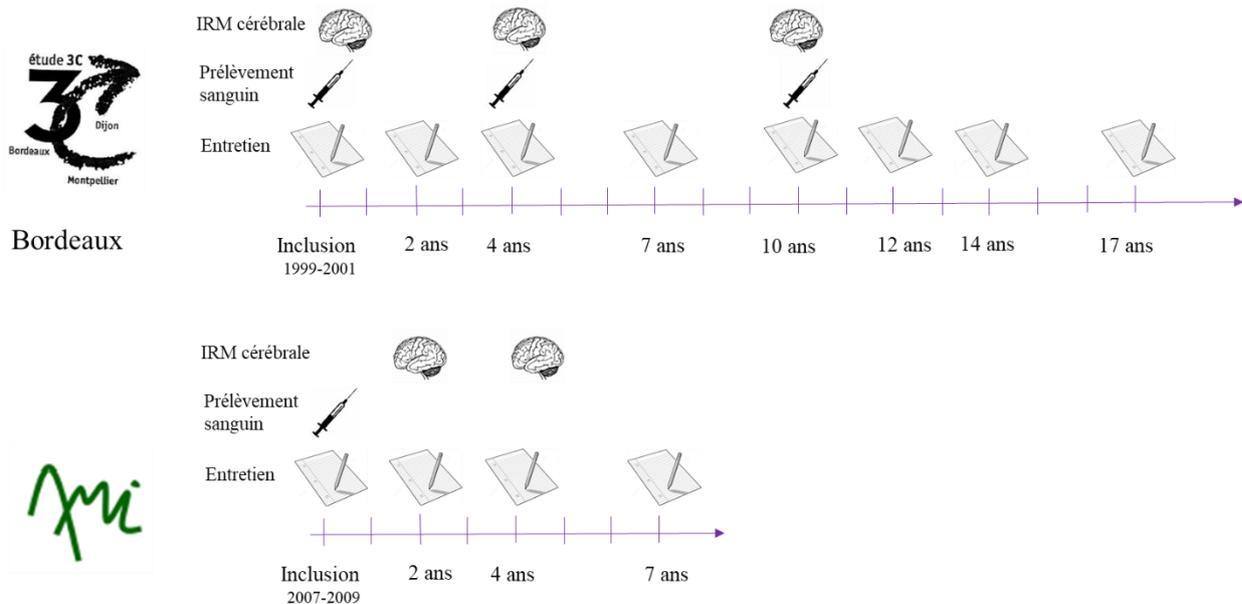


Figure 21 : Suivi dans le cadre des cohortes des Trois Cités et AMI

2.1.1.2.1 Données concernant l'infection à HSV

Dans les deux cohortes, des informations concernant l'existence d'une symptomatologie herpétique et sa fréquence (au moins une poussée dans la vie, une par an ou une par mois) ont été recueillies à l'inclusion.

Les prélèvements sanguins réalisés à l'inclusion (n=1888) et à 4 ans (n=1311) dans la sous-cohorte bordelaise des Trois Cités ainsi qu'à l'inclusion (n= 696) dans la cohorte AMI ont permis la réalisation de sérologies herpétiques respectivement chez 1834, 1258 et 690 participants. Ces sérologies n'étaient pas spécifiques du virus HSV-1 et détectaient à la fois les anticorps dirigés contre les virus HSV-1 et HSV-2. Deux types d'anticorps anti-HSV ont été dosés : les IgG anti-HSV qui reflètent le fait d'avoir été infecté par le virus et les IgM anti-HSV qui reflètent soit une primo-infection soit la survenue d'une réactivation du virus dans les semaines précédant la prise de sang. A noter néanmoins que toutes les réactivations ne sont pas systématiquement accompagnées d'une production d'IgM. Les taux d'IgG anti-HSV ont également été étudiés.

Sur le plan pratique :

- Les sérologies herpétiques à l'inclusion dans la sous-cohorte bordelaise 3C ont été réalisées en plusieurs fois (correspondant à divers projets) et dans des laboratoires différents. L'utilisation de kits de sérologie différents a rendu impossible l'analyse des taux d'IgG dans l'ensemble de l'échantillon bordelais à l'inclusion. Pour cette raison, les sérologies herpétiques réalisées à 4 ans ont, dans la majorité des analyses de cette thèse, été préférées à celles réalisées à l'inclusion.
- Les sérologies herpétiques réalisées à 4 ans dans 3C Bordeaux et à l'inclusion dans AMI ont toutes été réalisées au laboratoire de virologie du CHU Pellegrin respectivement en 2017-2018 et en 2013. Des techniques immuno-luminométriques ont été utilisées (kits LIAISON® HSV-1/2 IgG et LIAISON® HSV-1/2 IgM de Diasorin - Saluggia, Italie). Comme recommandé par les fabricants : i) une valeur d'index $\geq 1,10$ était considérée comme signant la présence d'anticorps IgG (ou IgM) anti-HSV, ii) une valeur d'index $< 0,9$ était considérée comme signant l'absence d'anticorps IgG (ou IgM) anti-HSV et iii) aucune conclusion ne pouvait être faite pour les valeurs d'index entre 0,9 et 1,10. Dans ce dernier cas, une 2ème sérologie était réalisée afin de vérifier le résultat obtenu. A noter également que ces sérologies présentaient une limite de quantification supérieure empêchant l'utilisation des taux d'IgG de façon continue.

2.1.1.2.2 Diagnostic de démence

Le diagnostic de démence dans les cohortes 3C Bordeaux et AMI était réalisé en trois étapes :

- Premièrement, l'évaluation des fonctions cognitives et de l'autonomie était réalisée au domicile à chaque suivi par des neuropsychologues via un questionnaire standardisé et une batterie de tests neuropsychologiques et fonctionnels validés²⁰.
- Deuxièmement, en cas de suspicion de trouble cognitif, un médecin gériatre ou neurologue se rendait au domicile du participant pour confirmer ou non l'existence d'un trouble selon les critères du DSM IV (1) et pour déterminer l'étiologie associée (MA probable, MA

²⁰ Parmi ces tests, nous utiliserons le score au MMSE (Mini Mental State Examination) afin de décrire le fonctionnement cognitif global des participants (Annexe 1).

possible, démence vasculaire, démence mixte, démence parkinsonienne, démence à corps de Lewy, démence fronto-temporale, autres démences) .

- Enfin, l'ensemble des cas de démence étaient revus par un comité d'experts afin de confirmer le diagnostic et l'étiologie associée, ceci en utilisant l'ensemble des éléments disponibles (y compris les comptes-rendus de consultations ou les examens paracliniques).

Dans cette thèse, l'incidence de la démence a été étudiée jusqu'à 14 ans après l'inclusion dans 3C Bordeaux (le suivi à 17 ans n'était pas finalisé au moment de l'analyse) et 7 ans après l'inclusion dans AMI. Dans un premier article, les données de 1037 sujets de la cohorte 3C Bordeaux au suivi à 4 ans ont été analysées après exclusion de 33 sujets avec un statut sérologique indéterminé, de 2 sujets IgG-IgM+ reflétant soit une primo-infection (peu probable étant donné l'âge des sujets) soit un faux positif/faux négatif, de 60 déments prévalents et de 126 sujets sans suivi. Dans un deuxième article centré sur l'étude des anomalies radiologiques dans les cohortes 3C Bordeaux et AMI, l'association entre statut herpétique et incidence de la démence a été réévaluée dans un échantillon plus grand : 1599 participants après exclusion de 40 sujets avec un statut sérologique indéterminé, de 5 sujets IgG-IgM+, de 133 déments prévalents et de 171 sujets sans suivi.

2.1.1.2.3 Données radiologiques

Des analyses ont été faites à partir des données issues des IRM cérébrales réalisées à 10 ans dans la cohorte 3C Bordeaux (n= 238 dont 211 avec une sérologie herpétique à 4 ans, IRM 3 Tesla) et à 4 ans dans la cohorte AMI (n=200 dont 176 avec une sérologie herpétique à l'inclusion, IRM 3 Tesla)²¹. Au total, 387 sujets bénéficiaient à la fois d'une sérologie herpétique et d'une IRM cérébrale.

A partir de ces IRM, deux types de données ont pu être analysées : i) des données volumétriques ayant permis d'étudier le volume hippocampique et ii) des données de connectivité structurelle

²¹ Nous avons choisi d'utiliser l'IRM à 4 ans de suivi dans AMI (et non l'IRM à 2 ans) afin d'avoir un délai entre la sérologie herpétique et l'IRM plus comparable entre les deux cohortes (6 ans pour 3C Bordeaux et 4 ans pour AMI).

(imagerie par tenseur de diffusion ou DTI) ayant permis d'étudier l'intégrité de la substance blanche²².

Les volumes hippocampiques droit et gauche ont été estimés puis la qualité de l'extraction a été vérifiée manuellement par l'équipe de l'Institut de Neurosciences Cognitives et Intégratives d'Aquitaine. Parmi les 387 sujets présentant à la fois une sérologie herpétique et une IRM cérébrale, 35 sujets ne disposaient pas de données concernant le volume hippocampique et 3 sujets déjà déments au moment de la sérologie ont été exclus portant à 349 le nombre de sujets intégrés dans l'analyse. Les volumes hippocampiques droit et gauche ont été moyennés et exprimés en pourcentage du volume total intracrânien.

Chez 259 sujets ayant des données de connectivité structurelle et une sérologie herpétique, nous avons étudié la microstructure de la substance blanche au niveau de deux faisceaux de fibres reliés à l'hippocampe (Figure 22) :

- La partie para-hippocampique du cingulum, faisceau afférent allant du gyrus cingulaire au cortex entorhinal (situé en dessous de l'hippocampe)
- La partie para-hippocampique du fornix, faisceau efférent reliant l'hippocampe au corps mamillaire.

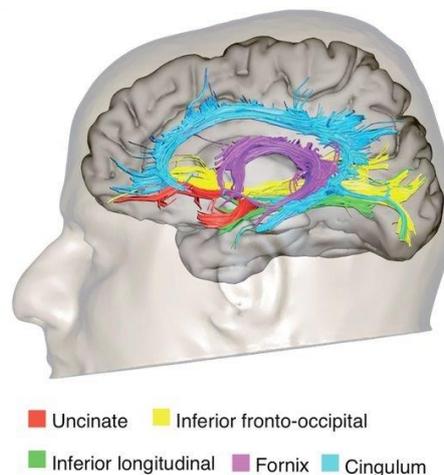


Figure 22 : Cingulum et fornix, faisceaux de substance blanche reliés à l'hippocampe

Source : https://commons.wikimedia.org/wiki/File:The_anatomy_of_the_limbic_tracts.jpg

²² Les méthodes d'acquisition et de traitement des images ont été décrites dans l'article présentant les résultats de nos analyses « Linard et al. Herpes simplex virus, early neuroimaging markers and incidence of Alzheimer's disease ».

L' imagerie par tenseur de diffusion repose sur le principe selon lequel les déplacements des molécules d'eau dans les faisceaux de substance blanche dépendent de l'intégrité des tissus (375). Différents paramètres sont utilisés :

- La fraction d'anisotropie (FA : *Fractional Anisotropy*) varie de 0 à 1 et reflète la *direction* de la diffusion des molécules d'eau dans la substance blanche. Une FA égale 1 indique que la diffusion des molécules d'eau est orientée préférentiellement dans une direction, celle déterminée par les fibres axonales : on parle de diffusion anisotrope (à l'inverse de la diffusion isotrope allant dans toutes les directions). Lorsque la microstructure de la substance blanche est altérée, la diffusion des molécules d'eau va être moins contrainte par la structure des axones, la diffusion anisotrope va diminuer et la fraction d'anisotropie également.
- La diffusivité moyenne (MD : *Mean Diffusivity*) mesure l'*amplitude* moyenne des mouvements de diffusion des molécules d'eau dans la substance blanche selon les trois dimensions de l'espace (x,y,z). En complément, on peut également estimer la diffusivité axiale mesurant la diffusion dans la direction principale et la diffusivité radiale mesurant la diffusion dans les deux autres directions. Lorsque la microstructure de la substance blanche est altérée, l'amplitude de mouvements des molécules augmente et les paramètres de diffusivité augmentent également.

Ainsi on estime qu'une FA élevée et une diffusivité basse reflètent une certaine intégrité de la substance blanche.

2.1.1.2.4 Autres données utilisées

D'autres variables ont également été utilisées à des fins de description ou ont été considérées comme de potentiels facteurs de confusion (et donc intégrées aux modèles multivariés comme variables d'ajustement) :

- L'âge et le sexe.
- Le niveau d'éducation (niveau primaire ou inférieur, niveau secondaire, niveau supérieur).
- Le statut marital (marié, veuf, célibataire, divorcé ou séparé).

- La présence d'au moins un allèle APOE4.
- L'hypertension artérielle définie comme la prise d'un traitement antihypertenseur et/ou une mesure de tension artérielle $\geq 140/90$ mm Hg.
- Le diabète défini comme la prise d'un traitement antidiabétique et/ou une glycémie à jeun ≥ 7 mmol/L et/ou une glycémie non à jeun ≥ 11 mmol/L.
- L'hypercholestérolémie définie comme la prise d'un traitement hypolipémiant et/ou une cholestérolémie $\geq 6,2$ mmol/L.
- La consommation de tabac (jamais, ancien fumeur, fumeur actuel).
- Le score au MMSE.

2.1.2 Essai MAPT

2.1.2.1 Design, participants et intervention dans l'essai MAPT

L'essai MAPT (Multidomain Alzheimer Preventive Trial) est un essai randomisé de phase 3 multicentrique (13 centres) (376,377). Son objectif était d'évaluer l'efficacité de différentes interventions sur l'évolution des fonctions cognitives chez des sujets âgés considérés comme « fragiles ».

L'inclusion des participants a été réalisée de mai 2008 à février 2011. Les sources de recrutement étaient principalement : la publicité dans les médias, les conférences publiques et les consultations externes des hôpitaux. Les critères d'inclusion (378) étaient les suivants : i) avoir 70 ans ou plus, ii) ne pas être dément et ne pas avoir un MMSE < 24 , iii) ne pas présenter de dépendance pour une activité de la vie quotidienne (ADL Activities of Daily Living – Annexe 2), ne pas être institutionnalisé, iv) présenter un critère de « fragilité » parmi les 3 suivants : plainte mnésique spontanée exprimée au médecin généraliste, limitation sur une activité instrumentale de la vie quotidienne (IADL Instrumental Activities of Daily Living – Annexe 2), vitesse de marche inférieure à 0.8 m/s et v) ne pas être dans une situation pouvant compromettre la participation à l'étude (pathologie avec risque vital à court terme ou pouvant compromettre le suivi ou la réalisation de tests cognitifs, défaut de compréhension, disponibilité

insuffisante, absence de sécurité sociale, participation à un autre essai clinique...). Au total, 1680 sujets ont été inclus dans l'essai.

Après randomisation, les participants ont été répartis en quatre bras de traitement :

1. Une supplémentation en acides gras oméga 3.
2. Une intervention multi-domaine comportant un conseil nutritionnel, de l'exercice physique, une stimulation cognitive et des visites de prévention.
3. La combinaison de ces deux interventions.
4. Un groupe contrôle.

Les groupes 2 et 4 ont reçu un placebo concernant la supplémentation en acides gras oméga 3 mais la mise en place d'un aveugle pour l'intervention multi-domaine n'a pas été possible.

L'évaluation du statut fonctionnel, cognitif et des indicateurs de fragilité et de dépression a été réalisée à l'inclusion ainsi qu'à 6, 12, 24 et 36 mois en aveugle du bras de randomisation. Un suivi tous les 6 mois a également été réalisé pour le recueil des antécédents médicaux et des traitements, l'évaluation de la condition physique ainsi que l'évaluation de la tolérance et de l'adhésion au traitement.

Le critère de jugement principal était l'évolution des fonctions mnésiques évaluée à 3 ans par le « Free and Cued Selective Reminding test » de Grober et Buschke (379) (appelé également en français RL-RI 16 pour Rappel Libre - Rappel Indiqué de 16 mots)²³.

Au sein de cet essai, une étude ancillaire de neuro-imagerie a également été réalisée pour évaluer l'impact des interventions sur la présence de dépôts amyloïdes intracérébraux estimés par TEP amyloïde. Les critères d'inclusion dans cette étude ancillaire étaient les suivants : i) être suivi dans l'un des centres proches d'un département de médecine nucléaire (Toulouse, Bordeaux, Montpellier, Limoges et Nice), ii) absence de contre-indication à l'examen ou de situations empêchant une coopération du sujet à l'examen, iii) sujet n'ayant pas déjà récemment

²³ Ce test se déroule en plusieurs phases : i) une phase d'apprentissage de 16 mots, chacun associé à une catégorie (ex : jonquille associée à la catégorie fleur), ii) une phase de rappel immédiat, iii) trois phases de rappels différés avec un rappel libre puis un rappel indicé (la catégorie des mots manquants est indiquée au sujet pour faciliter la récupération de l'information).

bénéficié d'un examen de type TEP. Au total, 271 sujets ont bénéficié d'une TEP amyloïde durant le suivi.

2.1.2.2 **Recueil de données**

2.1.2.2.1 Sérologies herpétiques

Parmi les 271 sujets ayant bénéficié d'une TEP amyloïde, des sérologies herpétiques ont pu être réalisées pour 183 sujets sur un prélèvement de plasma obtenu à l'inclusion, les autres sujets n'ayant pas ou plus de tube disponible. Les sérologies ont été réalisées dans le service de virologie du CHU de Bordeaux en 2018. Ceci a permis de doser différents anticorps :

- Les IgG anti-HSV-1 (kit LIAISON® HSV-1 Type Specific IgG), reflet d'une infection par le virus HSV-1.
- Les IgG anti-HSV-2 (LIAISON® HSV-2 Type Specific IgG), reflet d'une infection par le virus HSV-2.
- Les IgM anti-HSV-1/2 (LIAISON® HSV-1/2 IgM), reflet d'une primo-infection ou de la survenue d'une réactivation des virus HSV-1 ou HSV-2 dans les semaines précédant le prélèvement.

Comme recommandé par les fabricants, i) une valeur d'index $\geq 1,10$ était considérée comme signant la présence d'anticorps IgG (ou IgM), ii) une valeur d'index $< 0,9$ était considérée comme signant l'absence d'anticorps IgG (ou IgM) et iii) aucune conclusion ne pouvait être faite pour les valeurs d'index entre 0,9 et 1,10. Dans ce dernier cas, une 2ème sérologie était réalisée afin de vérifier le résultat obtenu et, dans le cas où le statut restait indéterminé, le sujet était exclu des analyses.

Différents éléments du statut sérologique ont ainsi été étudiés :

- La présence d'IgG anti-HSV-1
- Le taux d'IgG anti-HSV-1 considéré en terciles car l'existence d'une limite de quantification supérieure empêchait l'utilisation des taux de façon continue.

- La présence d'IgM anti-HSV a été décrite mais aucune analyse concernant son association à la charge amyloïde intracérébrale n'a pu être réalisée en raison de la faible prévalence de sujets IgM+ (1.6% - n=3).
- Les données sérologiques portant sur HSV-2 n'ont été utilisées qu'à titre descriptif.

2.1.2.2.2 Dépôts amyloïdes intracérébraux

Au cours de l'étude ancillaire de neuro-imagerie, une seule TEP amyloïde par patient a été réalisée lors des 3 années de suivi. Le délai entre l'inclusion et la réalisation de la TEP était variable. Chez les 183 participants avec une sérologie, 28,4% des TEP étaient réalisées dans les 12 mois après inclusion, 31,7% entre 12 et 24 mois et 39,9% entre 24-36 mois. Il s'agissait de TEP amyloïdes au Florbetapir (18F-AV45-PET) dont les paramètres d'acquisition ont été détaillés dans des publications antérieures (376,378).

Différentes estimations de la charge amyloïde intracérébrale étaient disponibles :

- Une évaluation visuelle binaire de la rétention corticale du Florbetapir (0 : absence de rétention « significative », 1 : présence d'une rétention « significative »²⁴) réalisée par 3 spécialistes formés et expérimentés, à l'aveugle des informations cliniques.
- Une évaluation semi-automatique quantitative du SUVR cortical (« standardized uptake value ratio »). Le SUVR cortical est le rapport entre la fixation du traceur au niveau cortical et celle au niveau d'une zone contrôle (ici le cervelet). Dans l'essai MAPT, la fixation du traceur au niveau cortical a été estimée à partir de la moyenne du signal sur 6 régions corticales prédéfinies comme anatomiquement pertinentes au niveau des cortex frontaux, temporaux et pariétaux, du précunéus et des aires cingulaires antérieures et postérieures.

Les données de SUVR cortical ont ensuite pu être analysées :

1. En continu
2. En variable binaire : Selon le protocole de l'étude, un SUVR cortical $\geq 1,17$ était équivalent à une charge amyloïde compatible avec un diagnostic neuropathologique de maladie d'Alzheimer (380,381).

²⁴ Soit deux zones cérébrales ou plus dans lesquelles il y avait un contraste substance grise / substance blanche réduit ou absent, soit une ou plusieurs zones dans lesquelles la radioactivité de la matière grise était intense

Dans les analyses évaluant l'association entre la sérologie herpétique et la charge amyloïde intracérébrale, l'évaluation semi-automatique a été préférée à l'évaluation visuelle car elle permettait à la fois une analyse de la présence de dépôts mais également de la quantité de dépôts (SUVR cortical en continu).

2.1.2.2.3 Autres données utilisées

Différentes autres données ont été utilisées soit pour la description de l'échantillon, soit pour l'ajustement, la recherche d'interaction (pour le statut APOE4) ou la réalisation d'analyses complémentaires.

On peut notamment citer :

- L'âge à l'inclusion (il a été préféré à l'âge au TEP car il correspondait à la fois à l'âge à la sérologie et à l'âge au début de l'intervention testée dans l'essai).
- Le sexe.
- Le niveau d'étude en 3 modalités (« Certificat d'Etudes Primaires ou moins », « Brevet-CAP-BEP » et « Baccalauréat ou enseignement supérieur »).
- Le statut APOE4 (« Aucun allèle APOE4 » vs « Au moins un allèle APOE4 »).
- Un antécédent d'hypertension artérielle et/ou de diabète et/ou de dyslipidémie (variable binaire regroupant les différentes pathologies afin de diminuer le nombre de variables d'ajustement).
- Un antécédent d'accident vasculaire cérébral.
- Le bras de randomisation.
- Le délai entre l'inclusion et la réalisation de la TEP.
- Les scores au MMSE ou à l'échelle CDR (Clinical Dementia Rating scale) (Annexe 3).

2.1.3 Echantillon Généraliste des Bénéficiaires (EGB)

2.1.3.1 Qui fait partie de l'EGB ?

Créé en 2004-2005, l'Echantillon Généraliste des Bénéficiaires (EGB) est un échantillon (au 1/97^{ème} ²⁵) des bénéficiaires de la majorité des régimes d'assurance maladie en France. Il s'agit d'un échantillon anonyme et représentatif de la population nationale en termes d'âge et de sexe.

Les régimes concernés représentent environ 95% de la population couverte et ont été intégrés à l'EGB en plusieurs vagues :

- Le régime général (environ 75% de la population) en fait partie depuis sa création.
- Le régime agricole et le régime social des indépendants (environ 10% de la population) ont été intégrés à l'EGB en 2011.
- Enfin, 10 sections locales mutualistes²⁶ (environ 10% de la population) ont été intégrées en 2015-2016.

A noter que, en conséquence, certains sujets ne sont pas présents dans l'EGB :

- Les bénéficiaires de régimes spéciaux²⁷ et de certaines mutuelles étudiantes (environ 5% de la population couverte).
- Les sujets non affiliés à un régime d'assurance maladie.
- Les sujets n'ayant pas un numéro d'identification NIR « certifié » (bénéficiaires de l'AME, migrant...).

²⁵ Pourquoi 1/97^{ème} ? Le numéro d'identifiant des bénéficiaires (NIR, Numéro d'Inscription au Répertoire de l'INSEE) est composé de 13 chiffres : N° de sécurité sociale + une clé allant de 1 à 97. Le tirage au sort se fait sur le numéro de la clé.

²⁶ Mutuelle Générale de l'Education Nationale, Mutuelle Générale, Mutuelle Générale de la Police, Mutuelle des fonctionnaires, Mutuelle nationale des hospitaliers, Harmonie Fonction Publique, Mutuelle Nationale Territoriale, Mutuelle du Ministère de l'Intérieur, Mutuelle des étudiants LMDE, Caisse d'Assurance Maladie des Industries Electriques et Gazières

²⁷ Les régimes spéciaux d'Assurance Maladie : le régime des Mines, le régime des militaires, le régime des clercs de notaire, le régime des cultes, le régime des marins, le régime de la SNCF, le régime de la RATP, le régime de l'Assemblée Nationale, le régime du Sénat, le régime du Port Autonome de Bordeaux, le régime d'EDF-GDF.

2.1.3.2 Quelles sont les données disponibles dans l'EGB?

L'EGB regroupe des données issues de différentes bases médico-administratives (382,383):

- Le SNIIRAM (« Système National d'Informations Inter-Régimes de l'Assurance Maladie »), créé en 2002, rassemble des données sociodémographiques et de consommation de soins provenant des différents régimes d'assurance maladie. Dans cette thèse, nous avons notamment utilisé les informations suivantes :
 1. Des données sociodémographiques comme l'année de naissance, le sexe ou le fait de bénéficier de la CMU-c (« Couverture médicale universelle complémentaire », assurance complémentaire à la destination de personnes avec de faibles revenus).
 2. Les déclarations d'ALD « Affections Longue Durée » qui correspondent à un groupe de maladies chroniques pour lesquelles les dépenses médicales sont remboursées à 100%.
 3. Les consultations médicales ambulatoires.
 4. Les données concernant les médicaments remboursés, identifiés par leur code ATC (Anatomical Therapeutic Chemical). A noter que la majorité des traitements dispensés lors d'hospitalisations ou dans certains EHPAD (« Etablissement d'hébergement pour personnes âgées dépendantes ») disposant d'une pharmacie à usage interne ainsi que les traitements non remboursés ne sont pas disponibles dans la base de données. L'information sur l'indication du traitement n'est pas disponible non plus.
- Le PMSI (« Programme de Médicalisation du Système d'Information ») rassemble les informations issues de l'ATIH (Agence Technique de l'Information sur l'Hospitalisation) concernant les hospitalisations dans l'ensemble des hôpitaux publics ou privés en France. Dans l'EGB, des informations concernant les dates de séjour et les diagnostics principaux, reliés ou associés²⁸ pour les séjours en MCOO (médecine, chirurgie, obstétrique, odontologie) et en HAD (hospitalisation à domicile²⁹) sont disponibles et codés selon la

²⁸ Le diagnostic principal correspond à la pathologie initiale ayant justifié l'hospitalisation ou à la pathologie ayant justifié l'essentiel de la prise en charge durant l'hospitalisation. Le diagnostic relié est une maladie chronique qui permet de préciser le diagnostic principal.

Les diagnostics associés concernent toute pathologie du patient, que celle-ci ait modifié la prise en charge ou non (y compris des antécédents guéris par exemple).

²⁹ Uniquement depuis 2007 pour l'HAD

Classification Internationale des Maladies (CIM-10). Il n'existe par contre pas d'informations sur les hospitalisations en soins de suite et réadaptation ou en psychiatrie.

- Le registre des décès, géré par le CépiDC, fournit les dates de décès tandis que les causes de décès ne sont pour l'instant pas disponibles dans l'EGB.

2.1.3.3 **Design et participants inclus dans notre analyse**

Afin d'étudier un potentiel effet protecteur des traitements anti-herpétiques sur l'incidence de la démence, nous avons réalisé une cohorte de sujets âgés inclus dans l'EGB.

Afin d'avoir une période de suivi la plus longue possible, la date d'inclusion a été fixée au 1^{er} janvier 2009 (car les dates des séjours hospitaliers n'étaient disponibles qu'à partir de cette date).

En 2009, seuls les sujets affiliés au régime général étaient inclus dans l'EGB (n=507 251). Parmi eux, nous avons exclu les sujets de moins de 65 ans (n=433 462), les sujets avec moins de deux années d'antériorité dans l'EGB afin de pouvoir identifier les démences prévalentes (n=2 134) et les sujets avec une démence prévalente (n=3 364). Au final, notre échantillon regroupait 68 291 participants qui ont été suivis jusqu'à leur sortie du régime général, la survenue d'une démence, le décès ou la fin de la période d'étude fixée au 31 décembre 2017.

2.1.3.1 **Identification des sujets traités par un antiviral efficace sur HSV-1**

Durant le suivi, nous avons identifié les antiviraux efficaces sur le virus HSV-1, qu'ils soient habituellement prescrits pour cette infection ou pour d'autres infections virales (HSV-2, CMV, VZV). Les codes ATC utilisés sont répertoriés dans le tableau 13.

Tableau 13 : Codes ATC des antiviraux efficaces sur HSV-1

Anti-herpétiques à action systémique	Anti-herpétiques à application ophtalmologique	Anti-herpétiques à application cutanée
J05AB01 Aciclovir J05AB02 Idoxuridine J05AB03 Vidarabine J05AB06 Ganciclovir J05AB09 Famciclovir J05AB11 Valaciclovir J05AB12 Cidofovir J05AB13 Penciclovir J05AB14 Valganciclovir J05AB15 Brivudine J05AC03 Tromantadine J05AD01 Foscarnet J05AD02 Fosfonet	S01AD01 Idoxuridine S01AD02 Trifluridine S01AD03 Aciclovir S01AD07 Famciclovir S01AD09 Ganciclovir	D06BB02 Tromantadine D06BB03 Aciclovir D06BB08 Ibacitabine D06BB11 Docosanol

Concernant les antiviraux à action systémique, nous avons également décrit :

- La fréquence de délivrances durant le suivi pour tenter d'identifier des sujets traités régulièrement.
- La spécialité du prescripteur dans l'optique de tenter d'inférer en partie l'indication du traitement.

Nous avons également identifié les sujets ayant eu une hospitalisation dont les diagnostics principaux, reliés et associés étaient en lien avec une infection à HSV, VZV ou CMV grâce aux codes CIM-10 suivants :

- Hospitalisation en lien avec HSV
 - o (B00) Infections par le virus de l'herpès simplex
 - (B00.0) Eczéma herpétique
 - (B00.1) Dermite vésiculaire due au virus de l'herpès
 - (B00.2) Gingivostomatite et pharyngo-amygdalite due au virus de l'herpès
 - (B00.3) Méningite due au virus de l'herpès
 - (B00.4) Encéphalite due au virus de l'herpès
 - (B00.5) Affections oculaires dues au virus de l'herpès
 - (B00.7) Maladie disséminée due au virus de l'herpès

- (B00.8) Autres formes d'infection due au virus de l'herpès
 - (B00.9) Infection due au virus de l'herpès, sans précision
 - (A60) Infection ano-génitale par le virus de l'herpès simplex
 - (A60.0) Infection des organes génitaux et de l'appareil génito-urinaire par le virus de l'herpès
 - (A60.1) Infection de la marge cutanée de l'anus et du rectum, par le virus de l'herpès
 - (A60.9) Infection ano-génitale par le virus de l'herpès, sans précision
- Hospitalisation en lien avec d'autres herpès virus
 - VZV
 - (B01) Varicelle
 - (B02) Zona
 - CMV
 - (B20.2) Maladie par VIH à l'origine d'infections à cytomégalovirus
 - (B25) Maladie à cytomégalovirus
 - (B25.0) Pneumopathie à cytomégalovirus (J17.1)
 - (B25.1) Hépatite à cytomégalovirus (K77.0)
 - (B25.2) Pancréatite à cytomégalovirus (K87.1)
 - (B25.8) Autres maladies à cytomégalovirus
 - (B25.9) Maladie à cytomégalovirus, sans précision

Ces sujets sont probablement des sujets ayant eu une infection plus sévère et également des sujets pour lesquels nous ne savons pas formellement si un traitement antiviral a été administré au cours de l'hospitalisation ou non.

2.1.3.2 **Identification des démences prévalentes ou incidentes**

Les participants ont été identifiés comme ayant une démence prévalente ou incidente (selon si elle survenait avant ou après le 1^{er} janvier 2009) s'ils avaient au moins un des trois critères suivants (Tableau 14) :

- Une hospitalisation dans un service de médecine ou de chirurgie avec un diagnostic principal, relié ou associé en lien avec la démence toute cause, la maladie d'Alzheimer ou la démence vasculaire.
- Une déclaration d'ALD en lien avec la démence toute cause, la maladie d'Alzheimer ou la démence vasculaire.
- Un remboursement d'un traitement anti-déméntiel (anti-cholinestérasiques, Mémantine ou leur association), uniquement pour l'identification des cas de démence toute cause ou de maladie d'Alzheimer.

Tableau 14 : Critères pour l'identification des démences dans l'Echantillon Généraliste des Bénéficiaires

	Démence toute cause	Maladie d'Alzheimer	Démence vasculaire
Hospitalisation avec un code CIM-10 parmi	F0, G30, F01, F02, F03, G31, G32	F0 G30	F01
Déclaration d'une ALD avec un code CIM-10 parmi	ALD n° 15 "Maladie d'Alzheimer et autres démences associées" associée à un code CIM-10 parmi F0, G30, F01, F02, F03, G31, G32	ALD n° 15 associée à un code CIM-10 parmi F0, G30	ALD n° 15 associée à un code CIM-10 F01
Délivrance d'un traitement avec un code ATC parmi	Anti-cholinestérasiques N06DA02 N06DA03 N06DA04 Mémantine N06DX01 Association des deux N06DA52 N06DA53		Aucun

Les codes CIM-10 utilisés correspondent à :

- (F00.0) Démence de la maladie d'Alzheimer, à début précoce
- (F00.1) Démence de la maladie d'Alzheimer, à début tardif
- (F00.2) Démence de la maladie d'Alzheimer, forme atypique ou mixte
- (F00.9) Démence de la maladie d'Alzheimer, sans précision
- (G30 [archive]) Maladie d'Alzheimer
- (F01.0) Démence vasculaire à début aigu
- (F01.1) Démence vasculaire par infarctus multiples
- (F01.2) Démence vasculaire sous-corticale
- (F01.3) Démence vasculaire mixte, corticale et sous-corticale
- (F01.8) Autres formes de démence vasculaire
- (F01.9) Démence vasculaire, sans précision
- (F02.0) Démence de la maladie de Pick
- (F02.1) Démence de la maladie de Creutzfeldt-Jakob
- (F02.2) Démence de la maladie de Huntington
- (F02.3) Démence de la maladie de Parkinson
- (F02.4) Démence de la maladie due au virus de l'immunodéficience humaine (VIH)

- (F02.8) Démence au cours d'autres maladies classées ailleurs
- (F03) Démence, sans précision
- (G31 [archive]) Autres affections dégénératives du système nerveux, non classées ailleurs
- (G32 [archive]) Autres affections dégénératives du système nerveux au cours d'affections classées ailleurs

La date de survenue de la démence a été définie comme la date la plus précoce parmi les suivantes : la date d'hospitalisation, la date de déclaration d'ALD et la date de dispensation du traitement anti-démence. Pour les sujets ne développant pas de démence durant le suivi, la date de censure était la date la plus précoce parmi : la date de sortie du régime général, la date de décès ou la date de fin de suivi (fixée au 31/12/2017).

2.1.3.3 Autres données utilisées

D'autres données ont été utilisées soit pour la description des données, soit comme variables d'ajustement (Tableau 15) :

- L'âge à l'inclusion
- Le sexe
- Etre bénéficiaire de la CMU-c en 2008
- L'existence de comorbidités en 2008 (comme l'hypertension, le diabète, l'hypercholestérolémie, un accident vasculaire, une cardiopathie)
- La prise d'un anti-inflammatoire en 2008 (qui pourrait impacter à la fois la réactivation virale et le développement de la démence) définie en 3 catégories (pas de prise, prise non régulière, prise régulière définie comme ≥ 10 délivrances dans l'année)
- Le nombre de consultations médicales réalisées en 2008 en 4 catégories à partir des terciles (0, 1-3, 3-6, ≥ 6 consultations)
- Le nombre de traitements différents pris en 2008 en 4 catégories à partir des terciles (0, 1-9, 9-15, ≥ 15 traitements différents)

Les sujets immunodéprimés ou ayant un cancer (que ce soit avant l'inclusion ou durant le suivi) ont également été identifiés pour la réalisation d'analyses de sensibilité.

Tableau 15 : Codes utilisés pour la définition des variables d'ajustement utilisées dans l'Echantillon Généraliste des Bénéficiaires

	Déclaration d'ALD	Prise d'un traitement avec les codes ATC suivants
Hypertension	ALD n°12 « Hypertension artérielle sévère » avant l'inclusion	Antihypertenseurs C02 C03 C07 C08 C09 en 2008
Diabète	ALD n°8 « Diabète de type 1 et diabète de type 2 » avant l'inclusion	Antidiabétiques A10 en 2008
Accident vasculaire	ALD n°1 « Accident vasculaire cérébral invalidant » avant l'inclusion	
Cardiopathies	ALD n°3 « Artériopathies chroniques avec manifestations ischémiques et/ou ALD n°13 « Maladie coronaire » et/ou ALD n°5 « Insuffisance cardiaque grave, troubles du rythme graves, cardiopathies valvulaires graves, cardiopathies congénitales graves » avant l'inclusion	Antiagrégants plaquettaires B01AC en 2008
Hypercholestérolémie		Hypolipémiants C10AA C10B C10AB en 2008
Anti-inflammatoires non stéroïdiens		M01A M01B en 2008
Glucocorticoïdes systémiques		H02AB H02B M01BA en 2008
Glucocorticoïdes inhalés		R03BA R03AL09 R03AK06 R03AK07 R03AK08 R03AK09 R03AK10 R03AK11 R03AK12 R03AK13 en 2008
Sujets immunodéprimés	ALD n°2 « Insuffisances médullaires et autres cytopénies chroniques » avec codes CIM-10 en lien avec une aplasie médullaire ou un syndrome myélodysplasique Et/ou ALD n° 7 « Déficit immunitaire primitif grave nécessitant un traitement prolongé, infection par le virus de l'immunodéficience humaine » Et/ou ALD n°28 « Suite de transplantation d'organes » avant l'inclusion ou durant le suivi	Traitements antirétroviraux (J05AR J05AE J05AF J05AG), immunosuppresseurs ou immunomodulateurs (L03 L04) avant l'inclusion ou durant le suivi
Sujets avec un cancer	ALD n° 30 «Cancer» avant l'inclusion ou durant le suivi	

2.2 Méthodes statistiques utilisées

Dans cette thèse, afin d'étudier la variation d'une variable d'intérêt Y (ex : l'incidence de la démence ou l'estimation de différents marqueurs radiologiques associés à la maladie) en fonction d'une variable d'exposition E (ex : statut à la sérologie herpétique ou prise de traitements anti-herpétiques), nous avons utilisé des méthodes statistiques relativement classiques : les modèles de régressions multivariées.

Ces méthodes nous ont notamment permis de prendre en compte dans l'analyse d'autres variables X_i pouvant être soit des facteurs de confusion potentiels soit des facteurs modificateurs d'effet :

- Un facteur de confusion est un facteur lié à la fois à Y et à E (mais non situé sur le chemin causal entre eux) et pouvant expliquer une partie de l'association entre les deux variables.

Ainsi, afin d'obtenir une mesure d'association entre Y et E non biaisée, il est important d'ajuster les analyses sur un maximum de facteurs de confusion potentiels. Les mesures d'association retrouvées reflèteront ainsi uniquement l'effet de E sur Y « toutes choses égales par ailleurs » (i.e. situation où les sujets ne diffèreraient que par la valeur de E).

Dans nos travaux, l'identification des facteurs de confusion potentiels a été réalisée *a priori* en se basant sur les données de la littérature³⁰. La sélection finale du nombre de variables d'ajustement incluses dans les modèles a ensuite tenu compte de la taille d'échantillon et du nombre d'évènements (dans le cas des modèles de Cox et des régressions logistiques).

Des ajustements séquentiels (ajout progressif des différentes variables d'ajustement) ont été réalisés afin d'explorer les conséquences de l'ajout de certaines variables d'ajustement sur la relation entre E et Y.

³⁰ Pour les analyses réalisées, il n'est en effet pas recommandé de réaliser une sélection des variables d'ajustement uniquement en fonction de la présence ou non d'une association statistique significative avec la variable Y (cette association étant trop dépendante de la taille d'échantillon utilisée).

- Un facteur modificateur d'effet I est un facteur pour lequel l'effet de la variable E sur Y dépend de la valeur de I. On parle également d'interaction entre E et I.

Dans le cadre de cette thèse, nous avons testé l'effet modificateur du génotype APOE4 sur l'association entre le statut herpétique et i) l'incidence de la démence ou ii) différents marqueurs radiologiques de la maladie. Etant donné que nous faisons cette hypothèse *a priori*, les résultats ont été systématiquement stratifiés selon le statut APOE4 (résultats présentés séparément chez les sujets porteurs et non-porteurs de l'allèle APOE4). Néanmoins, la p-value associée au test d'interaction entre le statut herpétique et APOE4 a tout de même été estimée et considérée comme significative si elle était $< 0,10$. A noter que l'utilisation d'un seuil plus conservateur pour les tests d'interaction (10% au lieu des 5% habituels) est une pratique utilisée en recherche mais discutée dans la communauté statistique (384,385).

Selon la nature de la variable d'intérêt Y, différents modèles ont été employés :

- Le modèle de régression linéaire si Y était une variable aléatoire quantitative continue suivant une loi normale (ex : majorité des marqueurs radiologiques étudiés dans 3C, AMI et MAPT).
- Le modèle de régression logistique si Y était une variable aléatoire qualitative binaire suivant une loi de Bernoulli (ex : présence ou non de dépôts amyloïdes intracérébraux dans MAPT).
- Le modèle de Cox (ou modèle des risques proportionnels) si Y était un délai jusqu'à la survenue d'un événement d'intérêt (ex : la démence dans 3C, AMI et l'EGB). Il était alors nécessaire de définir i) la survenue ou non de l'évènement (si l'évènement ne survient pas, on parle de censure³¹) et ii) le temps associé à l'évènement ou à la censure.

Les fondements statistiques des modèles utilisés ne seront pas discutés en détail dans cette thèse et seules certaines de leurs caractéristiques sont brièvement présentées dans le Tableau 16.

³¹ Dans le cas de l'étude de l'incidence de la démence, le sujet sera considéré comme « censuré » s'il ne développe pas de démence avant sa sortie d'étude, son décès ou la fin de la période d'étude.

Tableau 16 : Caractéristiques des modèles de régressions multivariées

	Modèle de régression linéaire	Modèle de régression logistique binaire	Modèle de Cox
Spécification du modèle	Modélisation de l'espérance mathématique de Y, $E(Y_i X_i)$: $E(Y_i X_i) = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \dots + \beta_p X_p$ où : - β_i sont les coefficients de régression associés aux différentes variables explicatives X_i	Modélisation de la probabilité de survenue d'un évènement $\pi(X_i)$: $\text{Logit} [\pi(X_i)] = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \dots + \beta_p X_p$ où : - β_i sont les coefficients de régression associés aux différentes variables explicatives X_i	Modélisation du risque instantané de survenue d'un évènement $\lambda(t, X)$: $\lambda(t, X_i) = \lambda_0(t) \exp(\beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \dots + \beta_p X_p)$ où : - $\lambda_0(t)$ est la fonction de risque de base lorsque toutes les variables explicatives sont nulles - β_i sont les coefficients de régression associés aux différentes variables explicatives X_i
Estimation des paramètres β	Méthode des moindres carrés	Méthode du maximum de vraisemblance	Méthode du maximum de vraisemblance partielle (la fonction de risque de base $\lambda_0(t)$ n'est pas estimée)
Test des paramètres β	- Test de Student - Test de F global ou partiel pour tester l'apport d'un ensemble de variables	- Test de Wald - Test du rapport de vraisemblance - Test du score	- Test de Wald - Test du rapport de vraisemblance - Test du score
Interprétation des paramètres β	β_i correspond, « toutes choses égales par ailleurs », à la variation de $E(Y_i X_i)$, - soit pour une augmentation d'une unité de la variable X_i si elle est quantitative - soit entre les non-exposés et les exposés si X_i est binaire.	L'exponentielle de β_i représente, « toutes choses égales par ailleurs », le rapport de cotes de risque de survenue de l'évènement d'intérêt - soit pour une augmentation d'une unité de la variable X_i si elle est quantitative - soit chez les exposés par rapport aux non-exposés si X_i est binaire.	L'exponentielle de β_i représente, « toutes choses égales par ailleurs », le rapport de risques instantanés de survenue de l'évènement d'intérêt (ou risque relatif RR) - soit pour une augmentation d'une unité de la variable X_i si elle est quantitative - soit chez les exposés par rapport aux non-exposés si X_i est binaire.
Hypothèses du modèle à vérifier	- Indépendance des Y_i - Linéarité (si X continu): β_i correspond à la variation de $E(Y_i X_i)$ pour une augmentation d'une unité de la variable X_i , quelle que soit la valeur de X - Normalité des Y_i sachant X_i - Homoscédasticité ou égalité des variances	- Indépendance des Y_i - Linéarité avec le Logit (si X continu) : e^β correspond au rapport de cote pour une augmentation d'une unité de X, quelle que soit la valeur X	- Proportionnalité des risques : le risque relatif est constant au cours du temps - Log-linéarité (si X continu): e^β correspond au risque relatif pour une augmentation d'une unité de X, quelle que soit la valeur X

Aparté concernant certains aspects méthodologiques pour les analyses utilisant le modèle de

Cox :

- Dans les modèles de survie, deux types d'échelle de temps sont souvent considérées : l'âge ou le délai depuis l'inclusion dans l'étude.

En général, lorsque la survenue de l'évènement étudié est fortement liée à l'âge (comme c'est le cas pour la survenue d'une démence), l'échelle de temps à privilégier est l'âge car cela permet de mieux modéliser son effet. C'est ce qui a été fait pour les analyses réalisées sur 3C et AMI. Dans ce cas, étant donné que les sujets ne sont pas suivis depuis leur naissance et qu'ils entrent dans ces cohortes à des âges différents, il existe une troncature à gauche. Des modèles à entrée retardée permettant de préciser l'âge d'inclusion des sujets dans la cohorte ont été utilisés afin de prendre en compte cette troncature à gauche.

Néanmoins, les modèles à entrée retardée sont moins adaptés pour les modèles impliquant des variables dépendantes du temps. C'est pourquoi dans les analyses réalisées sur l'EGB, puisque notre variable d'exposition principale (la prise d'anti-herpétiques) était une variable dépendante du temps (les sujets étaient considérés comme traités seulement à partir de la première prise de traitement durant le suivi), nous avons choisi le délai depuis l'inclusion comme axe du temps en ajustant sur l'âge.

- Concernant l'identification du temps de survenue de l'évènement ou de la censure :

Dans 3C et AMI, on ne connaît pas précisément l'âge de survenue de la démence car le suivi est réalisé de façon discontinue (on parle de censure par intervalle). L'âge de survenue de la démence a alors été fixé au milieu de l'intervalle entre la dernière visite sans démence et la visite où le diagnostic de démence a été posé. Pour les sujets n'ayant pas développé de démence au cours du suivi, l'âge de censure a été fixé à l'âge de la dernière visite. En effet, en raison de la censure par intervalle, les sujets perdus de vue ou décédés avant la fin du suivi pouvaient avoir développé une démence entre leur dernière visite et leur décès ou leur date de dernière nouvelle, sans que celle-ci ait pu être diagnostiquée.

Les analyses statistiques ont toutes été réalisées à l'aide du logiciel SAS.

3. Résultats

Les résultats des principales analyses réalisées durant cette thèse sont exposés dans les paragraphes suivants. Dans le cas de résultats déjà publiés ou soumis, les résultats sont présentés et discutés sous forme d'articles. L'ensemble des résultats sera discuté de manière globale dans la section 4.

3.1 Association entre l'infection à HSV-1 et i) l'incidence de la démence ou ii) la présence d'anomalies radiologiques à l'IRM cérébrale dans les cohortes 3C et AMI

3.1.1 Articles 1 et 2

Si l'hypothèse de l'implication du virus HSV-1 dans la maladie d'Alzheimer dispose d'éléments relativement convaincants issus d'études in vitro, chez l'animal ou sur échantillons de cerveaux humains, les études épidémiologiques en population âgée n'ont pas permis jusqu'ici d'apporter des résultats suffisants.

Tout d'abord, aucune étude en population âgée n'a évalué l'association entre statut herpétique et présence de lésions radiologiques à l'IRM cérébrale, qu'il s'agisse d'étudier la substance grise ou la substance blanche.

Enfin, si une vingtaine d'études ont évalué l'association entre statut sérologique HSV et le déclin cognitif ou la survenue d'une démence, ces études présentaient certaines limites méthodologiques : seules quelques-unes étaient des études prospectives de plus de 500 sujets (n=5 avant le début de cette thèse) et peu d'entre elles avaient pris en compte l'existence de facteurs de confusion autres que les caractéristiques sociodémographiques (tels que l'âge, le sexe, le niveau d'éducation...) ou celle de facteurs modificateurs d'effet comme, par exemple, certaines coinfections ou les facteurs de risque génétique (n=2 avant le début de cette thèse). Or, ce dernier point semble primordial dans l'hypothèse infectieuse.

En effet, l'existence de facteurs de susceptibilité (génétique ou non) semble nécessaire pour expliquer que, malgré une séroprévalence élevée de l'infection HSV-1 ($\approx 80\%$ de la population âgée), seuls certains sujets infectés développent des conséquences neurologiques tandis que d'autres restent « porteurs sains ». Ainsi, avant le début de cette thèse, Lövheim et al (343) avait

mis en évidence une interaction entre les virus HSV-1 et CMV concernant le risque de maladie d'Alzheimer et seule l'étude de Letenneur et al (109) avaient pris en compte le facteur génétique APOE4 comme potentiel facteur de confusion ou d'interaction mais n'avait pas mis en évidence d'interaction significative avec le statut sérologique HSV. Depuis, dans une étude cas-témoin nichée (332,333), des analyses ont mis en évidence une interaction entre facteurs de risque génétiques (APOE4 ou score génétique) et statut herpétique. Enfin, une autre étude de cohorte (342) a réalisé un ajustement sur APOE4 mais sans tester de potentielle interaction.

L'objectif de nos premières analyses a donc été d'évaluer l'association entre le statut sérologique HSV et i) l'incidence de la démence ou ii) l'existence d'anomalies radiologiques à l'IRM cérébrale. Les marqueurs radiologiques étudiés relevaient à la fois de la substance grise (volume hippocampique) et de la substance blanche (marqueurs DTI de connectivité structurelle au niveau des faisceaux para-hippocampiques du cingulum et du fornix). Comme nous faisons l'hypothèse *a priori* de l'existence d'une interaction entre l'infection à HSV et le facteur génétique APOE4, toutes les analyses ont été réalisées séparément pour les sujets porteurs ou non d'au moins un allèle.

L'analyse de l'association avec l'incidence de la démence a tout d'abord été réalisée dans la partie bordelaise de la cohorte des Trois Cités donnant lieu à la publication en 2020 d'un premier article intitulé « Interaction between APOE4 and Herpes simplex virus type 1 in Alzheimer's disease » dans le journal *Alzheimer's and Dementia*. Par la suite, les données de 3C Bordeaux et d'AMI ont été combinées afin d'obtenir un échantillon suffisamment grand pour étudier l'association entre statut herpétique et anomalies radiologiques à l'IRM cérébrale. Cela a également été l'occasion de réévaluer l'association avec l'incidence de la démence dans un échantillon plus important. Ces résultats font l'objet d'un 2^{ème} article intitulé « Herpes simplex virus, early neuroimaging markers and incidence of Alzheimer's disease » actuellement soumis pour publication. Ces deux articles vous sont présentés ci-après.

Brièvement, les principaux résultats étaient les suivants.

Concernant l'incidence de la MA, nous avons mis en évidence que :

- Parmi les sujets porteurs d'au moins un allèle APOE4,
 - Les sujets infectés avaient 2 fois plus de risque de développer une MA que les sujets non-infectés (HRa=2,72 [1,07–6,91] p=0,04 chez 271 sujets issus de 3CBordeaux-AMI).
 - Les sujets infectés ayant possiblement des réactivations virales plus fréquentes au cours de la vie avaient 3 fois plus de risque de développer une MA que les sujets non-infectés (HRa=3,87 [1,45–10,28] p=0,007 pour les sujets avec un taux d'IgG dans le dernier tercile par rapport aux non-infectés parmi 271 sujets issus de 3CBordeaux-AMI).
 - *Parmi les sujets infectés*, ceux ayant possiblement des réactivations virales plus fréquentes au cours de la vie avaient 2 à 3 fois plus de risque de MA que les autres sujets infectés (HRa=2,30 [1,08–4,91] p=0,03 pour les sujets avec un taux d'IgG dans le dernier tercile par rapport aux sujets infectés avec un taux d'IgG dans le premier tercile parmi 222 sujets IgG+ dans 3CBordeaux-AMI et HRa=3,68 [1,08-12,55] p=0,04 pour les sujets IgG+IgM+ versus les sujets IgG+IgM- parmi 140 sujets dans 3CBordeaux).
- Parmi les sujets non porteurs d'un allèle APOE4 (n=1274 dans 3CBordeaux-AMI), aucune association n'était retrouvée.

Concernant les marqueurs radiologiques étudiés, nous avons également mis en évidence que :

- Les sujets infectés avaient un volume hippocampique plus faible que les sujets non infectés uniquement i) s'ils avaient un taux d'IgG dans le dernier tercile ($\beta=-0,011$ standard deviation (std)=0,005 p=0,03 chez 330 sujets dans 3CBordeaux-AMI), ceci quel que soit leur statut APOE4 ou ii) s'ils étaient porteurs d'au moins un allèle APOE4 (association à la limite de la significativité statistique, $\beta=-0,016$ std=0,009 p=0,09 chez 69 sujets APOE4+ dans 3CBordeaux-AMI).

- Les sujets infectés présentaient plus d'altérations de la microstructure de la substance blanche au niveau du cingulum et du fornix para-hippocampiques que les sujets non infectés (fraction d'anisotropie plus basse, diffusivités moyenne et radiale plus élevées chez 243 sujets dans 3CBordeaux-AMI), ceci quel que soit le statut APOE4.

Ainsi, nos analyses semblent en faveur i) d'un lien entre l'infection par le virus HSV-1 et la maladie d'Alzheimer et ii) d'une possible modulation de l'effet de l'infection sur la survenue d'une MA par la présence de l'allèle APOE4.

RESEARCH ARTICLE

Interaction between APOE4 and herpes simplex virus type 1 in Alzheimer's disease

Morgane Linard¹ | Luc Letenneur¹ | Isabelle Garrigue² | Angélique Doize² |
Jean-François Dartigues¹ | Catherine Helmer^{1,3}¹INSERM, Bordeaux Population Health Research Center, University of Bordeaux, UMR U1219, Bordeaux, France²CNRS-UMR 5234 and CHU Bordeaux, Virology Department, University of Bordeaux, Bordeaux, France³CIC1401-EC, Center for Clinical Investigation-Clinical Epidemiology, F-33000 Bordeaux, France

Correspondence

Morgane Linard, INSERM U1219 Bordeaux Population Health Research Center, University of Bordeaux, Bordeaux Cedex, France.
Email: morgane.linard@gmail.com

Abstract

Introduction: Numerous results suggest the implication of infectious agents in the onset of Alzheimer's disease (AD).**Methods:** In the Bordeaux-3C prospective cohort, we assessed the impact of herpes simplex virus type 1 (HSV-1) infection on the incidence of AD according to apolipoprotein E (APOE) status, a genetic susceptibility factor. Cox models were performed to estimate the 10-year risk of AD associated with anti-HSV antibodies in 1037 participants according to APOE4 status.**Results:** Among APOE4 carriers, subjects for whom the frequency of HSV-1 reactivation is supposed to be high, that is, immunoglobulin M (IgM) positive or elevated levels of IgG, had an increased risk of AD with adjusted hazard ratios (HRs) of 3.68 (1.08–12.55) and 3.28 (1.19–9.03), respectively. No significant association was found in APOE4-negative subjects.**Discussion:** These results, in accordance with a solid pathophysiological rationale, suggest a role for HSV-1 in AD development among subjects with a genetic susceptibility factor, the APOE4 allele.

KEYWORDS

Alzheimer's disease, APOE4, dementia, genetic susceptibility, herpes virus, prevention

1 | BACKGROUND

Although hallmarks of Alzheimer's disease (AD) such as β -amyloid plaques, neurofibrillary tangles, and neuroinflammation are well known,¹ the triggers of these hallmarks are still under investigation. Several results suggest an implication of infectious agents in the onset of AD. Indeed, the production of A β may be a physiological antimicrobial response.^{2–4} Moreover, several genetic risk factors of AD have been identified to regulate the immune or antiviral response.^{5–7}

Among the infectious agents suspected, herpes simplex virus type 1 (HSV-1) is an interesting candidate.⁸ After a first infection occurring mainly at a young age, HSV-1 remains in a latent form within a sensory ganglion, the trigeminal ganglion. Thereafter, reactivation of the virus is periodically triggered by various stimuli, possibly leading to severe symptoms such as encephalitis in immunocompromised persons. In immunocompetent persons, reactivation causes minor symptoms,

such as cold sores or, most of the time, asymptomatic shedding of the virus, highlighting a relatively good control of the infection by the immune system. Nevertheless, in elderly people, this control can be weakened by immunosenescence, which could explain the late development of AD.^{9,10} Taking advantage of this decrease in immune defenses, HSV-1 could then migrate to the temporal cortex (the area usually affected in HSV-1 encephalitis) and as a neurotropic virus, could travel from neuron to neuron to other regions of the brain. Once in the brain, the direct action of the virus and/or the inflammation against it could be responsible for the main hallmarks of AD.¹¹ In fact, numerous postmortem studies have proven the presence of HSV-1 DNA in the brains of aged persons, specifically in areas affected by AD (reviewed in Steel¹²) and in amyloid plaques.¹³ In vitro studies have also demonstrated that inoculation with HSV-1 could lead to neuroinflammation, amyloid and phosphorylated tau accumulations, impaired autophagy, and mitochondrial alterations (reviewed in Harris et al.¹⁴).

Epidemiological studies suggest an increased risk of AD in infected individuals.^{15,16} As $\approx 80\%$ of aged persons are infected by HSV-1¹⁷ and not all of them develop AD, the existence of environmental, viral, or genetic susceptibility factors seems essential for this theory to be valid. Such a factor could explain why some infected persons remain "healthy carriers" as observed in numerous infectious diseases.¹⁸ From this perspective, the $\epsilon 4$ allele of the APOE gene seems to be of particular interest regarding its frequency in the general population¹⁹ and previous results suggesting an interaction with HSV-1 infection.²⁰

The main goal of this study was to assess the impact of HSV-1 infection on the incidence of AD according to a genetic susceptibility factor, the APOE gene, which could modify the effect of the virus.

2 | METHODS

2.1 | Design, participants, and available data

The Three-City prospective cohort study (3C), the primary goal of which was to assess the effect of vascular factors on the incidence of dementia and cognitive impairment, began in 1999–2001 in three French areas (Bordeaux, Dijon, and Montpellier). A total of 9294 participants who were 65 years or older, non-institutionalized, and enrolled from electoral lists were included; due to financial constraints for the realization of serologies, only those from the Bordeaux center ($n = 2104$ at baseline) are considered in this ancillary study on HSV. Trained psychologists conducted home visits at 2, 4, 7, 10, 12, and 14 years after inclusion to collect sociodemographic, lifestyle, and health-related information using a standardized questionnaire. Cognitive functions and their impact on activities of daily living were assessed with a large battery of tests (including the Mini-Mental State Examination [MMSE]), and a neurologist examined participants with cognitive impairments to confirm the diagnosis of dementia according to Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fourth Edition (DSM-IV) criteria.²¹ A group of experts reviewed all of these cases to confirm the dementia diagnosis and determine its subtype. Details of the study protocol have been fully described previously.²² The ethical committee of the University Hospital of Kremlin-Bicêtre approved the study protocol, and each participant provided signed informed consent.

At the 4-year follow-up visit (T4) (2003–2005), the remaining 1568 participants from Bordeaux (171 participants were deceased and 365 lost to follow-up before T4) were asked to provide a blood sample that was stored at -80°C . Among the 1258 subjects with an available serum sample (257 participants did not provide a blood sample and 53 no longer had a blood sample available in the biobank), the presence of anti-HSV antibodies was assessed using LIAISON IgG HSV-1/2 and LIAISON IgM HSV-1/2 tests (Diasorin–Italy–chemiluminescence immunoassay technology). The presence of IgG and IgM were determined by an index value ≥ 1.10 and their absence by an index value < 0.9 (as recommended by the manufacturer). Samples with values between 0.9 and 1.10 were tested a second time, and if their status remained inconclusive, they were excluded from our study sample ($n = 33$). We also excluded subjects with a status of IgG– IgM+ ($n = 2$)

RESEARCH IN CONTEXT

1. Systematic review: The biomedical database PubMed was used to search for previous literature. Previous reviews on the link between herpes simplex virus type 1 (HSV-1) and Alzheimer's disease (AD), cited in this article, highlight an increasingly solid pathophysiological rationale in favor of the infectious hypothesis in AD.
2. Interpretation: HSV-1 is a risk factor for AD, but its effect depends on genetic susceptibility. Among carriers of a genetic susceptibility factor, the APOE4 allele, subjects with frequent reactivations of HSV-1 had a threefold increased risk of AD, whereas no association was found in APOE4 non-carriers.
3. Future directions: Because a large proportion of the population is infected with HSV-1, the identification of environmental, viral, or genetic susceptibility factors is essential to explain why only some infected individuals will develop AD. This information could help to identify participants for future preventive trials on AD.

Highlights

- Herpes simplex virus type 1 (HSV-1) is a risk factor for Alzheimer's disease (AD), but its effect depends on genetic susceptibility.
- Among APOE4 carriers, those with frequent HSV reactivation are at higher risk of AD.
- Among APOE4 non-carriers, no association was found between HSV-1 and AD.
- Susceptibility factors could help to design future preventive trials.

which could reflect either a primary infection (unlikely given the advanced age of the participants), or IgG false negative or IgM false positive. Finally, subjects with prevalent dementia at T4 ($n = 60$) and subjects without any follow-up after T4 ($n = 126$) were excluded for carrying out survival analyses on dementia incidence. Our study sample thus consisted of 1037 participants (Flow chart in Figure 1).

2.2 | Statistical analysis

Characteristics of the participants, HSV status, and missing data were described for the study sample. Because the rate of missing values was lower than 1.5% for each of the variables, we did not impute missing data. Different markers of HSV status were considered: presence of IgG anti-HSV, presence of IgM anti-HSV in IgG-positive subjects, and

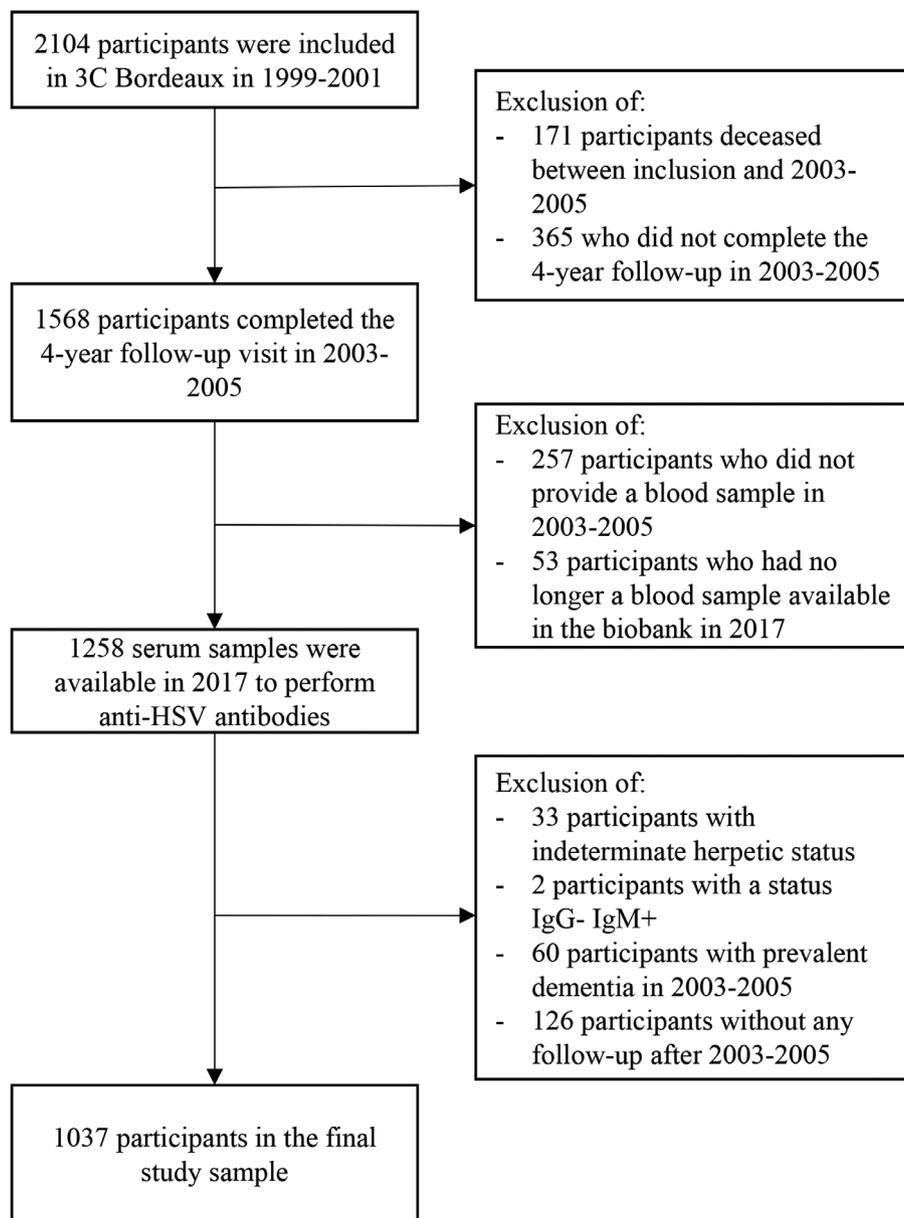


FIGURE 1 Flow chart of participants in the Three-City cohort of Bordeaux. Abbreviations: 3C, Three-City cohort; HSV, herpes simplex virus

level of IgG anti-HSV in tertiles. Incidence rates of dementia were estimated, and survival curves were generated using the Kaplan-Meier method. Cox proportional hazard regression models with delayed entry were used to estimate cause-specific hazard ratios (HRs) and 95% confidence intervals (95% CIs) for all types of dementia and for AD or mixed dementia. The baseline time was the 4-year follow-up visit (ie, the follow-up visit when blood samples were collected). The age at onset of dementia was defined as the age between the last visit without dementia and the diagnosis visit. Participants without dementia at the end of the follow-up, those lost to follow-up, or those who passed away before the onset of dementia were censored at the age of the last visit without dementia. In preliminary analyses, Cox models were also used to assess the association between HSV status and age of death; as there was no association, we chose not to implement an illness-death model. In adjusted Cox models, sex, level of education (elementary school

without diploma, short secondary school, and higher levels), marital status, presence of at least one allele of *APOE* ϵ 4, hypertension (defined as systolic blood pressure higher than 140 and/or diastolic blood pressure higher than 90 and/or use of an antihypertensive treatment), diabetes (defined as fasting blood sugar ≥ 7 mmol/L or blood sugar ≥ 11 mmol/L and/or intake of diabetes therapy), hypercholesterolemia (defined as cholesterol ≥ 6.2 mmol/L and/or intake of cholesterol-lowering drug), and tobacco consumption (defined as non-smoker, former smoker, or current smoker) were considered potential confounding factors. We adjusted our analyses for factors that may be related to either the clinical diagnosis of AD or to HSV status to limit a potential confusion bias. In fact, marital status and socio-economic status have been associated with HSV infection in previous literature^{23,24} and such associations were also found in our study sample (results not showed). Moreover, the clinical diagnosis of AD reflects most of the time a

TABLE 1 Characteristics of the participants in the study sample 3C-Bordeaux, 2003–2005, n = 1037

		Total (N = 1037)
Age	Minimum/maximum	69.7/92.2
	Mean (standard deviation)	77.7 (4.7)
Sex	Men	373 (36.0)
Level of education	Elementary school without diploma	97 (9.4)
	Short secondary school	519 (50.0)
	Higher levels	421 (40.6)
Marital status ^a	Married	533 (51.5)
	Divorced or separate	81 (7.8)
	Widowed	350 (33.8)
	Single	71 (6.9)
APOE4 ^a	At least one allele	178 (17.4)
Hypertension ^a	Yes	775 (74.8)
Diabetes ^a	Yes	126 (12.2)
Hypercholesterolemia	Yes	605 (58.3)
Tobacco consumption	Non-smoker	673 (64.9)
	Former smoker	312 (30.1)
	Smoker	52 (5.0)
Mini-Mental Status Examination ^a	Minimum/maximum	18.0/30.0
	Mean (standard deviation)	27.7 (1.9)

Values are numbers and percentages unless otherwise indicated.

^aNumber of missing data: Two for marital status, 14 for APOE4, one for hypertension, eight for diabetes, and two for Mini-Mental Status Examination.

multifactorial process, especially in older people, depending certainly on the presence of specific hallmarks of AD but also on other types of alterations (vascular pathology being frequently associated with AD), on the level of cognitive reserve (linked to the level of education) and the level of social support (linked to marital status).²⁵ Interactions with the presence of at least one allele ϵ 4 of the APOE gene were tested and considered significant if <0.10 . Cox models were then performed according to APOE4 status. In these models, adjustment variables were restricted to sex and level of education due to the smaller sample size. We verified the proportional hazards assumption with Schoenfeld residuals and by testing interaction with time. All statistical tests were two-tailed, and the threshold for statistical significance was 5%. Analyses were performed with the statistical software SAS (version 9.4; SAS Institute).

3 | RESULTS

3.1 | Characteristics of the participants

The main characteristics of the participants are available in Table 1. The skew toward female participants reflects mainly the French elderly population, with longer life expectancy for women and thus higher pro-

portion of women among elderly, and could also partly be explained by a volunteer bias. The mean follow-up time was 7.4 years (standard deviation 2.9, min-max 1.1–10.9). IgG and IgM anti-HSV were present in 81.4% (844/1037) and 4.5% (47/1037) of the participants, respectively. In IgG-positive participants, the percentage of positive IgM was 5.6% (47/844).

3.2 | Association between HSV status and incidence of dementia

During the follow-up, 204 participants (19.7%) were diagnosed with dementia (including 87 probable AD, 47 possible AD, and 22 mixed dementia). The incidence of dementia was 26.7 cases per 1000 person-years.

Controlling for sex, level of education, marital status, presence of at least one APOE4 allele, hypertension, diabetes, hypercholesterolemia, and tobacco consumption, no significant association was found between HSV status and incidence of dementia, regardless of the marker of HSV status considered (see Table 2). Nevertheless, there were several significant interactions with APOE4 status, and global analyses were thus incorrect. Cox models were then performed separately according to APOE4 status.

In individuals with at least one APOE4 allele (Table 3), the association between IgG status and incidence of dementia (all types) was close to significance ($P = 0.07$, adjusted hazard ratio [aHR] = 2.63, 95% CI [0.92–7.50]), whereas among IgG-positive individuals, being IgM+ or having a high level of IgG was associated with a threefold higher risk of developing AD or mixed dementia (aHR = 3.68 [1.08–12.55] for IgM status and aHR = 3.28 [1.19–9.03] for IgG level in the highest tercile). As expected, HRs were generally higher for analysis of AD or mixed dementia than for analyses concerning all types of dementia. No significant association was found between HSV status and incidence of dementia in APOE4-negative subjects with aHR close to 1 in most of the analyses (Table 4).

4 | DISCUSSION

4.1 | Main results

Our results highlight an increased risk of AD in aged individuals infected with HSV-1 and carriers of a genetic susceptibility factor, the ϵ 4 allele of the APOE gene. Among individuals for whom the frequency of HSV-1 reactivation is supposed to be high, that is, IgM positive at blood sampling or with an elevated level of IgG, the risk of AD was increased threefold with aHRs of 3.68 and 3.28, respectively. No significant association was found in APOE4-negative persons.

4.2 | Strengths and limits

The main strengths of our study are its prospective design, its long follow-up, and the methods used for the diagnosis of dementia. The

TABLE 2 Association between HSV status and incidence of dementia—Cox models 3C Bordeaux 2003–2014

	Unadjusted model (n = 1037 or 844) ^a				Adjusted model ^b (n = 1012 or 824) ^a			Interaction with APOE4
	Cases	HR	95% CI	P-value	aHR	95% CI	P-value	
IgG anti-HSV positive (vs negative)								
All dementia	204	1.25	0.85–1.84	0.25	1.37	0.91–2.06	0.14	0.08
Alzheimer's disease or mixed dementia	156	1.24	0.80–1.91	0.34	1.27	0.81–2.01	0.30	0.13
In IgG+ subjects, IgM anti-HSV positive (vs negative)								
All dementia	173	0.73	0.36–1.49	0.39	0.84	0.41–1.73	0.63	0.03
Alzheimer's disease or mixed dementia	132	0.83	0.39–1.79	0.64	1.00	0.46–2.17	0.99	0.02
In IgG+ subjects, IgG level in tertiles ^c								
All dementia	173							0.29
Second tertile (vs first tertile)		1.26	0.84–1.90	0.26	1.24	0.82–1.89	0.31	
Third tertile (vs first tertile)		1.16	0.80–1.67	0.43	1.14	0.78–1.68	0.48	
Alzheimer's disease or mixed dementia	132							0.09
Second tertile (vs first tertile)		1.26	0.79–1.99	0.34	1.23	0.76–1.97	0.40	
Third tertile (vs first tertile)		1.12	0.74–1.70	0.59	1.10	0.71–1.69	0.68	

Abbreviations: 95% CI, 95% confidence interval; aHR, adjusted hazard ratio; HR, hazard ratio.

^aNumber of subjects for analysis in the whole sample or in the subsample of IgG+ subjects, respectively.

^bAdjustment for sex, level of education, marital status, presence of at least one allele of APOE4, hypertension, diabetes, hypercholesterolemia, and tobacco consumption.

^cIgG level in the first tertile was <19.2, in the second tertile, ≥19.2 and <30.01, and in the third tertile, ≥30.01.

TABLE 3 Association between HSV status and incidence of dementia in APOE4-positive subjects—Cox models. 3C Bordeaux 2003–2014

	Unadjusted model (n = 178 or 140) ^a				Adjusted model ^b (n = 178 or 140) ^a		
	Cases	HR	95% CI	P-value	aHR	95% CI	P-value
IgG anti-HSV positive (vs negative)							
All dementia	43	3.06	1.09–8.57	0.03	2.63	0.92–7.50	0.07
Alzheimer's disease or mixed dementia	36	2.61	0.92–7.39	0.07	2.24	0.78–6.46	0.14
In IgG+ subjects, IgM anti-HSV positive (vs negative)							
All dementia	39	2.72	0.82–8.99	0.10	3.09	0.92–10.42	0.07
Alzheimer's disease or mixed dementia	32	3.21	0.96–10.69	0.06	3.68	1.08–12.55	0.04
In IgG+ subjects, IgG level in tertiles ^c							
All dementia	39						
Second tertile (vs first tertile)		1.51	0.62–3.72	0.37	1.62	0.65–4.03	0.30
Third tertile (vs first tertile)		2.18	0.94–5.04	0.07	2.25	0.97–5.24	0.06
Alzheimer's disease or mixed dementia	32						
Second tertile (vs first tertile)		2.11	0.72–6.17	0.17	2.16	0.73–6.43	0.17
Third tertile (vs first tertile)		3.19	1.17–8.73	0.02	3.28	1.19–9.03	0.02

Abbreviations: 95% CI, 95% confidence interval; aHR, adjusted hazard ratio; HR, hazard ratio.

^aNumber of subjects for analysis in the whole sample or in the subsample of IgG+ subjects, respectively.

^bAdjustment for sex and level of education.

^cIgG level in the first tertile was <19.2, in the second tertile, ≥19.2 and <30.01, and in the third tertile, ≥30.01.

repeated evaluations of various neurocognitive functions by trained psychologists, the second examination by a neurologist or a geriatrician for subjects with suspicion of cognitive decline, and the validation and classification of dementia cases by a group of experts have allowed a high-quality diagnosis. Nevertheless, the risk of informative censorship, inherent to our prospective design, cannot be excluded and the small number of participants diagnosed with non-AD dementias (n = 48 among them seven APOE4 carriers) prevented us from carrying

out analyses to further test the specificity of the association between HSV and AD. The absence of available amyloid or tau markers for AD diagnosis is due to the logistic difficulties in performing cerebrospinal fluid examinations or PET scans on such a large sample living in the community and to the absence of validated markers in plasma. Despite some known selection bias (volunteers, urban recruitment, duration of the follow-up, and acceptance of blood sampling), the study has the advantage of including a population cohort, rather than a hospital

TABLE 4 Association between HSV status and incidence of dementia in APOE4- negative subjects—Cox models. 3C Bordeaux 2003–2014

	Unadjusted model (n = 845 or 693) ^a				Adjusted model ^b (n = 845 or 693) ^a		
	Cases	HR	95% CI	P-value	aHR	95% CI	P-value
IgG anti-HSV positive (vs negative)							
All dementia	158	1.08	0.71–1.64	0.72	1.01	0.66–1.55	0.96
Alzheimer's disease or mixed dementia	117	1.09	0.66–1.78	0.75	0.99	0.60–1.64	0.98
In IgG+ subjects, IgM anti-HSV positive (vs negative)							
All dementia	132	0.53	0.22–1.31	0.17	0.58	0.24–1.44	0.24
Alzheimer's disease or mixed dementia	98	0.55	0.20–1.51	0.25	0.60	0.22–1.65	0.32
In IgG+ subjects, IgG level in terciles ^c							
All dementia	132						
Second tercile (vs first tercile)		1.21	0.76–1.93	0.41	1.16	0.73–1.85	0.53
Third tercile (vs first tercile)		1.04	0.69–1.57	0.87	0.98	0.64–1.49	0.92
Alzheimer's disease or mixed dementia	98						
Second tercile (vs first tercile)		1.14	0.67–1.93	0.63	1.09	0.64–1.85	0.75
Third tercile (vs first tercile)		0.89	0.55–1.43	0.63	0.83	0.51–1.34	0.44

Abbreviations: 95% CI, 95% confidence interval; aHR, adjusted hazard ratio; HR, hazard ratio.

^aNumber of subjects for analysis in the whole sample or in the subsample of IgG+ subjects, respectively.

^bAdjustment for sex and level of education.

^cIgG level in the first tercile was <19.2, in the second tercile, ≥19.2 and <30.01, and in the third tercile, ≥30.01.

cohort, and is, thus, more representative of the general population. The availability of HSV serologies across the entire 3C cohort would have increased the statistical power of our analyses and is indeed a limitation of our study. However, despite this reduced sample and thanks to the availability of genetic data, we were able to perform stratified analyses on APOE4 status, which led to statistically significant results but constrained us to limit the set of adjustment variables. Other strengths of our analysis are the low level of missing data, use of an appropriate statistical model, and low risk of reverse causality due to the prospective design. The HSV serology used in this study has a sensitivity of 99% and a specificity of 97% according to the manufacturer, but it does not distinguish between HSV-1 and HSV-2. In subjects over 50 years old, the lower prevalence of HSV-2 (≈20%) compared to HSV-1 (≈80%)¹⁷ minimizes the importance of this limitation. Moreover, because HSV serology simultaneously reflects the intensity of HSV-1 infection and the intensity of the related immune response, its interpretation is difficult. We hypothesized that IgM-positive subjects at blood sampling were more likely to have a higher frequency of reactivation than others. We also supposed that in infected subjects, a higher level of IgG was a marker of a more important history of reactivations; the hypothesis was that each reactivation over time led to an increase in the number of B lymphocytes specialized for HSV-1 and, consequently, to a higher level of anti-HSV IgG.

4.3 | Interpretation in light of literature

4.3.1 | Previous studies

Epidemiological results concerning the association of HSV-1 infection and dementia are heterogeneous, as recently reviewed in a

meta-analysis by Warren et al.²⁶ Several studies that investigated the association between IgG status and dementia have found either no association or, more rarely, an increased risk of dementia in infected subjects. Concerning the level of IgG, the results were in favor of either no association with dementia or an increased risk of dementia in subjects with high levels of IgG. Of interest, Mancuso et al. and Costa et al. showed a significantly higher level of IgG anti-HSV in AD versus controls and an intermediate level in subjects with mild cognitive impairment.^{27,28} Fewer studies have investigated the impact of recent reactivations (ie, IgM+) on the risk of AD. The results from the French cohort PAQUID have highlighted an increased risk of incident AD in IgM-positive subjects (aHR = 2.55 [1.38–4.72]).¹⁵ These results have been replicated in the Swedish cohort BETULA, where similar results were found (aHR = 1.693 [1.003–2.858]).¹⁶ In this last cohort, a lower decline in episodic memory was paradoxically reported in infected subjects with a recent reactivation (IgG+ IgM+) versus infected subjects without a recent reactivation (IgG+ IgM-),²⁹ and no association between IgM status and dementia was highlighted in a nested case-control study³⁰ from the same group. This heterogeneity could partly be explained by methodological discrepancies. In older studies, small sample sizes and/or less sensitive methods to detect HSV antibodies could have led to non-significant results.^{31–33} Two factors seem essential to consider for the hypothesis of an implication of HSV-1 in the onset of AD to be valid: age and presence of susceptibility factors.

4.3.2 | Delayed onset of Alzheimer's disease and immunosenescence

Although HSV-1 primary infection often occurs at a young age, the late onset of AD suggests a delayed effect of HSV-1 on cognitive functions.

This effect could be either initiated or strengthened by a trigger occurring in aged subjects. Immunosenescence is supposed to be that trigger. In fact, it affects cells essential to the maintenance of HSV-1 latency,³⁴ the CD8+ T lymphocytes. Considering this information, research needs to assess the association of HSV-1 and dementia in subjects old enough to allow HSV-1 to express its deleterious impact. In a cohort including younger subjects, an interaction with age would need to be considered, looking for an increased effect of HSV-1 with age, as shown in a recent analysis from Lövheim et al.²⁹ Testing an interaction directly with immunosenescent markers could enhance the accuracy of future analyses, as age is only one of the determinants of immunosenescence. For example, the presence of chronic coinfections could prematurely exhaust the immune system, and a recent study has already highlighted an interaction between HSV-1 and a known contributor of immunosenescence, CMV infection, for the risk of AD development.³⁵

4.3.3 | Presence of susceptibility factors

Because a high frequency of the population is infected by HSV-1, the presence of susceptibility factors (environmental, viral, or genetic) is needed to explain why some infected subjects develop AD but not all and may partially explain variations concerning the age at onset of AD. Viral factors (such as viral load, strain, neurovirulence, coinfections, and frequency of reactivation) have not yet been investigated and may help to identify subjects at higher risk of AD. Concerning genetic susceptibility factors, previous studies have mainly investigated the *APOE* gene, showing arguments in favor of an interaction between HSV-1 infection and *APOE* status. In murine studies, *APOE4* was associated with a higher HSV-1 load in mouse brains compared to *APOE3*.^{36–38} *APOE4* carriers were also shown to be more at risk of cold sores.^{39–41} At the same time, *APOE* status has been linked to either the frequency or extent of other viral infections such as HIV, hepatitis C virus, or varicella zoster virus (reviewed in Itzhaki et al.⁴²) and to some related neurological complications such as dementia or peripheral neuropathy in HIV-infected subjects.⁴³ Among epidemiological studies, the results are heterogeneous. Letenneur et al. found no interaction between HSV status and *APOE4*,¹⁵ whereas Lövheim et al. evidenced an increased risk of decline in episodic memory associated with HSV-1 seropositivity in *APOE4*-positive subjects.²⁹ Several mechanisms have been proposed to explain the interaction between apoE4 and HSV-1. apoE and HSV-1 use the same binding site to enter the cell, the heparan sulfate proteoglycans.⁴⁴ Thus, it was proposed that HSV-1 competes more effectively with apoE4 than apoE3, facilitating its entry into neurons and its spread from neuron to neuron. Other results suggest an impact of the *APOE* allele on the response to HSV-1 damage. Indeed, it was shown that the antioxidant activity of apoE4 was less important than that of apoE3 and apoE2.⁴⁵

Numerous other genetic risk factors of AD have also been linked to the viral cycle of HSV-1 in the neuron and to the immune response.^{5–7,46} The combination of all these genetic risk factors may explain the propensity of a subject to develop cognitive disorders due to HSV-1.

4.3.4 | CONCLUSION

Our results suggest an increased risk of AD in aged subjects infected with HSV-1 and carriers of a genetic susceptibility factor, the $\epsilon 4$ allele of the *APOE* gene. This finding is in accordance with an increasingly solid pathophysiological rationale in favor of the implication of HSV-1 in the onset of AD. Our hypothesis provide arguments to some of the key questions regarding the origins of AD as proposed in a paper published in 2015.⁴⁷ Among them, we bring results in favor of an interaction between HSV-1 infection and *APOE* as well as elements for the possible underlying mechanism, which may explain at least partially the relation between *APOE4* and the onset of AD. Moreover, the decrease of immune defenses with age and its implication on HSV-1 reactivations may also explain the relationship between aging and AD. In addition, due to its affinity for the temporal cortex and its capacity to travel from neuron to neuron to progressively affect other areas of the brain, HSV-1 infection may also explain the patterns of progression of the disease. Furthermore, HSV-1 virus could interfere with the key hallmarks of AD pathology, via the possible role of $\alpha\beta$ in the antimicrobial response and the possibility to provoke other hallmarks of AD, as shown in cells or animals models. Considering the optimistic results regarding the efficacy of treatment in *in vitro* or animal studies,^{48–50} the infectious hypothesis deserves further investigation in regard to the possibilities of effective preventive treatments of AD. Two clinical trials evaluating the efficacy of valaciclovir in subjects with AD or mild cognitive impairment are currently underway in Sweden and in the United States (NCT02997982 and NCT03282916). A further understanding of susceptibility factors implicated in the relation between HSV-1 and AD could help to select participants for further preventive trials.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank Sonia Burrel, David Boutolleau (virology department of La Pitié-Salpêtrière–Charles-Foix University Hospitals, French National Center of Reference for herpesvirus), and Jean-François Moreau (immunology department of Pellegrin University Hospital in Bordeaux, CNRS-UMR 5164 “ImmunoConcept”) for fruitful discussions.

The Three-City study is conducted under a partnership agreement between the Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (INSERM), the University Bordeaux 2 Victor Segalen and Sanofi-Aventis. The Fondation pour la Recherche Médicale funded the preparation and initiation of the study. The Three-City study is also supported by the Caisse Nationale Maladie des Travailleurs Salariés, Direction Générale de la Santé, MGEN, Institut de la Longévité, Conseils Régionaux d'Aquitaine et Bourgogne, Fondation de France, Ministry of Research-INSERM Programme “Cohortes et collections de données biologiques,” Agence Nationale de la Recherche ANR PNRA 2006 and LongVie 2007, the “Fondation Plan Alzheimer” (FCS 2009-2012), the Caisse Nationale de Solidarité pour l'Autonomie (CNSA) and Roche. None of the sponsors participated in the collection, management, statistical analysis, and interpretation of the data, not in the preparation, review, or approval of the present manuscript.

The present study has also been supported by the Fondation Plan Alzheimer (AAP 2016).

CONFLICT OF INTEREST

The authors report no conflicts of interest related to this study.

REFERENCES

1. Querfurth HW, LaFerla FM. Alzheimer's disease. *N Engl J Med*. 2010;362:329-344.
2. Moir RD, Lathe R, Tanzi RE. The antimicrobial protection hypothesis of Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement*. 2018;14:1602-1614.
3. Soccia SJ, Kirby JE, Washicosky KJ, et al. The Alzheimer's disease-associated amyloid β -protein is an antimicrobial peptide. *PLoS One*. 2010;5:e9505.
4. Bourgade K, Dupuis G, Frost EH, Fülöp T. Anti-viral properties of amyloid- β peptides. *J Alzheimers Dis*. 2016;54:859-878.
5. Karch CM, Goate AM. Alzheimer's disease risk genes and mechanisms of disease pathogenesis. *Biol Psychiatry*. 2015;77:43-51.
6. Carter CJ. Interactions between the products of the herpes simplex genome and Alzheimer's disease susceptibility genes: relevance to pathological-signalling cascades. *Neurochem Int*. 2008;52:920-934.
7. Carter C. Alzheimer's disease: APP, gamma secretase, APOE, CLU, CR1, PICALM, ABCA7, BIN1, CD2AP, CD33, EPHA1, and MS4A2, and their relationships with herpes simplex, *C. pneumoniae*, other suspect pathogens, and the immune system. *Int J Alzheimers Dis*. 2011;2011:501862.
8. Itzhaki RF, Lathe R, Balin BJ, et al. Microbes and Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis*. 2016;51:979-984.
9. Bellon M, Nicot C. Telomere dynamics in immune senescence and exhaustion triggered by chronic viral infection. *Viruses*. 2017;9:289.
10. Fulop T, Larbi A, Dupuis G, et al. Immunosenescence and inflammaging as two sides of the same coin: friends or foes? *Front Immunol*. 2018;8:1960.
11. Itzhaki RF. Corroboration of a major role for herpes simplex virus type 1 in Alzheimer's disease. *Front Aging Neurosci*. 2018;10:324.
12. Steel AJ, Eslick GD. Herpes viruses increase the risk of Alzheimer's disease: a meta-analysis. *J Alzheimers Dis*. 2015;47:351-364.
13. Wozniak M, Mee A, Itzhaki R. Herpes simplex virus type 1 DNA is located within Alzheimer's disease amyloid plaques. *J Pathol*. 2009;217:131-138.
14. Harris SA, Harris EA. Molecular mechanisms for herpes simplex virus type 1 pathogenesis in Alzheimer's disease. *Front Aging Neurosci*. 2018;10:48.
15. Letenneur L, Pérès K, Fleury H, et al. Seropositivity to herpes simplex virus antibodies and risk of Alzheimer's disease: a population-based cohort study. *PLoS One*. 2008;3:e3637.
16. Lövheim H, Gilthorpe J, Adolfsson R, Nilsson L-G, Elgh F. Reactivated herpes simplex infection increases the risk of Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement*. 2015;11:593-599.
17. Looker K, Garnett G. A systematic review of the epidemiology and interaction of herpes simplex virus types 1 and 2. *Sex Transm Infect*. 2005;81:103-107.
18. Abel L, Fellay J, Haas DW, et al. Genetics of human susceptibility to active and latent tuberculosis: present knowledge and future perspectives. *Lancet Infect Dis*. 2018;18:e64-e75.
19. Verghese PB, Castellano JM, Holtzman DM. Apolipoprotein E in Alzheimer's disease and other neurological disorders. *Lancet Neurol*. 2011;10:241-252.
20. Itzhaki R, Wozniak M. Herpes simplex virus type 1, apolipoprotein E, and cholesterol: a dangerous liaison in Alzheimer's disease and other disorders. *Prog Lipid Res*. 2006;45:73-90.
21. American Psychiatric Association. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders: DSM-IV*. Washington, DC: American Psychiatric Association; 1994.
22. The 3C Study Group. Vascular factors and risk of dementia: design of the Three-City Study and baseline characteristics of the study population. *Neuroepidemiology*. 2003;22:316-325.
23. Bünzli D, Wietlisbach V, Barazzoni F, Sahli R, Meylan PR. Seroepidemiology of Herpes Simplex virus type 1 and 2 in Western and Southern Switzerland in adults aged 2574 in 1992-93: A population-based study. *BMC Infect Dis*. 2004;4:10.
24. Malkin J-E. Seroprevalence of HSV-1 and HSV-2 infection in the general French population. *Sexually Transmitted Infections*. 2002;78:201-203.
25. Håkansson K, Rovio S, Helkala E-L, et al. Association between mid-life marital status and cognitive function in later life: population based cohort study. *BMJ*. 2009;339:b2462.
26. Warren-Gash C, Forbes HJ, Williamson E, et al. Human herpesvirus infections and dementia or mild cognitive impairment: a systematic review and meta-analysis. *Sci Rep*. 2019;9:4743.
27. Costa AS, Agostini S, Guerini FR, et al. Modulation of immune responses to herpes simplex virus type 1 by IFNL3 and IRF7 polymorphisms: a study in Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis*. 2017;60:1055-1063.
28. Mancuso R, Baglio F, Agostini S, et al. Relationship between herpes simplex virus-1-specific antibody titers and cortical brain damage in Alzheimer's disease and amnesic mild cognitive impairment. *Front Aging Neurosci*. 2014;6:285.
29. Lövheim H, Norman T, Weidung B, et al. Herpes simplex virus, APOE ϵ 4, and cognitive decline in old age: results from the Betula Cohort Study. *J Alzheimers Dis*. 2019;67:211-220.
30. Lövheim H, Gilthorpe J, Johansson A, Eriksson S, Hallmans G, Elgh F. Herpes simplex infection and the risk of Alzheimer's disease: a nested case-control study. *Alzheimers Dement*. 2015;11:587-592.
31. Lord A, Sutton RNP, Baker AA, Hussein SAM. Serological studies in the elderly. *Age Ageing*. 1978;7:116-122.
32. Whalley LJ, Urbaniak SJ, Darg C, Peutherer JF, Christie JE. Histocompatibility antigens and antibodies to viral and other antigens in Alzheimer pre-senile dementia. *Acta Psychiatr Scand*. 1980;61:1-7.
33. Renvoize EB, Awad LO, Hambling MH. A sero-epidemiological study of conventional infectious agents in Alzheimer's disease. *Age Ageing*. 1987;16:311-314.
34. Liu T, Khanna KM, Chen X, Fink DJ, Hendricks RL. CD8(+) T cells can block herpes simplex virus type 1 (HSV-1) reactivation from latency in sensory neurons. *J Exp Med*. 2000;191(9):1459-1466.
35. Lövheim H, Olsson J, Weidung B, et al. Interaction between cytomegalovirus and herpes simplex virus type 1 associated with the risk of Alzheimer's disease development. *J Alzheimers Dis*. 2018;61:939-945.
36. Burgos JS, Ramirez C, Sastre I, Bullido MJ, Valdivieso F. APOE4 is more efficient than E3 in brain access by herpes simplex virus type. *Genetics of Nervous System Disease*. 2003;14:3.
37. Burgos JS, Ramirez C, Sastre I, Valdivieso F. Effect of apolipoprotein E on the cerebral load of latent herpes simplex virus type 1 DNA. *J Virol*. 2006;80:5383-5387.
38. Guzman-Sanchez F, Valdivieso F, Burgos JS. Aging-related neurostructural, neuropathological, and behavioral changes associated with herpes simplex virus type 1 brain infection in mice. *J Alzheimers Dis*. 2012;30:779-790.
39. Lin W-R, Shang D, Wilcock GK, Itzhaki RF. Alzheimer's disease, herpes simplex virus type 1, cold sores and apolipoprotein E4. *Biochem Soc Trans*. 1995;23(4):594S.
40. Koelle DM, Magaret A, Warren T, Schellenberg GD, Wald A. APOE genotype is associated with oral herpetic lesions but not genital or

- oral herpes simplex virus shedding. *Sex Transm Infect.* 2010;86:202-206.
41. Itzhaki RF, Lin W-R, Shang D, Wilcock GK, Faragher B, Jamieson GA. Herpes simplex virus type 1 in brain and risk of Alzheimer's disease. *Lancet North Am Ed.* 1997;349:241-244.
42. Itzhaki RF, Wozniak MA. Herpes simplex virus type 1 in Alzheimer's disease: the enemy within. *J Alzheimers Dis.* 2008;13:393-405.
43. Corder EH, Robertson K, Lannfelt L, et al. HIV-infected subjects with the E4 allele for APOE have excess dementia and peripheral neuropathy. *Nat Med.* 1998;4:1182-1184.
44. Urosevic N, Martins RN. Infection and Alzheimer's disease: the APOE ϵ 4 connection and lipid metabolism. *J Alzheimers Dis.* 2008;13:421-435.
45. Miyata M, Smith JD. Apolipoprotein E allele-specific antioxidant activity and effects on cytotoxicity by oxidative insults and beta-amyloid peptides. *Nat Genet.* 1996;14:7.
46. Carter CJ. Alzheimer's disease plaques and tangles: cemeteries of a pyrrhic victory of the immune defence network against herpes simplex infection at the expense of complement and inflammation-mediated neuronal destruction. *Neurochem Int.* 2011;58:301-320.
47. Khachaturian ZS, Mesulam M-M, Khachaturian AS, Mohs RC. The special topics section of Alzheimer's & dementia. *Alzheimers Dement.* 2015;11:1261-1264.
48. Wozniak MA, Frost AL, Preston CM, Itzhaki RF. Antivirals reduce the formation of key Alzheimer's disease molecules in cell cultures acutely infected with herpes simplex virus type 1. *PLoS One.* 2011;6:e25152.
49. Wozniak MA, Frost AL, Itzhaki RF. The helicase-primase inhibitor BAY 57-1293 reduces the Alzheimer's disease-related molecules induced by herpes simplex virus type 1. *Antiviral Res.* 2013;99:401-404.
50. Lin W-R, Jennings R, Smith TL, Wozniak MA, Itzhaki RF. Vaccination prevents latent HSV1 infection of mouse brain. *Neurobiol Aging.* 2001;22:699-703.

How to cite this article: Linard M, Letenneur L, Garrigue I, Doize A, Dartigues J-F, Helmer C. Interaction between APOE4 and herpes simplex virus type 1 in Alzheimer's disease. *Alzheimer's Dement.* 2020;16:200-208.
<https://doi.org/10.1002/alz.12008>

**Herpes simplex virus, early neuroimaging markers and incidence of
Alzheimer's disease**

Morgane LINARD^{a*} MD; Marion BAILLET^a PhD; Luc LETENNEUR^a PhD; Isabelle GARRIGUE^b MD PhD; Gwenaëlle CATHELIN^{c,d} PhD; Jean-François DARTIGUES^{a,e} MD PhD; Karine PERES^a PhD; Catherine HELMER^{a,f} MD PhD

Affiliations:

^a University of Bordeaux, Inserm, Bordeaux Population Health Research Center, UMR U1219, F-33000 Bordeaux, France

^b University of Bordeaux, CNRS-UMR 5234 and CHU Bordeaux, Virology Department, F-33000 Bordeaux, France

^c EPHE, PSL Research University, Neuroimaging and daily life laboratory, F-33000, Bordeaux, France

^d University of Bordeaux, CNRS, UMR 5287, Institute of Integrative and Cognitive Neuroscience of Aquitaine, F-33000 Bordeaux, France

^e Bordeaux University Hospital, memory consultation, CMRR, Bordeaux, F-33076 France

^f Clinical and Epidemiological Research Unit, INSERM CIC1401, F-33000 Bordeaux, France

Corresponding author:

Morgane Linard. INSERM U1219 Bordeaux Population Health Research Center, University of Bordeaux, 146, rue Léo Saignat, F-33076 Bordeaux Cedex, France.

Phone number: +33 (0)5 57 57 95 38 Fax number: +33 (0)5 57 57 14 86

Email address: morgane.linard@gmail.com

Abstract

While previous studies suggest the implication of herpes simplex virus (HSV) in the onset of Alzheimer's disease (AD), no study has investigated its association with early neuroimaging markers of AD. In the Three-City and the AMI cohorts, the associations between HSV infection and i) hippocampal volume (n=349), ii) white matter alterations in the parahippocampal cingulum and fornix using diffusion tensor imaging (n=260) and iii) incidence of AD (n=1599) were assessed according to APOE4 status. Regardless of APOE4 status, infected subjects presented significantly more microstructural alterations of the parahippocampal cingulum and fornix while lower hippocampal volumes were found only when their anti-HSV IgG level was in the highest tercile – reflecting possibly more frequent reactivations of the virus ($\beta=-0.011$ standard deviation=0.005 p=0.03). Among APOE4 carriers, infected subjects presented lower hippocampal volumes, although not significant ($\beta=-0.016$ standard deviation=0.009 p=0.09), and a 2- or 3-times higher risk of developing AD (adjusted Hazard Ratio (aHR)=2.72 [1.07–6.91] p=0.04 for infected subjects and aHR=3.87 [1.45–10.28] p=0.007 for infected subjects with an anti-HSV IgG level in the highest tercile). Among APOE4 noncarriers, no association was found regarding hippocampal volumes or incident AD. Our findings support an association between HSV infection and AD and a potential interaction between HSV status and APOE4. This reinforces the need to further investigate the infectious hypothesis of AD, especially the associated susceptibility factors and the possibility of preventive treatments.

1. Introduction

Alzheimer's disease (AD) is a neurodegenerative disease characterized by visible changes within the brain several years before the clinical stage of dementia (1), including hippocampal atrophy and microstructural alterations of white matter (WM) (2–5). Nevertheless, although the temporality and topography of the clinical and biological markers of AD have been better described, the cause of the disease remains misunderstood.

Several studies have suggested the implication of infectious agents in AD pathophysiology (6), with herpes simplex virus type 1 (HSV-1) being one of the most investigated candidates (7,8). In fact, the implication of HSV-1 could potentially explain the location, chronology and the type of damage described in AD. First, HSV-1 is a neurotropic virus with a particular tropism for the temporal cortex, as shown by the localization of lesions in HSV-1 encephalitis and postmortem studies highlighting the presence of HSV DNA in the brains of older adults (reviewed in (9)). HSV-1 also has the ability to move from neurons to neurons, which could explain the progression of lesions to other brain areas (10,11). Second, HSV-1, which remains in a latent state throughout life after primary infection, can periodically reactivate during a temporary immune decline. With advancing age, the development of a long-lasting immunosenescence (12,13) may allow more frequent and/or more intense reactivations of the virus (14), thereby explaining the progressive and relatively late onset of AD. Third, insights from *in vitro* and animal studies revealed that the inoculation of HSV-1 leads to the development of the main hallmarks of AD, in particular neuro-inflammation, amyloid deposits and phosphorylated Tau (reviewed in (15,16)), and that the accumulation of the peptide A β may be due to its potential antimicrobial role (6,17,18). Finally, HSV-1 could be linked to genetic risk factors of AD (19,20), especially ApoE4. The existence of such genetic susceptibility factors could explain why, despite a seroprevalence of approximately 80% in

the elderly (21), some infected individuals remain “healthy carriers”, while others develop clinical consequences of the infection.

However, results from epidemiological studies are still inconsistent concerning the association between HSV infection and cognitive decline or dementia (reviewed in (22)) and, if HSV has been related to gray matter volume among AD patients (23–25), no study has investigated its association with earlier neuroimaging markers of AD among the elderly.

In the present study, we aimed to evaluate the association between HSV status and i) hippocampal volume (HV), ii) WM alterations in the cingulum and the fornix which are the main afferent and efferent axonal bundles of the hippocampus in two population-based prospective cohorts of older adults. We also complement our previous results (26) in a larger study sample regarding its association with dementia incidence.

2. Materials and methods

2.1 Design and participants

The study sample comes from two population-based prospective cohorts: the Three-City study (3C) and the Aging Multidisciplinary Investigation study (AMI). A detailed description of both study protocols was previously published (27,28). Briefly, the 3C cohort initially aims to assess the effect of vascular factors on cognitive impairment in three French areas (Bordeaux, Dijon, and Montpellier). In Bordeaux, 2104 participants aged 65 years or older, non-institutionalized, and enrolled from electoral lists were included in 1999-2001. The AMI cohort aims to study health and aging among the elderly population living in rural settings. In 2007-2009, 1002 retired farm workers or owners from the south-west of France who were aged 65 years or older were enrolled from the reimbursement database of the French Farmer Health Insurance System. Data on sociodemographic status, lifestyle and health were

collected during home visits 2, 4, 7, 10, 12, and 14 years and 2, 4 and 7 years after inclusion respectively for 3C and AMI. The Ethical Committee of the University Hospital of Kremlin-Bicêtre and Sud-Méditerranée III for 3C and of Bordeaux for AMI approved the research protocol. Each participant provided signed informed consent.

2.2 Determination of HSV status

HSV serologies were based on blood samples provided at the 4-year follow-up visit for 3C (n=1258) and at inclusion for AMI (n=609) (Supplementary Figure 1). Two types of anti-HSV antibodies were determined: anti-HSV IgG, reflecting an infection by the virus, and anti-HSV IgM, possibly representing a reactivation of the virus in the weeks before blood sampling. We used LIAISON® HSV-1/2 IgG / IgM tests (Diasorin – Saluggia, Italy - chemiluminescence immunoassay technology) (details in Supplementary Information).. Participants were excluded if their serology was inconclusive (n=40) or if they presented IgG-IgM+ status (n=5) reflecting either a primary infection (unlikely given the advanced age of the participants) or IgG false negative or IgM false positive (Supplementary Figure 1).

2.3 Incidence of AD

In both cohorts, an active screening of cognitive and functional decline was performed at each visit by a trained neuropsychologist. When cognitive impairment was suspected, a second evaluation was performed by a geriatrician or a neurologist to confirm the diagnosis of dementia using the Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders Fourth Edition criteria (29) and to determine the etiology. Each case of dementia was then reviewed by a committee of experts according to the NINCDS-ADRDA criteria for AD. For statistical analyses of the incidence of AD (including pure AD and mixed dementia), we excluded

subjects with prevalent dementia at the time of serology (n=133) and subjects without any follow-up after the time of serology (n=171). Analyses were carried out on 1599 participants (Supplementary Figure 1). Among them, the participants from 3C were already included in previous published results (26).

2.4 Magnetic resonance imaging acquisition and processing

Magnetic resonance imaging (MRI) were performed using an ACHIEVA 3T scanner (Philips Medical System, Netherlands) (details in Supplementary Information) on a subsample of 238 participants 6 years after the serology in 3C and 200 participants 4 years after the serology in AMI. Among these subjects, 387 had anti-HSV serologies.

3D T1 weighted images were used to segment the hippocampus using FIRST implemented in FMRIB Software Library v5.0 (FSL, (30)). The quality of segmentation was checked manually for each subject with minimal manual editing if necessary. A total of 35 participants had no available measure of the HV and 3 participants were already demented at the time of the serology, resulting in the inclusion of 349 subjects in this analysis (Supplementary Figure 1). Right and left HVs were extracted, averaged and expressed as a percentage of the total intracranial volume (TIV).

WM integrity was assessed using diffusion tensor imaging (DTI). Of 387 participants initially included in the MRI study, 259 participants had available diffusion weighted images (Supplementary Figure 1). None of them were demented at the time of the serology. Briefly, fractional anisotropy (FA), mean diffusivity (MD), and axial and radial diffusivities (AxD, RD) maps were obtained using FMRIB's Diffusion Toolbox (FDT), part of FSL. A Tract Based Spatial Statistics (31) pipeline was used to project FA, MD, AxD and RD values on a study-specific mean FA skeleton template. Within the WM skeleton mask, FA and diffusivity

values were extracted for two axonal bundles: the fornix and the cingulum in the portion running along the hippocampus, as defined in the Johns Hopkins University atlas (stria terminalis of the fornix and hippocampal cingulum). FA ranges from 0 to 1 and evaluates the directionality of water diffusion in the brain. In WM, an FA value close to 1 indicates that water molecules preferentially move in one main direction (anisotropic motion), along axonal fibers. MD represents the average amplitude of water diffusion movements measured in the three space directions (x,y,z), AxD the diffusivity in the main direction and RD the average of the diffusivity in the two remaining directions. High FA and low diffusivity values reflect a high level of structural coherence and undamaged axon fiber architecture.

2.5 Statistical analysis

For analyses of HV and WM integrity, we considered only IgG antibodies because small sample sizes prevented us from analyzing IgM. Both the presence and the levels of IgG in terciles were considered. The use of a continuous variable for IgG levels was not possible due to the presence of an upper limit of quantification. Linear regression models adjusted for age at serology, sex, level of education, presence of at least one allele of APOE4, hypertension, diabetes and cohort were performed. Normality of residuals and homoscedasticity were assessed using a histogram of residuals, a normal quantile-quantile plot of residuals and a plot of residuals versus predicted values.

For analyses of the incidence of AD, we considered the presence of IgG and IgG levels in terciles. The existence of an interaction with time prevented us from analyzing the IgM status. Cox models, using age as timescale, were performed (32). The results are presented as the cause-specific hazard ratios (HRs) with their 95% confidence intervals (95% CIs) and p-values. Age at dementia onset (AD or other types) was defined as the middle of the time

interval between the last visit without dementia and the diagnosis visit. Participants who developed another type of dementia were censored at the age of onset of dementia.

Nondemented participants (included the deceased without dementia) were censored at the age of the last visit without dementia. We considered the following confounding factors in addition to age (as timescale): sex, level of education, marital status, presence of at least one allele of APOE4, hypertension, diabetes, hypercholesterolemia, tobacco use and cohort. The proportional hazards assumption was assessed with Schoenfeld residuals and by testing interactions with time.

For all analyses, we tested the existence of an interaction between APOE4 and HSV status. As we assumed *a priori* a different impact of HSV infection according to the APOE4 status, analyses were then systematically stratified by APOE4. In the stratified models, due to the small sample sizes, the adjustment variables were restricted to age, sex and cohort for linear regression models and to age (as a timescale), sex, level of education and cohort for Cox models. For the same reason, we did not consider the levels of IgG in terciles in the stratified samples.

All statistical tests were two-tailed, and the threshold for statistical significance was 5%.

Analyses were performed with SAS software (version 9.4 SAS Institute).

3. Results

3.1 Characteristics of participants

The characteristics of participants are presented in Table 1 in the three studied samples: HV (n=349), WM integrity (n=259) and AD incidence (n=1599). In the latter, participants were 77 (± 5) years old, 45% were male and 18% were APOE4 carriers. In this sample 83% (n=1327) had anti-HSV IgG and these tended to be more often women, widowed, with a

lower level of education, more hypertension and more often non-smoker (Supplementary Table 1).

3.2 Association between HSV status and HV

Among the available sample, 80.5% (n=281) had anti-HSV IgG. The mean HV expressed as a percentage of the TIV was 0.25 ± 0.03 (Table 2).

In non-stratified analyses (Table 3), there was no significant difference in HV between infected and uninfected subjects ($p=0.19$). Nevertheless, when considering the levels of IgG in terciles, subjects with an IgG level in the highest tercile had a lower HV compared to uninfected subjects ($\beta=-0.011$ standard deviation=0.005 $p=0.03$) (Figure 1).

The p-value of the interaction between the presence of anti-HSV IgG and APOE4 was equal to 0.15 (Table 3). In APOE4 carriers (n=69), the association between the presence of IgG and lower HVs was close to significance ($\beta=-0.016$ standard deviation=0.009 $p=0.09$). No association was observed among APOE4 noncarriers (n=262, $p=0.71$).

3.3 Association between HSV status and WM microstructural integrity

Among the available sample, 80% (n=206) had anti-HSV IgG. FA, MD, AxD and RD for the parahippocampal cingulum and fornix are presented in Table 2. Regardless of APOE4 status (Table 3), the presence of anti-HSV IgG was significantly associated with low FA, high MD and high RD of the parahippocampal cingulum and fornix. No significant associations were observed between the presence of IgG and AxD. Although there were significant associations for several IgG terciles, there were no clear trend for an increase in DTI alterations with increasing IgG levels (Figure 1).

There were no significant interaction between the presence of anti-HSV IgG and APOE4 for DTI parameters (Table 3).

3.4 Association between HSV status and the incidence of AD

Among the 1599 participants, 83% (n=1327) had anti-HSV IgG. During the follow-up (mean time=6.8 years, standard deviation 2.6), 293 cases of dementia were diagnosed, including 222 cases of AD, with an incidence rate of 20.6 cases of AD per 1000 person-years.

The p-value of the interaction between the presence of anti-HSV IgG and APOE4 was equal to 0.05 (Table 4). In APOE4 carriers (n=271), the presence of IgG was significantly associated with an increased risk of AD (aHR=2.72 [1.07–6.91] p=0.04) and subjects with an IgG level in the highest tercile had an increased risk of AD compared to uninfected subjects (aHR=3.87 [1.45–10.28] p=0.007) or compared to infected subjects with an IgG level in the lowest tercile (aHR=2.30 [1.08–4.91] p=0.03). In APOE4 noncarriers, no significant association was observed.

4. Discussion

4.1 Main results

Our findings suggest an increased risk of AD in subjects infected by HSV. Infected subjects with an anti-HSV IgG level in the highest tercile (possibly reflecting more frequent reactivations over time) had lower HV compared to uninfected subjects. Infected subjects presented also more microstructural alterations of the parahippocampal cingulum and fornix regarding FA, MD and RD. Our results are also in favor of an interaction between being infected with HSV and APOE4 status regarding advanced markers of the disease (HV and

then incidence of AD). Among APOE4 carriers, infected subjects presented lower HVs, although not significant, and had a 2-times higher risk of developing AD and a 3-times higher risk if their anti-HSV IgG level was in the highest tercile. Among APOE4 noncarriers, no associations were observed between HSV status and HV or incidence of AD.

4.2 Strengths and limitations

Our study has several strengths. The cohorts benefit from a population-based recruitment strategy allowing for the inclusion of participants regardless of their cognitive performance, unlike clinical studies. Nevertheless, some selection bias persists (volunteer bias, acceptance of neuroimaging examination and blood sampling). The HSV serology used has excellent sensitivity and specificity (99% and 97% according to the manufacturer), and the seroprevalence observed in our population was in accordance with previous studies (21). This serology does not, however, distinguish between HSV-1 and HSV-2 infections, but it seems to be a minor limitation regarding the relatively low prevalence of HSV-2 ($\approx 20\%$) compared to that of HSV-1 ($\approx 80\%$) in aged subjects and the tropism of HSV-2 for genital locations that makes it unlikely to be involved in the development of AD. Thus, the detection of both HSV-1 and HSV-2 probably underestimated the observed associations rather than the opposite. Our study has numerous and valuable neuroimaging data on both HV and WM integrity. The availability of genetic data on APOE4 allowed us to perform stratified analyses, but, due to the small number of APOE4 carriers, analyses were adjusted only for a limited number of potential confounders. Note that, as sensitivity analyses, the stratified models were also carried out with the full set of adjustment variables. The results were unchanged except for two analyzes concerning the parahippocampal fornix: the association became non-significant among the APOE4 carriers for RD ($p=0.06$ vs 0.04) and significant among the APOE4 noncarriers for FA ($p=0.048$ vs 0.06).

Concerning the incidence of AD, the prospective design allowed for the diagnosis of incident cases over 10 years in 3C and 7 years in AMI with a low rate of loss to follow-up. An active screening of dementia cases was performed over the follow-up, and special attention was paid to the quality of the clinical diagnosis. Although the availability of AD biomarkers obtained through lumbar puncture or PET imaging would have enhanced the accuracy of the etiological diagnosis, their cost, accessibility and acceptability prevent their use in these population-based cohorts.

4.3 Interpretation in light of the literature

4.3.1 Associations between the presence of anti-HSV IgG, hippocampal volume and WM alterations

Regardless of the APOE status, infected subjects with an IgG level in the highest tercile (reflecting more frequent reactivations of the virus (14)) presented lower HVs compared to uninfected subjects. Infected subjects had also more microstructural alterations in the parahippocampal cingulum and fornix, including lower FA, and higher MD and RD, than uninfected subjects. To our knowledge, this is the first study evaluating the association between the presence of anti-HSV IgG and HV and WM integrity in older adults. Previous studies exploring the association between HSV status and neuroimaging markers were conducted on different populations. Among AD patients, studies (23–25) have previously highlighted a positive correlation between the level of anti-HSV IgG and gray matter volumes, including the volumes in the orbitofrontal cortex and temporal poles. In schizophrenic patients, studies (33–35) revealed an association between HSV infection and cortical atrophy, especially over frontal regions and the cingulate cortex. Finally, in five individuals with a history of HSV-1 encephalitis, a neuroimaging evaluation a few years later

(median time 4 years) (36) revealed no significant difference in HV or thickness in the contralateral hemisphere compared to 51 age-matched controls, while a reduction in FA and an increase in MD and RD parameters were reported in bundles connecting the medial temporal lobe to other brain areas.

Although white matter alterations can be seen in neurological pathologies other than AD, the fornix and cingulum bundles are connecting tracts of the limbic system that are thought to be altered prematurely in AD processes. Indeed, previous reports have found significant alterations in DTI parameters in the cingulum or fornix among AD patients, patients with mild cognitive impairment (MCI) or cognitively normal adults who developed amnesic MCI (2–5).

Moreover, while the interpretation of DTI parameters remains debated (37), alterations of RD are assumed to reflect myelin damage, suggesting a pathophysiological mechanism underlying the association between HSV infection and AD. Notably, the occurrence of demyelination in the central nervous system following HSV infection was also previously reported in murine studies (38,39).

4.3.2 Associations between HSV status and the incidence of AD according to APOE4 status

Our results highlight an association between the presence of anti-HSV IgG and an increased risk of AD among APOE4 carriers. While studies that have not stratified on APOE status report conflicting results regarding this association (reported in (22)), a significant increased risk of episodic memory decline was found among APOE4 carriers within the Betula study (40).

Finally, we highlighted an increased risk of AD among APOE4 carriers with a high level of anti-HSV IgG. Regardless of the APOE status, other studies have observed an increased risk of AD in subjects with frequent reactivations, identified either by the presence of IgM (41,42) or by a high level of IgG (25).

4.3.3 Interaction between APOE4 and the presence of anti-HSV IgG

Even if the interaction test was not significant at the level of 0.05, the results of the stratified analyses support the existence of an interaction between APOE4 status and the presence of anti-HSV IgG considering both the risk of AD and lower HVs while no interaction was observed for WM integrity. This apparent discrepancy might reflect a differential impact of APOE4 on grey and white matters as suggested in some studies showing that APOE4 carriers did not differ from non-carriers in DTI parameters of the cingulum and fornix bundles (43). This is consistent with our data where infected APOE4 carriers had lower HVs while they did not differ from noncarriers regarding DTI parameters (data no shown).

The existence of such an interaction has been reported in the literature. Concerning the risk of AD, our observation is in accordance with results from the Betula Swedish cohort (40,44), whereas such interaction was not observed in the PAQUID cohort (42). The existence of an interaction between APOE4 and HSV status has previously been discussed in postmortem studies reporting the presence of HSV DNA in brain regions of older adults according to APOE4 status (45–48), but the results remain controversial. More recently, murine studies have also highlighted an increased HSV-1 load in the brain of APOE4 carriers compared to APOE3 carriers (49–51), and a pathophysiological explanation has been proposed: HSV-1 and the ApoE protein compete for the same binding site to enter neurons. ApoE4, competing less efficiently with HSV-1, facilitates the infection of neurons by the virus (52). Accordingly,

Herpes simplex virus and Alzheimer's disease

APOE4 status is related to an increased risk of cold sores (47,48,53) and to the severity of other viral infections (reviewed in (54)).

The existence of such susceptibility factors – APOE4 but probably also other genetic factors involved in particular in the immune response – would be important to identify subjects who will develop clinical consequences of the infection of those who will remain “healthy carriers”.

4.3.4 Conclusion

While the underlying mechanism remains uncertain and may involve direct action of the virus and/or the immune response against it, our findings suggest an association between HSV-1 infection and markers of AD pathology. These results reinforce the need to further investigate the infectious hypothesis of AD, especially the associated susceptibility factors such as APOE4 and the possibility of preventive treatments.

Acknowledgements

The Three-City study is conducted under a partnership agreement between the Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (INSERM), the University Bordeaux 2 Victor Segalen and Sanofi-Aventis. The Fondation pour la Recherche Médicale funded the preparation and initiation of the study. The Three-City study is also supported by the Caisse Nationale Maladie des Travailleurs Salariés, Direction Générale de la Santé, MGEN, Institut de la Longévité, Conseils Régionaux d'Aquitaine et Bourgogne, Fondation de France, Ministry of Research-INSERM Programme “Cohortes et collections de données biologiques,” Agence Nationale de la Recherche ANR PNRA 2006 and LongVie 2007, the “Fondation Plan Alzheimer” (FCS 2009-2012), the Caisse Nationale de Solidarité pour l'Autonomie (CNSA) and Roche.

The AMI project was funded by AGRICA (CAMARCA, CRCCA, CCPMA PREVOYANCE, CPCEA, AGRI PREVOYANCE), the *Mutualité Sociale Agricole (MSA) de Gironde*, and the *Caisse Centrale de la Mutualité Sociale Agricole (CCMSA)*. Laboratory testing was funded by the National Institute of Health and Medical Research (INSERM) – Aviesan ITMO *Santé Publique*.

The present project was supported by the Fondation Plan Alzheimer (AAP 2016).

None of the sponsors participated in the study design, collection, management, statistical analysis and interpretation of the data, not in the preparation, review or approval of the present manuscript.

Conflict of interest: None.

Supplementary information is available at MP's website.

References

1. 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;12(2):207-16.
2. Harrison JR, Bhatia S, Tan ZX, Mirza-Davies A, Benkert H, Tax CMW, et al. Imaging Alzheimer's genetic risk using diffusion MRI: A systematic review. *NeuroImage: Clinical.* 2020;27:102359.
3. Kantarci K. Fractional Anisotropy of the Fornix and Hippocampal Atrophy in Alzheimer's Disease. *Front Aging Neurosci.* 2014;6.
4. Márquez F, Yassa MA. Neuroimaging Biomarkers for Alzheimer's Disease. *Mol Neurodegeneration.* 2019;14(1):21.
5. Zhang B, Xu Y, Zhu B, Kantarci K. The Role of Diffusion Tensor Imaging in Detecting Microstructural Changes in Prodromal Alzheimer's Disease. *CNS Neurosci Ther.* 2014;20(1):3-9.
6. Moir RD, Lathe R, Tanzi RE. The antimicrobial protection hypothesis of Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia.* 2018;14(12):1602-14.
7. Itzhaki RF. Corroboration of a Major Role for Herpes Simplex Virus Type 1 in Alzheimer's Disease. *Front Aging Neurosci.* 2018;10:324.
8. Itzhaki RF, Lathe R, Balin BJ, Ball MJ, Bearer EL, Braak H, et al. Microbes and Alzheimer's Disease. *Journal of Alzheimer's Disease.* 2016;51(4):979-84.
9. Steel AJ, Eslick GD. Herpes Viruses Increase the Risk of Alzheimer's Disease: A Meta-Analysis. *Journal of Alzheimer's Disease.* 2015;47(2):351-64.

10. Ball MJ. Limbic predilection in Alzheimer dementia: is reactivated herpesvirus involved? *Can J Neurol Sci.* 1982;9(3):303-6.
11. Braak H, Del Tredici K. Alzheimer's pathogenesis: is there neuron-to-neuron propagation? *Acta Neuropathologica.* 2011;121(5):589-95.
12. Bellon M, Nicot C. Telomere Dynamics in Immune Senescence and Exhaustion Triggered by Chronic Viral Infection. *Viruses.* 2017;9(10):289.
13. Fulop T, Larbi A, Dupuis G, Le Page A, Frost EH, Cohen AA, et al. Immunosenescence and Inflamm-Aging As Two Sides of the Same Coin: Friends or Foes? *Frontiers in Immunology.* 2017;8:1960.
14. Stowe RP, Peek MK, Cutchin MP, Goodwin JS. Reactivation of herpes simplex virus type 1 is associated with cytomegalovirus and age. *Journal of Medical Virology.* 2012;84(11):1797-802.
15. Carter CJ. Alzheimer's disease plaques and tangles: Cemeteries of a Pyrrhic victory of the immune defence network against herpes simplex infection at the expense of complement and inflammation-mediated neuronal destruction. *Neurochemistry International.* 2011;58(3):301-20.
16. Harris SA, Harris EA. Molecular Mechanisms for Herpes Simplex Virus Type 1 Pathogenesis in Alzheimer's Disease. *Frontiers in Aging Neuroscience.* 2018;10.
17. Bourgade K, Dupuis G, Frost EH, Fülöp T. Anti-Viral Properties of Amyloid- β Peptides. *J Alzheimers Dis.* 04 2016;54(3):859-78.
18. Soccia SJ, Kirby JE, Washicosky KJ, Tucker SM, Ingelsson M, Hyman B, et al. The Alzheimer's Disease-Associated Amyloid β -Protein Is an Antimicrobial Peptide. *PLoS ONE.* 2010;5(3):e9505.
19. Carter C. Alzheimer's Disease: APP, Gamma Secretase, APOE, CLU, CR1, PICALM, ABCA7, BIN1, CD2AP, CD33, EPHA1, and MS4A2, and Their Relationships with Herpes Simplex, C.

- Pneumoniae, Other Suspect Pathogens, and the Immune System. *International Journal of Alzheimer's Disease*. 2011
20. Carter CJ. Interactions between the products of the Herpes simplex genome and Alzheimer's disease susceptibility genes: Relevance to pathological-signalling cascades. *Neurochemistry International*. 2008;52(6):920-34.
 21. Looker K, Garnett G. A systematic review of the epidemiology and interaction of herpes simplex virus types 1 and 2. *Sex Transm Infect*. 2005;81(2):103-7.
 22. Warren-Gash C, Forbes HJ, Williamson E, Breuer J, Hayward AC, Mavrodaris A, et al. Human herpesvirus infections and dementia or mild cognitive impairment: a systematic review and meta-analysis. *Sci Rep*. 2019
 23. Agostini S, Mancuso R, Baglio F, Cabinio M, Hernis A, Costa AS, et al. High avidity HSV-1 antibodies correlate with absence of amnesic Mild Cognitive Impairment conversion to Alzheimer's disease. *Brain, Behavior, and Immunity*. 2016;58:254-60.
 24. Mancuso R, Baglio F, Cabinio M, Calabrese E, Hernis A, Nemni R, et al. Titers of Herpes Simplex Virus Type 1 Antibodies Positively Correlate with Grey Matter Volumes in Alzheimer's Disease. *Journal of Alzheimer's Disease*. 2014;38:5.
 25. Mancuso R, Baglio F, Agostini S, Agostini MC, Laganã MM, Hernis A, et al. Relationship between herpes simplex virus-1-specific antibody titers and cortical brain damage in Alzheimer's disease and amnesic mild cognitive impairment. *Frontiers in Aging Neuroscience*. 2014
 26. Linard M, Letenneur L, Garrigue I, Doize A, Dartigues J-F, Helmer C. Interaction between APOE4 and herpes simplex virus type 1 in Alzheimer's disease. *Alzheimer's Dement*. 2020;16(1):200-8.

27. Pérès K, Matharan F, Allard M, Amieva H, Baldi I, Barberger-Gateau P, et al. Health and aging in elderly farmers: the AMI cohort. *BMC Public Health*. 2012;12(1):558.
28. The 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(6):316-25.
29. American Psychiatric Association. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders: DSM-IV*. Washington DC: American Psychiatric Association. 1994.
30. Patenaude B, Smith SM, Kennedy DN, Jenkinson M. A Bayesian model of shape and appearance for subcortical brain segmentation. *Neuroimage*. 2011;56(3):907-22.
31. Smith SM, Jenkinson M, Johansen-Berg H, Rueckert D, Nichols TE, Mackay CE, et al. Tract-based spatial statistics: voxelwise analysis of multi-subject diffusion data. *Neuroimage*. 2006;31(4):1487-505.
32. Commenges D, Letenneur L, Joly P, Alioum A, Dartigues J-F. Modelling age-specific risk: application to dementia. *Statistics in Medicine*. 1998;17(17):1973-88.
33. Prasad KM, Watson AMM, Dickerson FB, Yolken RH, Nimgaonkar VL. Exposure to herpes simplex virus type 1 and cognitive impairments in individuals with schizophrenia. *Schizophr Bull*. 2012;38(6):1137-48.
34. Whitford TJ, Wood SJ, Yung A, Cocchi L, Berger G, Shenton ME, et al. Structural abnormalities in the cuneus associated with Herpes Simplex Virus (type 1) infection in people at ultra high risk of developing psychosis. *Schizophr Res*. 2012;135(1-3):175-80.
35. Prasad KM, Eack SM, Goradia D, Pancholi KM, Keshavan MS, Yolken RH, et al. Progressive gray matter loss and changes in cognitive functioning associated with exposure to herpes simplex virus 1 in schizophrenia: a longitudinal study. *Am J Psychiatry*. 2011;168(8):822-30.

Herpes simplex virus and Alzheimer's disease

36. Grydeland H, Walhovd KB, Westlye LT, Due-Tønnessen P, Ormaasen V, Sundseth Ø, et al. Amnesia following herpes simplex encephalitis: diffusion-tensor imaging uncovers reduced integrity of normal-appearing white matter. *Radiology*. 2010;257(3):774-81.
37. Wheeler-Kingshott CAM, Cercignani M. About « axial » and « radial » diffusivities. *Magn Reson Med*. 2009;61(5):1255-60.
38. Mott KR, Zandian M, Allen SJ, Ghiasi H. Role of Interleukin-2 and Herpes Simplex Virus 1 in Central Nervous System Demyelination in Mice. *Journal of Virology*. 2013;87(22):12102-9.
39. Osorio Y, La Point SF, Nusinowitz S, Hofman FM, Ghiasi H. CD8+-dependent CNS demyelination following ocular infection of mice with a recombinant HSV-1 expressing murine IL-2. *Exp Neurol*. 2005;193(1):1-18.
40. Lövheim H, Norman T, Weidung B, Olsson J, Josefsson M, Adolfsson R, et al. Herpes Simplex Virus, APOE ϵ 4, and Cognitive Decline in Old Age: Results from the Betula Cohort Study. *Journal of Alzheimer's Disease*. 2019;67(1):211-20.
41. Lövheim H, Gilthorpe J, Adolfsson R, Nilsson L-G, Elgh F. Reactivated herpes simplex infection increases the risk of Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia*. 2015;11(6):593-9.
42. Letenneur L, Pérès K, Fleury H, Garrigue I, Barberger-Gateau P, Helmer C, et al. Seropositivity to Herpes Simplex Virus Antibodies and Risk of Alzheimer's Disease: A Population-Based Cohort Study. *PLoS ONE*. 2008;3(11):e3637.
43. Williams OA, An Y, Beason-Held L, Huo Y, Ferrucci L, Landman BA, et al. Vascular burden and APOE ϵ 4 are associated with white matter microstructural decline in cognitively normal older adults. *NeuroImage*. 2019;188:572-83.
44. Lopatko Lindman K, Weidung B, Olsson J, Josefsson M, Kok E, Johansson A, et al. A genetic signature including apolipoprotein E ϵ 4 potentiates the risk of herpes simplex-associated

Herpes simplex virus and Alzheimer's disease

- Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia: Translational Research & Clinical Interventions*. 2019;5:697-704.
45. Beffert U. HSV-1 in brain and risk of Alzheimer's disease. *The Lancet*. 1998;351.
 46. Itabashi S, Arai H, Matsui T, Higuchi S, Sasaki H. Herpes simplex virus and risk of Alzheimer's disease. *The lancet*. 1997;349(9058):1102.
 47. Itzhaki RF, Lin W-R, Shang D, Wilcock GK, Faragher B, Jamieson GA. Herpes simplex virus type 1 in brain and risk of Alzheimer's disease. *The Lancet*. 1997;349(9047):241-4.
 48. Lin W-R, Shang D, Wilcock GK, Itzhaki RF. Alzheimer's disease, herpes simplex virus type 1, cold sores and apolipoprotein E4. Portland Press Limited; 1995.
 49. Burgos JS, Ramirez C, Sastre I, Valdivieso F. Effect of Apolipoprotein E on the Cerebral Load of Latent Herpes Simplex Virus Type 1 DNA. *Journal of Virology*. 2006;80(11):5383-7.
 50. Burgos JS, Ramirez C, Sastre I, Bullido MJ, Valdivieso F. ApoE4 is more efficient than E3 in brain access by herpes simplex virus type. *Genetics of nervous system disease*. 2003;14(14):3.
 51. Guzman-Sanchez F, Valdivieso F, Burgos JS. Aging-Related Neurostructural, Neuropathological, and Behavioral Changes Associated with Herpes Simplex Virus Type 1 Brain Infection in Mice. *Journal of Alzheimer's Disease*. 2012;30(4):779-90.
 52. Urosevic N, Martins RN. Infection and Alzheimer's Disease: The APOE ϵ 4 Connection and Lipid Metabolism. Miklossy J, Martins RN, éditeurs. *Journal of Alzheimer's Disease*. 2008;13(4):421-35.
 53. Koelle DM, Magaret A, Warren T, Schellenberg GD, Wald A. APOE genotype is associated with oral herpetic lesions but not genital or oral herpes simplex virus shedding. *Sexually Transmitted Infections*. 2010;86(3):202-6.

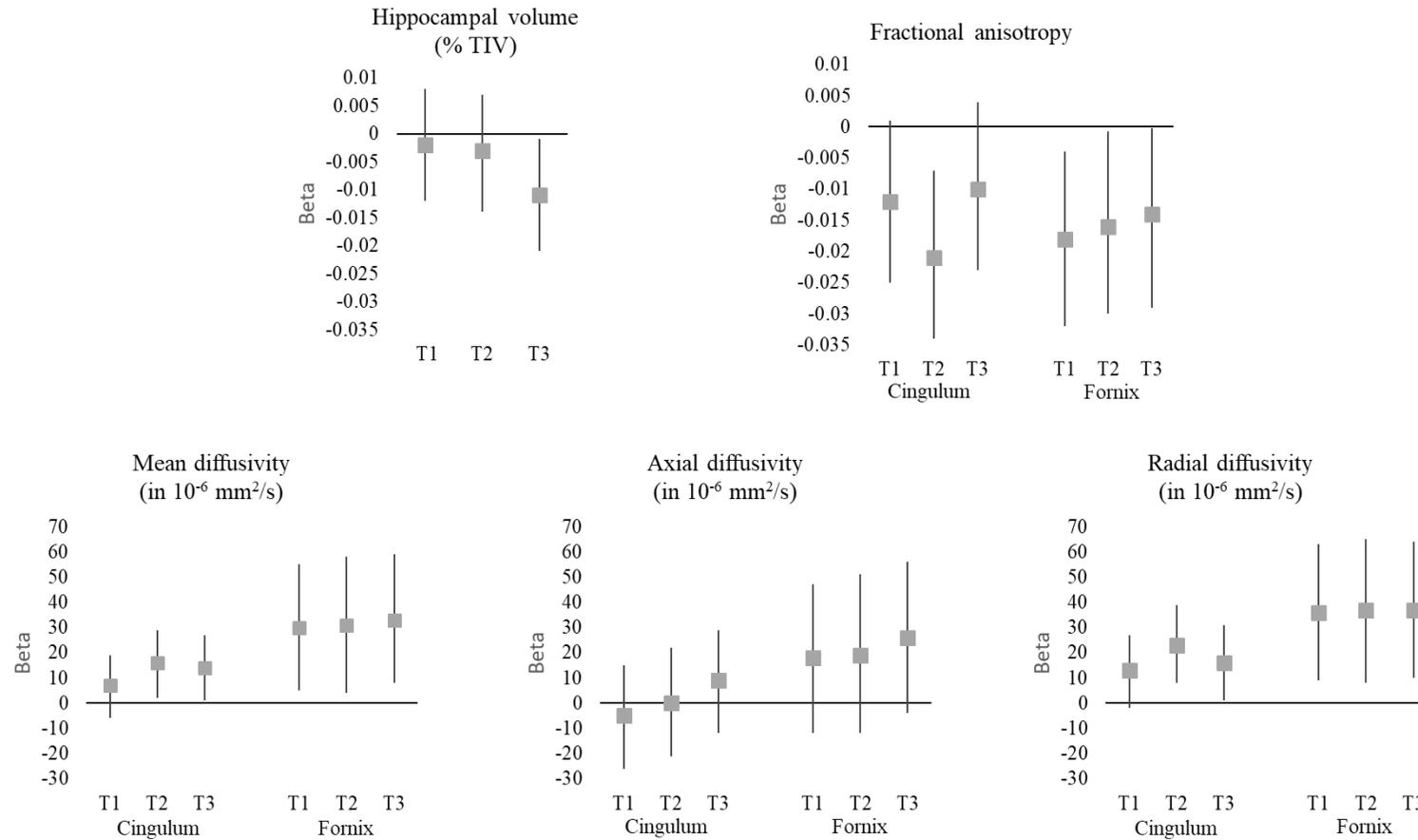
Herpes simplex virus and Alzheimer's disease

54. Itzhaki RF, Wozniak MA. Herpes Simplex Virus Type 1 in Alzheimer's Disease: The Enemy Within. *Journal of Alzheimer's Disease*. 2008;13.

Figure legends

Herpes simplex virus and Alzheimer's disease

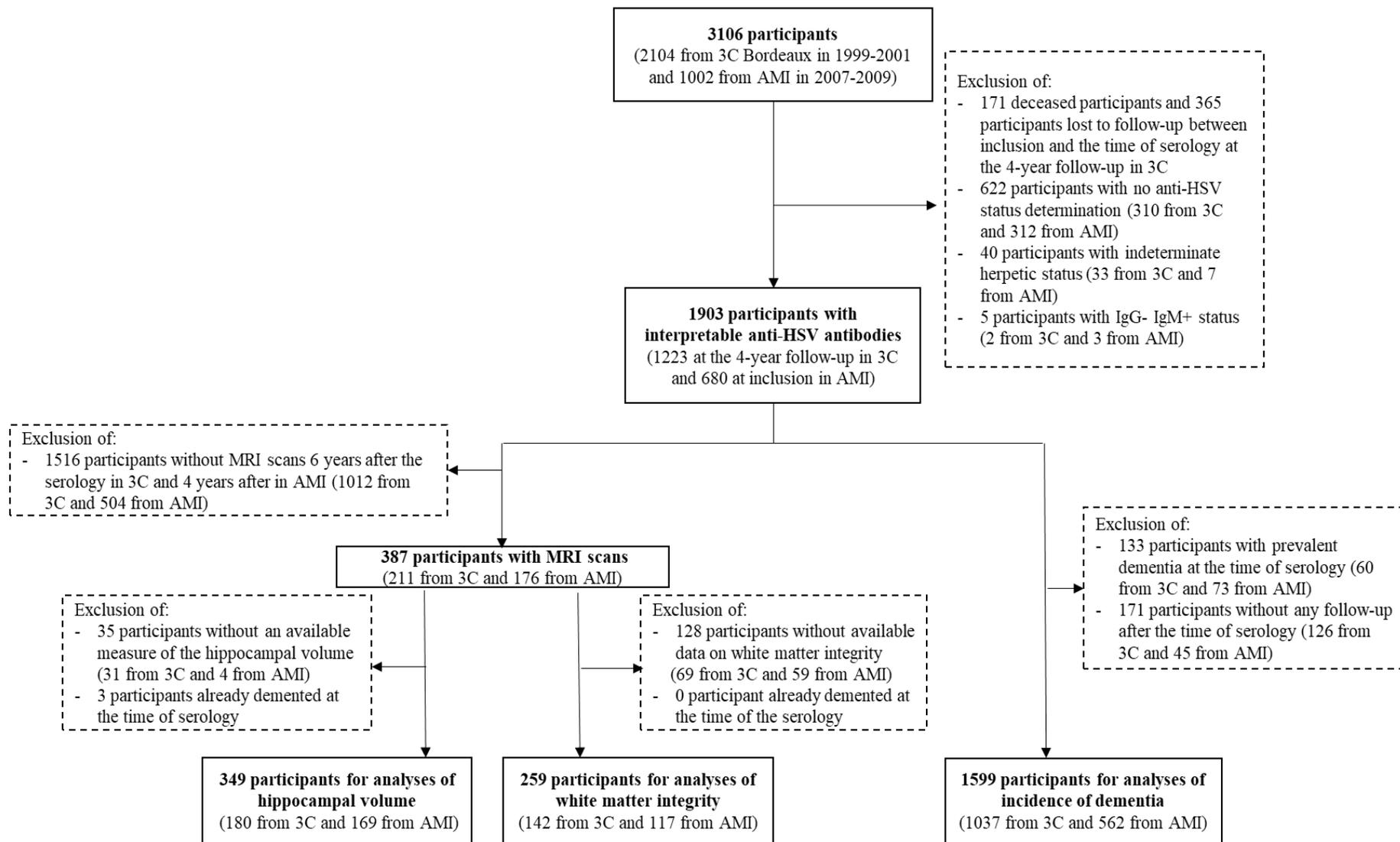
Figure 1: Association between the levels of anti-HSV IgG in tertiles and hippocampal volume or white matter integrity. Adjusted linear regression models. 3C and AMI cohorts.



Abbreviations: T1 T2 T3: 1st, 2nd and 3rd tertiles of anti-HSV IgG, TIV: total intracranial volume, fornix and cingulum: parahippocampal fornix and cingulum

The bars show the regression coefficients with their 95% confidence interval (reference: uninfected subjects). Linear regression models are adjusted for age at serology, sex, level of education, presence of at least one allele of APOE4, hypertension, diabetes and cohort.

Supplementary Figure 1: Flow chart of participants



Abbreviations: 3C= Three-City cohort, AMI= Aging Multidisciplinary Investigation cohort, HSV=herpes simplex virus, MRI= magnetic resonance imaging

Table*Table 1: Characteristics of participants included in analyses on hippocampal volume, white matter integrity and incidence of AD. 3C and AMI cohorts.*

		Sample for hippocampal volume analyses (N=349) N (%)	Sample for white matter integrity analyses (N=259) N (%)	Sample for incidence of AD analyses (N=1599) N (%)
Age	Mean (standard deviation)	74.1 (4.5)	73.9 (4.3)	76.7 (5.3)
	Minimum / Maximum	65.9 / 85.3	65.9 / 85.0	65.7 / 96.1
Sex	Male	163 (46.7)	119 (45.9)	716 (44.8)
Level of education	Elementary school without diploma	70 (20.1)	51 (19.7)	361 (22.6)
	Short secondary school	165 (47.3)	118 (45.6)	787 (49.2)
	Higher levels	114 (32.7)	90 (34.7)	451 (28.2)
Marital status ¹	Married	232 (66.7)	174 (67.2)	934 (58.5)
	Widowed	79 (22.7)	57 (22.0)	470 (29.4)
	Single or divorced or separate	37 (10.6)	28 (10.8)	192 (12.0)
APOE4 ¹	At least one allele	69 (20.8)	51 (20.9)	271 (17.5)
Hypertension ^{1,2}	Presence	258 (74.1)	186 (72.1)	1266 (79.3)
Diabetes ^{1,2}	Presence	26 (7.4)	17 (6.6)	199 (12.5)
Hypercholesterolemia ^{1,2}	Presence	204 (58.5)	155 (59.8)	933 (58.4)
Tobacco consumption ¹	Former or current smoker	121 (34.7)	91 (35.1)	555 (34.8)
Anti-HSV IgG	Positive	281 (80.5)	206 (79.5)	1327 (83.0)
Anti-HSV IgM	Positive	11 (3.2)	9 (3.5)	61 (3.8)

Abbreviations: AD Alzheimer's disease

¹ The number of missing data were 1, 0 and 3 for marital status, 18, 15 and 54 for APOE4, 1, 1 and 3 for hypertension, 0, 0 and 8 for diabetes, 0, 0 and 1 for hypercholesterolemia and 0, 0 and 6 for tobacco consumption for the samples used for hippocampal volume analyses, white matter integrity analyses and incidence of Alzheimer's disease analyses respectively.

² Hypertension was defined as taking antihypertensive treatment or having blood pressure $\geq 140/90$ mmHg (vs blood pressure $<140/90$ mmHg without antihypertensive treatment). Diabetes was defined as taking anti-diabetic treatment or having fasting blood sugar ≥ 7 mmol/L or ≥ 11 in case of non-fasting blood sugar (vs fasting blood sugar < 7 mmol/L or <6.1 in case of non-fasting blood sugar and without anti-diabetic treatment). Hypercholesterolemia was defined as taking lipid-lowering treatment or having cholesterol level ≥ 6.2 mmol/L (vs cholesterol level <6.2 mmol/L without lipid-lowering treatment).

Table 2: Hippocampal volume and white matter integrity of the parahippocampal cingulum and fornix. 3C and AMI cohorts.

	Mean (SD)	Total Minimum / Maximum
Hippocampal and total intracranial volumes (n=349)		
Total intracranial volume in cm ³	1329.3 (127.4)	1054.9 / 1758.7
Mean hippocampal volume in cm ³	3.27 (0.45)	2.05 / 4.35
Hippocampal volume (% TIV)	0.25 (0.03)	0.15 / 0.32
DTI parameters (n=259)		
Parahippocampal cingulum		
Fractional anisotropy	0.45 (0.04)	0.34 / 0.56
Mean diffusivity (in 10 ⁻⁶ mm ² /s)	772.3 (39.8)	687.3 / 896.2
Axial diffusivity (in 10 ⁻⁶ mm ² /s)	1207.6 (60.7)	1039.7 / 1367.6
Radial diffusivity (in 10 ⁻⁶ mm ² /s)	554.6 (42.7)	453.5 / 684.7
Parahippocampal fornix		
Fractional anisotropy	0.52 (0.04)	0.40 / 0.62
Mean diffusivity (in 10 ⁻⁶ mm ² /s)	808.9 (69.1)	701.3 / 1148.4
Axial diffusivity (in 10 ⁻⁶ mm ² /s)	1305.5 (81.7)	1144.1 / 1625.5
Radial diffusivity (in 10 ⁻⁶ mm ² /s)	560.7 (72.2)	430.9 / 939.6

Abbreviations: TIV total intracranial volume; SD standard deviation; DTI diffusion tensor imaging

Table 3: Association between the presence of anti-HSV IgG and hippocampal volume or white matter integrity. Adjusted linear regression models. 3C and AMI cohorts.

	Numbers of IgG negative / positive subjects	All subjects n=330 or 243 ^{1,2}				Interaction with APOE4 (p-value)	APOE4-positive subjects n=69 or 51 ^{1,3}				APOE4-negative subjects n=262 or 193 ^{1,3}			
		β	SD	p-value			β	SD	p-value		β	SD	p-value	
Hippocampal volume (% TIV)	62/268	-0.006	0.004	0.19	0.15	14/55	-0.016	0.009	0.09	48/214	-0.002	0.005	0.71	
Parahippocampal cingulum	47/196					11/40				36/157				
Fractional anisotropy		-0.014	0.006	0.02	0.64		-0.014	0.014	0.30		-0.012	0.006	0.05	
Mean diffusivity (in 10 ⁻⁶ mm ² /s)		12	6	0.04	0.65		11	12	0.36		10	6	0.09	
Axial diffusivity (in 10 ⁻⁶ mm ² /s)		1	9	0.89	0.73		4	19	0.83		-1	10	0.91	
Radial diffusivity (in 10 ⁻⁶ mm ² /s)		17	6	0.009	0.72		15	15	0.32		15	7	0.01	
Parahippocampal fornix	47/196					11/40				36/157				
Fractional anisotropy		-0.016	0.006	0.009	0.33		-0.025	0.014	0.07		-0.013	0.007	0.06	
Mean diffusivity (in 10 ⁻⁶ mm ² /s)		31	11	0.005	0.62		36	19	0.07		25	13	0.006	
Axial diffusivity (in 10 ⁻⁶ mm ² /s)		21	13	0.11	0.98		16	24	0.50		16	15	0.28	
Radial diffusivity (in 10 ⁻⁶ mm ² /s)		37	12	0.002	0.49		46	22	0.04		30	13	0.03	

Abbreviations: TIV total intracranial volume, SD standard deviation

¹ Number of subjects included in the analysis of hippocampal volume and white matter integrity, respectively (19 and 16 subjects had missing data for APOE4 or hypertension).

² Adjusted for age at serology, sex, level of education, presence of at least one allele of APOE4, hypertension, diabetes and cohort

³ Adjusted for age at serology, sex and cohort

Table 4: Association between HSV status and the incidence of Alzheimer's disease – Adjusted Cox models. 3C and AMI cohorts.

	All subjects ¹ (n=1528 including 212 cases or n=1269 including 181 cases) ³				APOE4-positive subjects ² (n=271 including 54 cases or n=222 including 49 cases) ⁴			APOE4-negative subjects ² (n=1274 including 161 cases or n=1062 including 135 cases) ⁴		
	aHR	95% CI	p-value	Interaction with APOE4 (p-value)	aHR	95% CI	p-value	aHR	95% CI	p-value
Anti-HSV IgG + (vs -)	1.19	0.81- 1.77	0.38	0.05	2.72	1.07-6.91	0.04	0.92	0.60- 1.42	0.72
IgG levels in terciles (in all subjects)⁵			0.37	0.12			0.02			0.98
1st tercile (vs negative IgG)	0.99	0.62-1.59	0.98		1.70	0.57-5.05	0.34	0.89	0.53-1.49	0.66
2nd tercile (vs negative IgG)	1.21	0.76-1.92	0.42		2.41	0.85-6.81	0.10	0.93	0.55-1.56	0.78
3rd tercile (vs negative IgG)	1.32	0.87-2.03	0.20		3.87	1.45-10.28	0.007	0.94	0.58-1.51	0.79
IgG levels in terciles (in IgG+ subjects)⁵			0.29	0.42			0.08			0.95
2nd tercile (vs 1st tercile)	1.22	0.81-1.84	0.35		1.43	0.63-3.25	0.40	1.05	0.66-1.69	0.84
3rd tercile (vs 1st tercile)	1.35	0.93-1.97	0.12		2.30	1.08-4.91	0.03	1.07	0.70-1.64	0.75

Abbreviations: aHR = adjusted hazard ratio, 95% CI = 95% confidence interval

¹ Adjusted for sex, level of education, marital status, presence of at least one allele of APOE4, hypertension, diabetes, hypercholesterolemia, tobacco use and cohort.

² Adjusted for sex, level of education and cohort.

³ Number of subjects for analysis in the whole sample or in the subsample of IgG+ subjects, respectively. Among them, 71 and 58 participants had missing data for the adjustment variables, respectively including 54 and 43 participants with missing data for APOE4.

⁴ Number of subjects for analysis in the whole sample or in the subsample of IgG+ subjects, respectively.

⁵ IgG levels in the 1st tercile were <17.7, in the 2nd tercile were ≥17.7 and <27.9 and in the 3rd tercile were ≥27.9.

Supplementary Table 1: Characteristics of participants included in analysis on incidence of AD according to IgG status. 3C and AMI cohorts.

		Sample for incidence of AD analyses (N=1599) N (%)	IgG - (N=272) N (%)	IgG + (N=1327) N (%)
Age	Mean (standard deviation)	76.7 (5.3)	76.2 (5.1)	76.8 (5.4)
	Minimum / Maximum	65.7 / 96.1	66.0 / 96.1	65.7 / 92.2
Sex	Male	716 (44.8)	138 (50.7)	578 (43.6)
Level of education	Elementary school without diploma	361 (22.6)	33 (12.1)	328 (24.7)
	Short secondary school	787 (49.2)	124 (45.6)	663 (50.0)
	Higher levels	451 (28.2)	115 (42.3)	336 (25.3)
Marital status ¹	Married	934 (58.5)	182 (66.9)	752 (56.8)
	Widowed	470 (29.4)	61 (22.4)	409 (30.9)
	Single or divorced or separate	192 (12.0)	29 (10.7)	163 (12.3)
APOE4 ¹	At least one allele	271 (17.5)	49 (18.8)	222 (17.3)
Hypertension ^{1,2}	Presence	1266 (79.3)	209 (76.8)	1057 (79.8)
Diabetes ^{1,2}	Presence	199 (12.5)	32 (11.9)	167 (12.6)
Hypercholesterolemia ^{1,2}	Presence	933 (58.4)	158 (58.1)	775 (58.4)
Tobacco consumption ¹	Former or current smoker	555 (34.8)	111 (40.8)	444 (33.6)

Abbreviations: AD Alzheimer's disease

¹ The number of missing data were 3 for marital status, 54 for APOE4, 3 for hypertension, 8 for diabetes, 1 for hypercholesterolemia and 6 for tobacco consumption.

² Hypertension was defined as taking antihypertensive treatment or having blood pressure $\geq 140/90$ mmHg (vs blood pressure $<140/90$ mmHg without antihypertensive treatment). Diabetes was defined as taking anti-diabetic treatment or having fasting blood sugar ≥ 7 mmol/L or ≥ 11 in case of non-fasting blood sugar (vs fasting blood sugar < 7 mmol/L or <6.1 in case of non-fasting blood sugar and without anti-diabetic treatment). Hypercholesterolemia was defined as taking lipid-lowering treatment or having cholesterol level ≥ 6.2 mmol/L (vs cholesterol level <6.2 mmol/L without lipid-lowering treatment).

Supplementary Information

Regarding HSV serologies, we followed the threshold recommendations of the manufacturer: i) an index value ≥ 1.10 was considered as the presence of anti-HSV IgG (or IgM), ii) an index value < 0.9 was considered as the absence of anti-HSV IgG (or IgM), and iii) no conclusions could be drawn on samples with an index value between 0.9 and 1.10. For the latter, if the index value remained inconclusive after a second test, the corresponding samples were excluded from analysis (n=40).

MRI scans were performed using an ACHIEVA 3T scanner (Philips Medical System, Netherlands) with a SENSE 8-channel head coil. Anatomical high-resolution MRI volumes were acquired in the transverse plane using a 3D MPRAGE T1-weighted sequence with the following parameters: TR=8.2 ms, TE=3.5 ms, 7-degree flip angle, FOV 256x256 mm², 180 slices, no gap and voxel size of 1 mm³. Two diffusion-weighted images with opposite polarities were performed using a spin echo single shot EPI sequence with the following parameters: TR=9700ms in 3C and 6770 ms in AMI, TE=60 ms, 90-degree flip angle, FOV 224x224 mm², 60 slices, no gap and voxel size of 2 mm³. One b0 image was acquired, and diffusion gradients were applied in 21 noncollinear directions (b-value=1000 s/mm²). To increase the signal-to-noise ratio, the sequence was repeated in two successive runs for each polarity. All acquisitions were aligned on the anterior commissure-posterior commissure plane (AC-PC).

3.1.2 Résultats complémentaires

3.1.2.1 Sérologies herpétiques et déclarations de symptômes de type herpès

Des sérologies herpétiques étaient disponibles à différents temps (mais avec des kits de prélèvements parfois différents comme expliqué dans la partie méthodes) : i) à l'inclusion dans 3C Bordeaux, ii) à 4 ans de suivi dans 3C-Bordeaux et iii) à l'inclusion dans AMI. Les résultats descriptifs de ces sérologies sont disponibles dans le Tableau 17.

Tableau 17 : Sérologies disponibles dans 3C Bordeaux et AMI

	3C-Bordeaux Inclusion n=1834	3C-Bordeaux 4 ans n=1258	AMI Inclusion n=690
Présence d'IgG anti-HSV	1503 (81,95%)	1020 (81,08%)	585 (84,78%)
Présence d'IgM anti-HSV	44 (2,40%)	55 (4,37%)	20 (2,90%)
dont IgG+ IgM+	42 (2,29%)	53 (4,21%)	17 (2,46%)

La prévalence de sujets infectés était stable et concordante à celle décrite dans la littérature (90). A l'inverse, la prévalence de sujets IgM+ était relativement faible par rapport à la proportion de sujets chez qui on attendrait une réactivation dans les semaines précédentes. En effet, selon l'étude de Miller (117), 70% des sujets excréteraient du virus HSV-1 au moins une fois par mois. Ceci reflète le fait que, lors d'une réactivation, il n'y a pas systématiquement une synthèse d'IgM. Une meilleure compréhension des liens entre production d'IgM et réactivations virales serait nécessaire pour mieux appréhender la signification de ce marqueur sérologique.

Parmi les sujets de 3C-Bordeaux, 1213 ont eu une sérologie à la fois à l'inclusion et à 4 ans de suivi :

- 26 sujets (2,1%) sont devenus IgG+ (reflet d'une potentielle primo-infection ou de faux négatifs ou positifs) tandis que 15 sujets (1,2%) sont devenus IgG- (faux négatifs ou positifs).
- 22 sujets étaient IgM+ (1,8%) à l'inclusion versus 53 (4,4%) à 4 ans, reflétant potentiellement une augmentation des réactivations avec l'âge ou une différence liée aux conditions de mesure.
- 63 sujets (5,2%) étaient IgM+ à au moins un des deux temps.

- De plus, parmi les 22 sujets IgM+ à l'inclusion, 12 sont également IgM+ à 4 ans soit 55%. Ainsi, il semble que le dosage ponctuel des IgM identifie tout de même une partie des sujets ayant tendance à réactiver plus fréquemment que les autres.
- Enfin, parmi les 287 sujets ayant eu 2 prélèvements avec le *même* kit de détection (permettant ainsi de comparer les taux d'IgG), le taux d'IgG avait tendance à augmenter entre les deux prélèvements avec notamment 19,7% des sujets ayant un taux d'IgG supérieur à la limite de quantification à l'inclusion versus 38,3% à 4 ans. Ces éléments semblent en faveur des données présentées par Stowe et al. et montrant une augmentation du taux d'IgG anti-HSV avec l'âge³² (129).

Les participants étaient également interrogés sur l'existence d'une symptomatologie herpétique (sans que le type de symptômes ne soit précisé) à l'inclusion dans les deux cohortes (Tableau 18). Le taux de sujets déclarant des réactivations symptomatiques est cohérent avec celui rapporté dans la littérature.

Tableau 18 : Déclaration de symptômes herpétiques dans les cohortes 3C Bordeaux et AMI

	3C-Bordeaux Inclusion n=1824	AMI Inclusion n=890
Déclaration de symptômes à type d'herpès dont sujets IgG+	312 (17,01%) 302 (16,47%)	210 (23,60%) 157 (17,64%)
Déclaration de symptômes		
au moins une fois dans la vie	153 (8,39%)	84 (9,44%)
au moins une fois par an	139 (7,62%)	103 (11,57%)
au moins une fois par mois	8 (0,44%)	13 (1,46%)

A noter que, lors de la réalisation de modèles de Cox similaires à ceux présenter dans l'article 1, le fait de déclarer des symptômes à type d'herpès à l'inclusion n'était pas associé à un risque augmenté de démence (HRa=0,93 [0,64-1,34], p-value=0,69 chez 820 sujets IgG+ à S2). L'interaction avec APOE4 n'était pas significative et il n'existait pas non plus d'association significative lors des analyses stratifiées sur le statut APOE4.

³² A noter que, dans l'article de Stowe, cette augmentation n'était retrouvée que chez les sujets co-infectés par le CMV.

3.1.2.2 Facteurs associés au statut sérologique et à la déclaration de symptômes

Les facteurs associés au statut sérologique ont été étudiés à partir des sérologies à 4 ans dans 3C Bordeaux³³ et ceux associés à la déclaration de symptômes à partir des données à l'inclusion dans 3C Bordeaux.

Le **statut IgG+** était significativement associé au fait d'être plus âgé, au sexe féminin, à un faible niveau d'éducation, au statut marital (divorcé/séparé ou veuf), à l'obésité et de manière quasi-significative au fait de ne pas être fumeur ($p=0,07$) (Tableau 19).

Chez les sujets infectés, le **statut IgM+** était associé uniquement au sexe féminin et au fait de ne pas avoir fumé (Tableau 20). A noter que la présence d'IgM n'était pas significativement associée au taux d'IgG ni à la déclaration à l'inclusion de symptômes herpétiques.

Chez les sujets infectés, un **taux élevé d'IgG** (dans le dernier tercile) n'était associé à aucune des variables étudiées (Tableau 21). A noter qu'un taux élevé d'IgG à 4 ans était néanmoins associé (à la limite de la significativité $p=0,06$) au fait de déclarer des symptômes à type d'herpès à l'inclusion.

Le fait de **déclarer à l'inclusion avoir déjà eu des symptômes herpétiques** était associé uniquement au fait de ne fumer (Tableau 22). A noter que, contrairement aux données publiées dans la littérature, on ne retrouvait pas d'association avec le statut APOE4. Néanmoins, un biais de mémorisation touchant plus particulièrement les sujets APOE4 plus à risque de déclin cognitif ne peut être écarté et pourrait expliquer une moindre déclaration de symptômes chez ces sujets.

³³ Ceci pour différentes raisons : i) Les sérologies à 4 ans ont été préférées à celles à l'inclusion car 1) possibilité d'étudier les taux d'IgG et 2) plus grand nombre de sujets IgM+. ii) Les analyses n'ont pas été réalisées en combinant les deux cohortes car les variables étudiées n'étaient pas parfaitement identiques. Les sérologies 3C ont alors été préférées car plus nombreuses.

Tableau 19 : Facteurs associés au statut IgG. Analyses univariées dans la cohorte Trois Cités Bordeaux à 4 ans.

		Total (N=1249)	IgG- (N=229)	IgG+ (N=1020)	
		N (%)	N (%)	N (%)	p-value
Age	Moyenne (écart-type)	78,1 (4,9)	77,4 (4,7)	78,3 (4,9)	0,01
Sexe	Homme	459 (36,7)	101 (44,1)	358 (35,1)	0,01
Niveau d'études	Pas de scolarité ou niveau primaire non validé	129 (10,4)	7 (3,1)	122 (12,0)	< 0,0001
	Niveau primaire validé	291 (23,4)	35 (15,3)	256 (25,2)	
	Niveau secondaire court	329 (26,4)	57 (24,9)	272 (26,7)	
	Niveau secondaire long	265 (21,3)	62 (27,1)	203 (20,0)	
	Enseignement supérieur	232 (18,6)	68 (29,7)	164 (16,1)	
Situation familiale	Marié(e)	625 (50,2)	140 (61,4)	485 (47,7)	< 0,0001
	Divorcé(e) ou séparé(e)	97 (7,8)	10 (4,4)	87 (8,6)	
	Veuf(ve)	436 (35,0)	56 (24,6)	380 (37,4)	
	Célibataire	86 (6,9)	22 (9,6)	64 (6,3)	
APOE4	Au moins un allèle	237 (19,2)	48 (21,2)	189 (18,8)	0,39
Hypertension	Oui	930 (75,1)	166 (73,1)	764 (75,5)	0,46
Diabète	Oui	133 (10,7)	22 (9,7)	111 (10,9)	0,58
Hypercholestérolémie	Oui	422 (34,2)	74 (32,9)	348 (34,5)	0,65
Indice de masse corporelle (kg/m ²)	Poids normal (IMC < 25)	466 (37,9)	98 (43,2)	368 (36,7)	0,03
	Surpoids (25 ≤ IMC < 30)	551 (44,8)	102 (44,9)	449 (44,7)	
	Obésité (IMC ≥ 30)	214 (17,4)	27 (11,9)	187 (18,6)	
Tabagisme	N'a jamais fumé	809 (64,8)	134 (58,5)	675 (66,2)	0,07
	Ex-fumeur	374 (30,0)	83 (36,2)	291 (28,6)	
	Fume actuellement	65 (5,2)	12 (5,2)	53 (5,2)	

Tableau 20 : Facteurs associés au statut IgM chez les infectés. Analyses univariées dans la cohorte Trois Cités Bordeaux à 4 ans.

		Total (N=997) N (%)	IgM- (N=944) N (%)	IgM+ (N=53) N (%)	p-value
Age	Moyenne (écart-type)	78,3 (4,9)	78,3 (4,9)	78,9 (5,1)	0,38
Sexe	Homme	352 (35,3)	343 (36,3)	9 (17,0)	0,004
Niveau d'études	Pas de scolarité ou niveau primaire non validé	120 (12,1)	115 (12,2)	5 (9,4)	0,50
	Niveau primaire validé	249 (25,0)	237 (25,2)	12 (22,6)	
	Niveau secondaire court	268 (26,9)	253 (26,9)	15 (28,3)	
	Niveau secondaire long	197 (19,8)	182 (19,3)	15 (28,3)	
	Enseignement supérieur	161 (16,2)	155 (16,5)	6 (11,3)	
Situation familiale	Marié(e)	476 (47,9)	454 (48,3)	22 (41,5)	0,18
	Divorcé(e) ou séparé(e)	85 (8,6)	82 (8,7)	3 (5,7)	
	Veuf(ve)	369 (37,2)	348 (37,0)	21 (39,6)	
	Célibataire	63 (6,3)	56 (6,0)	7 (13,2)	
APOE4	Au moins un allèle	185 (18,8)	174 (18,7)	11 (20,8)	0,71
Hypertension	Oui	747 (75,5)	707 (75,4)	40 (76,9)	0,80
Diabète	Oui	109 (11,0)	104 (11,1)	5 (9,6)	0,74
Hypercholestérolémie	Oui	341 (34,6)	321 (34,4)	20 (37,7)	0,62
Indice de masse corporelle (kg/m ²)	Poids normal (IMC < 25)	361 (36,8)	338 (36,3)	23 (45,1)	0,44
	Surpoids (25 ≤ IMC < 30)	435 (44,3)	416 (44,7)	19 (37,3)	
	Obésité (IMC ≥ 30)	185 (18,9)	176 (18,9)	9 (17,6)	
Tabagisme	N'a jamais fumé	657 (66,0)	612 (64,9)	45 (84,9)	0,002
	Ex-fumeur	287 (28,8)	282 (29,9)	5 (9,4)	
	Fume actuellement	52 (5,2)	49 (5,2)	3 (5,7)	
Maladie aiguë ou stress psychologique lors des 3 derniers mois	Oui	209 (21,2)	198 (21,2)	11 (20,8)	0,94
Antécédent de traumatisme crânien avec perte de connaissance	Oui	42 (4,2)	41 (4,4)	1 (1,9)	0,72

Tableau 21 : Facteurs associés au taux d'IgG chez les infectés. Analyses univariées dans la cohorte Trois Cités Bordeaux à 4 ans.

		Total (N=1020) N (%)	1^{er} tercile (N=304) N (%)	2^{ème} tercile (N=265) N (%)	3^{ème} tercile (N=451) N (%)	p- valu e
Age	<= 74 ans	236 (23,2)	78 (25,7)	54 (20,5)	104 (23,1)	0,83
]74 ans -77 ans]	221 (21,7)	66 (21,7)	62 (23,5)	93 (20,7)	
]77 ans -81 ans]	254 (25,0)	74 (24,3)	67 (25,4)	113 (25,1)	
	>81 ans	307 (30,2)	86 (28,3)	81 (30,7)	140 (31,1)	
Sexe	Homme	358 (35,1)	105 (34,5)	97 (36,6)	156 (34,6)	0,84
Niveau d'études	Pas de scolarité ou niveau primaire non validé	122 (12,0)	28 (9,2)	34 (12,8)	60 (13,4)	0,11
	Niveau primaire validé	256 (25,2)	72 (23,8)	61 (23,0)	123 (27,4)	
	Niveau secondaire court	272 (26,7)	73 (24,1)	82 (30,9)	117 (26,1)	
	Niveau secondaire long	203 (20,0)	74 (24,4)	50 (18,9)	79 (17,6)	
	Enseignement supérieur	164 (16,1)	56 (18,5)	38 (14,3)	70 (15,6)	
Situation familiale	Marié(e)	485 (47,7)	153 (50,3)	119 (45,2)	213 (47,4)	0,28
	Divorcé(e) ou séparé(e)	87 (8,6)	29 (9,5)	18 (6,8)	40 (8,9)	
	Veuf(ve)	380 (37,4)	99 (32,6)	107 (40,7)	174 (38,8)	
	Célibataire	64 (6,3)	23 (7,6)	19 (7,2)	22 (4,9)	
APOE4	Au moins un allèle	189 (18,8)	57 (19,1)	49 (18,6)	83 (18,6)	0,98
Hypertension	Oui	764 (75,5)	226 (74,6)	204 (78,5)	334 (74,4)	0,43
Diabète	Oui	111 (10,9)	35 (11,6)	34 (12,9)	42 (9,4)	0,32
Hypercholestérolémie	Oui	348 (34,5)	106 (35,1)	93 (35,4)	149 (33,6)	0,86
Indice de masse corporelle (kg/m ²)	Poids normal (IMC < 25)	368 (36,7)	118 (39,1)	97 (37,0)	153 (34,8)	0,80
	Surpoids (25 ≤ IMC < 30)	449 (44,7)	132 (43,7)	115 (43,9)	202 (45,9)	
	Obésité (IMC ≥ 30)	187 (18,6)	52 (17,2)	50 (19,1)	85 (19,3)	
Tabagisme	N'a jamais fumé	675 (66,2)	191 (62,8)	183 (69,3)	301 (66,7)	0,11
	Ex-fumeur	291 (28,6)	89 (29,3)	70 (26,5)	132 (29,3)	
	Fume actuellement	53 (5,2)	24 (7,9)	11 (4,2)	18 (4,0)	
Maladie aiguë ou stress psychologique (3 derniers mois)	Oui	214 (21,2)	63 (20,9)	58 (22,0)	93 (20,9)	0,94
	Antécédent de traumatisme crânien avec perte de connaissance	42 (4,1)	13 (4,3)	14 (5,3)	15 (3,3)	

Tableau 22 : Facteurs associés à la déclaration de symptômes herpétiques. Analyses univariées dans la cohorte des Trois Cités à l'inclusion.

		Total (N=1495) N (%)	Asympto matiques (N=1193) N (%)	Symptomatiq ues (N=302) N (%)	p-value
Age	Moyenne (écart-type)	74,6 (5,1)	74,7 (5,1)	74,3 (4,8)	0,17
Sexe	Homme	564 (37,7)	460 (38,6)	104 (34,4)	0,19
Niveau d'études	Pas de scolarité ou niveau primaire non validé	201 (13,5)	158 (13,3)	43 (14,2)	0,15
	Niveau primaire validé	385 (25,8)	322 (27,0)	63 (20,9)	
	Niveau secondaire court	398 (26,6)	319 (26,8)	79 (26,2)	
	Niveau secondaire long	294 (19,7)	230 (19,3)	64 (21,2)	
Situation familiale	Enseignement supérieur	216 (14,5)	163 (13,7)	53 (17,5)	0,30
	Marié(e)	823 (55,1)	653 (54,7)	170 (56,3)	
	Divorcé(e) ou séparé(e)	127 (8,5)	95 (8,0)	32 (10,6)	
	Veuf(ve)	454 (30,4)	373 (31,3)	81 (26,8)	
Célibataire		91 (6,1)	72 (6,0)	19 (6,3)	
	APOE4	Au moins un allèle	285 (19,2)	224 (18,9)	61 (20,4)
Hypertension	Oui	1179 (78,9)	939 (78,7)	240 (79,5)	0,77
Diabète	Oui	218 (14,9)	176 (15,0)	42 (14,3)	0,76
Hypercholestérolémie	Oui	851 (57,0)	677 (56,8)	174 (57,6)	0,80
Indice de masse corporelle (kg/m ²)	Poids normal (IMC < 25)	563 (38,4)	432 (37,1)	131 (43,7)	0,11
	Surpoids (25 ≤ IMC < 30)	644 (44,0)	522 (44,8)	122 (40,7)	
	Obésité (IMC ≥ 30)	258 (17,6)	211 (18,1)	47 (15,7)	
Tabagisme	N'a jamais fumé	965 (64,6)	768 (64,4)	197 (65,2)	0,003
	Ex-fumeur	446 (29,9)	346 (29,0)	100 (33,1)	
	Fume actuellement	83 (5,6)	78 (6,5)	5 (1,7)	
Maladie aiguë ou stress psychologique (3 derniers mois)	Oui	296 (20,0)	241 (20,4)	55 (18,3)	0,40
Antécédent de traumatisme crânien avec perte de connaissance	Oui	72 (4,9)	59 (5,0)	13 (4,3)	0,63

3.2 Association entre l'infection à HSV-1 et l'accumulation de dépôts amyloïdes intracérébraux dans l'essai MAPT

3.2.1 Introduction

Comme détaillé précédemment (paragraphe 1.3.2.1), de nombreuses études plaident en faveur de l'implication du peptide amyloïde dans la réponse aux agressions du système nerveux central et, plus particulièrement, dans la défense antimicrobienne. Concernant le virus HSV-1, plusieurs études ont ainsi mis en évidence l'apparition de dépôts amyloïdes suite à l'inoculation du virus in vitro ou chez la souris (Tableau 8). Chez l'homme, une diminution des taux d'a β 1-42 dans le liquide cérébro-spinal était retrouvée chez des patients atteints de différentes infections cérébrales (dont l'encéphalite herpétique) par rapport à un groupe contrôle (215) et une diminution des taux d'a β plasmatiques 1-40 ou 1-42 était retrouvée chez les sujets suspectés d'avoir des réactivations plus fréquentes du virus HSV-1 (216). A contrario, aucune association entre statut sérologique HSV et charge amyloïde intracérébrale n'était retrouvée lors d'une étude sur des échantillons de cerveaux humains post-mortem (183) et aucune étude à ce jour n'a étudié son association à la charge amyloïde intracérébrale mesurée par TEP amyloïde.

Afin d'explorer plus avant le potentiel rôle du virus HSV-1 dans le développement de la maladie d'Alzheimer, nous avons ainsi tiré parti des données de TEP amyloïdes disponibles au sein de l'essai clinique MAPT pour tester une potentielle association avec le statut sérologique HSV-1. Nous avons fait l'hypothèse initiale que, parmi les sujets porteurs de l'allèle APOE4, les sujets infectés (et principalement ceux réactivant fréquemment) auraient une quantité de dépôts amyloïdes plus importante que les sujets non-infectés – reflet de la réaction immunitaire de l'hôte à l'encontre du virus.

3.2.2 Résultats

3.2.2.1 Caractéristiques de l'échantillon

Les caractéristiques des 183 sujets disposant à la fois d'une TEP amyloïde et d'une sérologie herpétique sont présentées dans le Tableau 23.

Il s'agissait de sujets âgés en moyenne de 74,7 ans, non déments et non dépendants à l'inclusion. La majorité des participants était des femmes (60%) et une part importante présentait un haut niveau d'études (46%). La proportion de sujets porteurs d'au moins un allèle APOE4 était de 26%.

Concernant le statut sérologique, 84,7% des sujets (n=155) présentaient des IgG anti-HSV-1 et 22,4% (n=41) présentaient des IgG anti-HSV-2. Parmi eux, 18,6% (n=34) des sujets étaient co-infectés. Seuls 3 sujets (1,6%) présentaient des IgM anti-HSV, reflet d'une possible réactivation du virus dans les semaines précédant la prise de sang ou d'une primo-infection.

Concernant la présence de dépôts amyloïdes intracérébraux, 42,6% (n=78) avaient un SUVr cortical $\geq 1,17$ (équivalent à une charge amyloïde compatible avec un diagnostic neuropathologique de maladie d'Alzheimer). La concordance avec les résultats obtenus par évaluation visuelle (vs semi-automatique) n'était pas parfaite car, parmi les 78 sujets avec un SUVr cortical $\geq 1,17$, seuls 55 sujets étaient considérés comme ayant des dépôts amyloïdes significatifs tandis que, parmi les 105 sujets avec un SUVr cortical $< 1,17$, 8 étaient considérés comme ayant des dépôts significatifs à l'analyse visuelle.

A noter que lors de la réalisation des TEP amyloïdes (délai moyen depuis l'inclusion de 18 mois), les fonctions cognitives et fonctionnelles des sujets semblaient encore bien préservées étant donné les scores au MMSE et à la CDR réalisés au plus près de la TEP.

Tableau 23: Caractéristiques des sujets issus de l'essai MAPT.

		Total (N=183) N (%)	SUVR cortical <1,17 (N=105) N (%)	SUVR cortical >=1,17 (N=78) N (%)
Age à l'inclusion (ans)	Min / Max	70,0 / 88,0	70,0 / 88,0	70,0 / 88,0
	Moyenne (std)	74,7 (4,3)	74,8 (4,1)	74,7 (4,7)
Sexe	Femme	109 (59,6)	63 (60,0)	46 (59,0)
Niveau d'études*	CEP ou moins	48 (26,4)	30 (28,6)	18 (23,4)
	Brevet-CAP-BEP	51 (28,0)	25 (23,8)	26 (33,8)
	Bac ou plus	83 (45,6)	50 (47,6)	33 (42,9)
APOE4*	Oui	43 (25,9)	13 (14,1)	30 (40,5)
Antécédents cardio-vasculaires‡	Oui	141 (77,0)	81 (77,1)	60 (76,9)
Antécédent d'accident vasculaire cérébral	Oui	13 (7,1)	7 (6,7)	6 (7,7)
Bras de randomisation	omega3/multi-domaine	50 (27,3)	37 (35,2)	13 (16,7)
	omega3	43 (23,5)	23 (21,9)	20 (25,6)
	multi-domaine	40 (21,9)	24 (22,9)	16 (20,5)
	contrôle	50 (27,3)	21 (20,0)	29 (37,2)
MMS à l'inclusion	Min / Max	24,0 / 30,0	24,0 / 30,0	24,0 / 30,0
	Moyenne (std)	28,2 (1,5)	28,4 (1,3)	28,0 (1,8)
Score CDR à l'inclusion	Min / Max	0,0 / 0,5	0,0 / 0,5	0,0 / 0,5
	Médiane [Q1-Q3]	0,0 [0,0-0,5]	0,0 [0,0-0,5]	0,0 [0,0-0,5]
IgG anti-HSV1 à l'inclusion	Positive	155 (84,7)	90 (85,7)	65 (83,3)
IgG anti-HSV2 à l'inclusion	Positive	41 (22,4)	21 (20,0)	20 (25,6)
IgM à l'inclusion	Positive	3 (1,6)	2 (1,9)	1 (1,3)
Age à la réalisation de la TEP (ans)	Min/ Max	70,0 / 91,0	70,0 / 88,0	70,0 / 91,0
	Moyenne (std)	76,2 (4,4)	76,3 (4,2)	76,2 (4,7)
Délai entre inclusion et TEP (mois)	Min / Max	1,7 / 35,1	1,7 / 35,1	1,9 / 31,2
	Moyenne (std)	18,3 (8,8)	18,1 (8,9)	18,5 (8,8)
SUVR cortical	Min / Max	0,9 / 1,7	0,9 / 1,2	1,2 / 1,7
	Moyenne (std)	1,2 (0,2)	1,1 (0,1)	1,4 (0,1)
MMS au plus proche de la TEP	Min / Max	18,0 / 30,0	24,0 / 30,0	18,0 / 30,0
	Moyenne (std)	28,2 (1,8)	28,5 (1,5)	27,9 (2,2)
Score CDR au plus proche de la TEP	Min / Max	0,0 / 2,0	0,0 / 0,5	0,0 / 2,0
	Médiane [Q1-Q3]	0,0 [0,0-0,5]	0,0 [0,0-0,5]	0,0 [0,0-0,5]

*Il existait des données manquantes pour 1 sujet concernant le niveau d'éducation et 17 sujets concernant le statut APOE4 et les sérologies IgG anti-HSV2 et IgM anti-HSV étaient considérées comme « limites » pour 1 et 4 sujets respectivement.

‡ Antécédents d'hypertension artérielle et/ou de diabète et/ou de dyslipidémie.

Abréviations : std écart-type, min-max minimum maximum, Q1 1er quartile, Q3 3ème quartile, TEP tomographie par émission de position permettant d'évaluer la charge amyloïde intracérébrale

3.2.2.2 Association entre statut sérologique HSV-1 et dépôts amyloïdes intracérébraux

Les résultats des analyses multivariées ajustées sur l'âge à l'inclusion, le sexe et le statut APOE4 sont présentés dans le Tableau 24.

- L'étude des dépôts amyloïdes intracérébraux de façon binaire « SUVr cortical $<$ ou \geq 1,17 » ne permettait pas de mettre en évidence une association avec le statut sérologique HSV-1, ceci qu'il s'agisse de la présence d'IgG anti-HSV-1 ou du taux d'IgG anti-HSV-1. A noter tout de même qu'il existait une tendance (p-value 0,13) concernant les sujets avec un taux d'IgG anti-HSV-1 dans le dernier tercile : ceux-ci semblaient moins fréquemment avoir un SUVr cortical \geq 1,17 (ORa=0,45 IC95% [0,16-1,28]), soit une tendance inverse par rapport à l'attendu.

De plus, l'absence de sujets IgG- avec un SUVr cortical $<$ 1,17 dans la catégorie APOE4+ a empêché l'étude d'une potentielle modulation de l'association en fonction du statut APOE4.

- L'utilisation du SUVr cortical de façon continue a permis de mettre en évidence i) une modulation de l'effet du statut sérologique sur la charge amyloïde intracérébrale par le statut APOE4, ii) le fait que, parmi les porteurs de l'allèle APOE4, les sujets infectés (et particulièrement ceux avec un taux d'IgG anti-HSV-1 élevé) avaient significativement moins de dépôts amyloïdes que les non-infectés, correspondant de nouveau à une tendance inverse par rapport à l'attendu, et iii) l'absence d'association significative chez les sujets non porteurs de l'allèle APOE4.

Pour les analyses non stratifiées sur le statut APOE4, des analyses de sensibilité ont également été réalisées en ajustant sur un plus grand nombre de potentiels facteurs de confusion incluant l'âge à l'inclusion, le sexe, le niveau d'études, le statut APOE4, la présence d'antécédents cardio-vasculaires (hypertension artérielle, diabète, dyslipidémie) ou d'antécédent d'accident vasculaire cérébral, le bras de randomisation et le délai entre l'inclusion et la réalisation de la TEP amyloïde. Les résultats de ces modèles (ainsi que ceux des analyses univariées) sont disponibles dans le Tableau 25 et sont semblables à ceux retrouvés dans l'analyse principale. Pour les analyses stratifiées sur le statut APOE4, le petit nombre de sujets n'a pas permis la réalisation d'analyses avec plus de variables d'ajustement.

Tableau 24 : Association entre statut sérologique HSV-1 et dépôts amyloïdes intracérébraux. Analyses multivariées. Essai MAPT.

SUVr cortical $\geq 1,17$ (versus $<$)		Analyse multivariée* (n=166)		
		ORa	IC 95%	p-value
Présence d'IgG anti-HSV-1	Négatif	1		
	Positif	0,55	0,21-1,46	0,23
Taux d'IgG anti-HSV-1	Négatif	1		0,48
	1er tercile	0,66	0,22-2,02	0,48
	2ème tercile	0,64	0,21-1,92	0,42
	3ème tercile	0,45	0,16-1,28	0,13

SUVr cortical en continu		Analyse multivariée* (n=166)				Analyse multivariée* chez les APOE4+ (n=43)			Analyse multivariée* chez les APOE4- (n=123)		
		Beta	Std	p-value	Interaction APOE4	Beta	Std	p-value	Beta	Std	p-value
Présence d'IgG anti-HSV-1	Négatif	1				1			1		
	Positif	-0,07	0,04	0,08	0,09	-0,19	0,09	0,03	-0,03	0,05	0,51
Taux d'IgG anti-HSV-1	Négatif	1		0,18	0,38	1		0,17	1		0,58
	1er tercile	-0,04	0,05	0,40	0,12	-0,16	0,10	0,12	0,003	0,05	0,96
	2ème tercile	-0,09	0,05	0,06	0,16	-0,22	0,10	0,04	-0,05	0,05	0,36
	3ème tercile	-0,08	0,07	0,07	0,10	-0,21	0,10	0,05	-0,04	0,05	0,46

* Ajustement sur l'âge à l'inclusion, le sexe +/- le statut APOE4 pour les analyses non stratifiées.

Abréviations : ORa odds ratio ajusté, IC 95% intervalle de confiance à 95%, std standard deviation ou écart-type

Tableau 25 : Association entre statut sérologique HSV-1 et dépôts amyloïdes intracérébraux. Analyses de sensibilité. Essai MAPT.

SUVr cortical $\geq 1,17$ (versus $<$)								
			Analyse univariée (n=183)			Analyse multivariée* (n=165)		
			OR	IC 95%	p-value	ORa	IC 95%	p-value
Présence d'IgG anti-HSV-1	Négatif	28	1			1		
	Positif	155	0,83	0,37-1,87	0,66	0,50	0,18-1,40	0,19
Taux d'IgG anti-HSV-1	Négatif	28	1			1		0,42
	1er tercile	48	1,06	0,42-2,70	0,90	0,61	0,19-1,97	0,41
	2ème tercile	45	0,92	0,36-2,38	0,87	0,59	0,18-1,94	0,38
	3ème tercile	62	0,64	0,26-1,57	0,33	0,40	0,13-1,21	0,10

SUVr cortical en continu								
			Analyse univariée (n=183)			Analyse multivariée* (n=165)		
Effectifs			Beta	Std	p-value	Beta	Std	p-value
Présence d'IgG anti-HSV-1	Négatif	28	1			1		
	Positif	155	-0,04	0,04	0,31	-0,07	0,04	0,08
Taux d'IgG anti-HSV-1	Négatif	28	1		0,15	1		0,13
	1er tercile	48	0,007	0,04	0,87	-0,04	0,05	0,43
	2ème tercile	45	-0,06	0,04	0,17	-0,10	0,05	0,04
	3ème tercile	62	-0,06	0,04	0,18	-0,08	0,04	0,08

* Ajustement sur l'âge à l'inclusion, le sexe, le niveau d'études, le statut APOE4, la présence d'antécédents cardio-vasculaires ou d'antécédent d'accident vasculaire cérébral, le bras de traitement et le délai entre l'inclusion et la TEP

Abréviations : ORa odds ratio ajusté, IC 95% intervalle de confiance à 95%, std standard deviation ou écart-type

3.2.3 Discussion

3.2.3.1 Résultats principaux

Ces analyses ont permis de mettre en évidence i) une modulation par le génotype APOE de l'effet de l'infection HSV-1 sur la charge amyloïde intracérébrale, ii) que, parmi les porteurs de l'allèle APOE4, les sujets infectés (et particulièrement ceux ayant un taux élevé d'IgG suspectés de réactiver plus fréquemment) ont significativement moins de dépôts amyloïdes que les non-infectés et iii) qu'aucune association significative n'est retrouvée chez les sujets non porteurs de l'allèle APOE4.

3.2.3.2 Forces et faiblesses

Cette étude bénéficie de données précieuses obtenues grâce à la réalisation de TEP amyloïdes et de sérologies spécifiques au virus HSV-1. A notre connaissance, il s'agit ainsi de la première étude ayant investigué l'association entre infection à HSV-1 et présence de dépôts amyloïdes intracérébraux mesurée par TEP amyloïde.

Si les volontaires de l'essai ne sont probablement pas représentatifs de la population âgée générale (comme en témoigne notamment la fréquence importante de sujets avec un haut niveau d'études), on peut tout de même noter que les séroprévalences HSV-1 et HSV-2 ainsi que la prévalence d'APOE4 sont cohérentes avec les données existant dans la littérature (67,90). De façon équivalente, il est fréquent de retrouver une charge amyloïde élevée chez des sujets âgés malgré une fonction cognitive relativement préservée (386,387).

L'évaluation semi-automatique nous a permis d'étudier à la fois la présence et la quantité de dépôts amyloïdes intracérébraux. Néanmoins, comme cela a été décrit par Payoux et al. (378), l'absence d'IRM cérébrale concomitante à la TEP amyloïde, l'utilisation du cervelet comme région de référence (versus une zone de substance blanche au niveau du cerveau) et l'estimation d'un SUVR cortical moyen (versus une approche par région) sont des limites de l'étude. Celles-ci expliquent probablement en partie la discordance retrouvée entre les évaluations visuelle et semi-automatique (378).

Enfin, la qualité du recueil de données dans l'essai MAPT, le faible taux de données manquantes et la disponibilité de données génétiques nous a permis de prendre en compte de nombreux facteurs de confusion potentiels et de tester l'existence d'une interaction avec APOE4. Néanmoins, le nombre de sujets étudiés dans les analyses stratifiées sur le statut

APOE4 reste faible et la prévalence des sujets IgM+ nous a empêché de réaliser des analyses sur ce marqueur.

3.2.3.3 **Interprétation**

Concernant l'existence d'une modulation de l'effet d'HSV-1 sur le risque de maladie d'Alzheimer par le statut APOE4, nos résultats semblent cohérents avec i) les résultats mis en évidence lors de cette thèse dans les cohortes 3C et AMI et ii) les résultats rapportés dans la littérature par des études post-mortem sur échantillons de cerveaux humains, des données issues de la cohorte suédoise Betula et des expérimentations chez la souris. Ces différents éléments ont déjà été discutés au paragraphe 1.3.4.1 et dans les articles 1 et 2 et ne seront donc pas redéveloppés ici.

A contrario, alors que nous avons initialement fait l'hypothèse que, parmi les sujets porteurs de l'allèle APOE4, nous retrouverions une augmentation des dépôts amyloïdes chez les sujets infectés (et particulièrement chez les sujets avec des réactivations fréquentes) par rapport aux non-infectés, les associations retrouvées dans l'essai MAPT vont dans le sens contraire. Parmi les porteurs d'APOE4, les sujets infectés ont moins de dépôts amyloïdes que les non-infectés et ce particulièrement s'ils ont un taux d'IgG élevé.

En l'absence d'étude antérieure ayant estimé la charge amyloïde intracérébrale par TEP amyloïde, seule l'étude d'Olsson et al. (183), réalisée sur des échantillons de cerveaux humains en post-mortem, permet une comparaison. Dans cette étude, parmi les sujets infectés par HSV-1, 32,4% (36/111) avaient des dépôts amyloïdes intracérébraux vs 10,5% (2/19) chez les sujets non infectés. Néanmoins, après ajustement sur l'âge, l'association n'était pas statistiquement significative (OR ajusté=2.77 IC95% [0.57–13.54], p=0.21). Parmi les sujets infectés, il n'était pas non plus mis en évidence de corrélation entre le taux d'IgG et la charge amyloïde. Cette étude était toutefois réalisée sur un faible effectif et ne prenait pas en compte l'existence de potentiels facteurs d'interaction.

Comment interpréter nos résultats dans ce contexte ? Etant donné qu'il semble peu plausible que l'infection HSV-1 empêche l'accumulation de dépôts amyloïdes et/ou facilite leur clairance, d'autres explications doivent être envisagées.

Une première possibilité serait que nos résultats soient liés à un biais de sélection, du fait de l'inclusion dans l'essai de participants de niveau cognitif équivalent. Ainsi, si les sujets infectés développent une quantité plus importante de lésions d'autres types que l'a β , et notamment de lésions tau, à niveau cognitif égal ils vont avoir moins de dépôts amyloïdes³⁴. Certains éléments de l'hypothèse infectieuse pourraient conforter cette idée. D'une part, le rôle antimicrobien et de biofloculant du peptide amyloïde n'est pas spécifique à HSV-1 et l'accumulation de lésions amyloïdes pourrait relever de différents types d'agressions (infectieuses ou non) du système nerveux central. Quant à elle, l'apparition de pathologie Tau pourrait potentiellement être plus « spécifique » d'une atteinte liée à l'infection par le virus HSV-1. L'évolution topographique des lésions tau – cohérente avec la propagation du virus depuis son lieu de latence ou depuis une porte d'entrée olfactive – pourrait être un premier argument en faveur de cette idée. De plus, les résultats obtenus par Krut et al. (215) pourraient également aller dans ce sens. A partir du LCS de 42 sujets contrôles, 21 sujets atteints d'une maladie d'Alzheimer et 56 sujets atteints de diverses infections du système nerveux central (encéphalite herpétique, méningite bactérienne, neuroborréliose, démence associée au VIH), les auteurs ont mis en évidence une diminution de la concentration intrathécale d'a β 1–42 dans tous les groupes (à l'exception de la neuroborréliose) par rapport aux contrôles tandis qu'une augmentation de la concentration intrathécale de tau totale et phospho-tau par rapport aux contrôles n'était retrouvée que chez les sujets avec une encéphalite herpétique ou une maladie d'Alzheimer. A noter néanmoins que l'apparition de lésions tau a également été décrite dans d'autres infections virales (270–274) ainsi que, in vitro, dans le cas d'infections à spirochètes (275). Des dosages plasmatiques de la protéine Tau sont actuellement en cours dans l'essai MAPT et devraient nous permettre de tester cette hypothèse avant publication.

D'autres possibilités pourraient être l'existence d'un biais de confusion résiduel ou une répartition topographique différente des dépôts amyloïdes chez les infectés avec potentiellement une accumulation de dépôts préférentiellement au niveau des zones

³⁴ On pourrait ainsi faire l'hypothèse que les sujets APOE4+ infectés et avec une charge amyloïde intracérébrale élevée n'aient pas été inclus dans l'essai si cette combinaison entraînait déjà une baisse importante de leurs fonctions cognitives.

De manière analogue, une situation similaire été décrite pour un autre facteur de risque de démence : le bas niveau d'études. Les sujets ayant un bas niveau d'études présentent moins de dépôts amyloïdes intracérébraux au stade de plainte cognitive que les sujets avec un haut niveau d'études, probablement en lien avec une moindre tolérance des lésions (388).

initialement touchées dans la maladie d'Alzheimer comme l'hippocampe (zone non prise en compte dans le SUVr cortical disponible dans l'essai MAPT).

Au total, même s'ils sont d'interprétation complexe et contraire à notre hypothèse initiale, nos résultats montrent une intrigante association entre le statut sérologique HSV-1 et la présence de dépôts amyloïdes intracérébraux reflétant peut-être les conditions d'inclusion dans l'essai MAPT.

3.3 Association entre la prise de traitements anti-herpétiques et la survenue d'une démence dans l'Echantillon Généraliste des Bénéficiaires

3.3.1 Article 3

En dehors de son intérêt concernant la compréhension des mécanismes physiopathologiques sous-tendant la maladie d'Alzheimer, la question d'une implication du virus HSV-1 est surtout primordiale au regard des possibilités de prévention qu'elle permettrait. En effet, différents traitements antiviraux efficaces contre le virus HSV-1 existent à l'heure actuelle et, s'ils ne permettent pas de guérir l'infection, ils permettent de bloquer la réactivation du virus durant la période de traitement. De plus, différentes études in vitro ont déjà mis en évidence que ce type de traitement permettrait de réduire l'apparition des marqueurs de la maladie d'Alzheimer (pathologies amyloïde et tau) suite à l'inoculation du virus HSV-1 (239,244,276,290). Enfin, des études utilisant les bases médico-administratives Taïwanaises ont récemment mis en évidence que, parmi les sujets infectés par les virus HSV ou VZV, la prise d'un traitement antiviral était associée à une réduction significative du risque de démence (389,390) (résultats discutés dans l'article 3). Ces traitements, à la fois accessibles, peu chers et bien tolérés, pourraient ainsi représenter un nouveau moyen de prévention. Pourtant, l'hypothèse de l'implication du virus HSV dans la maladie d'Alzheimer restant controversée, seuls deux essais cliniques sont en cours à ce jour pour tester leur efficacité dans le cadre de la maladie d'Alzheimer (NCT02997982 et NCT03282916).

Afin d'évaluer plus avant un potentiel effet protecteur d'un traitement anti-herpétique systémique sur l'incidence de la maladie d'Alzheimer, les données de 68 291 sujets âgés de plus de 65 ans issus de l'Echantillon Généraliste des Bénéficiaires ont été analysées sur la période 2009-2017. Ces analyses ont fait l'objet d'un article intitulé « Anti-herpetic drugs: a potential way to prevent Alzheimer's disease? » soumis pour publication et disponible ci-après.

Les principaux résultats de cet article sont les suivants :

- Parmi les participants, 9,7% avaient pris au moins une fois un anti-herpétique à action systémique durant le suivi. Après ajustement sur différents facteurs de confusion potentiel, la prise d'au moins un anti-herpétique systémique au cours du suivi était

significativement associée à une diminution du risque de développer la maladie d'Alzheimer (HRa= 0,85 [0,75-0,96], p=0,009) et, dans une moindre mesure concernant la p-value, aux démences toutes causes (HRa 0,90 [0,82-0,99], p=0,03) et à la démence vasculaire (HRa 0,80 [0,65-0,995], p=0,045).

Ces associations restaient globalement inchangées dans différentes analyses de sensibilité prenant en compte l'existence de potentiels biais d'indication et de causalité inverse.

- Etant donné que le pourcentage de sujets ayant une prise régulière d'anti-herpétiques à action systémique était très faible (parmi ceux avec au moins une prise, le nombre médian de délivrances par an durant le suivi était de 0,12), l'effet d'un traitement régulier n'a pas pu être étudié.

Au total, la prise d'au moins un anti-herpétique à action systémique était associée à une diminution de 15% de développer la maladie d'Alzheimer. Malgré le faible pourcentage de participants avec une prise régulière de traitements durant le suivi, cette association pourrait refléter un effet protecteur du traitement antiviral en particulier si l'on considère la possibilité d'un traitement plus régulier durant la période de vie précédant l'inclusion. Ces résultats mettent également en évidence les limites des données médico-administratives pour évaluer l'efficacité d'un traitement régulier étant donné leur mode de prescription en pratique clinique actuellement.

1 **Antiherpetic drugs: a potential way to prevent Alzheimer's disease?**

2 Morgane LINARD^{1*}; Julien BEZIN^{1,3}, Emilie HUCTEAU¹, Pierre JOLY¹, Isabelle GARRIGUE²,
3 Jean-François DARTIGUES^{1,4}, Antoine PARIENTE^{1,3}, Catherine HELMER¹

4 5 **Affiliations:**

6 ¹ University of Bordeaux, Inserm, Bordeaux Population Health Research Center, UMR U1219, F-
7 33000 Bordeaux, France

8 ² University of Bordeaux, CNRS-UMR 5234 and CHU Bordeaux, Virology Department, F-33000
9 Bordeaux, France

10 ³ Bordeaux University Hospital, Pharmacology department, Bordeaux, F-33076 France

11 ⁴ Bordeaux University Hospital, memory consultation, CMRR, Bordeaux, F-33076 France

12 13 **Corresponding author:**

14 Morgane Linard. INSERM U1219 Bordeaux Population Health Research Center, University of
15 Bordeaux, 146, rue Léo Saignat, F-33076 Bordeaux Cedex, France.

16 Phone number: +33 (0)5 57 57 95 38 Fax number: +33 (0)5 57 57 14 86

17 Email address: morgane.linard@gmail.com

18
19 **Acknowledgements:** We thank Laure CARCAILLON-BENTATA for sharing with us the
20 methodology used to identify cases of dementia.

21
22 **Abbreviations:** AD Alzheimer's disease, AHD Antiherpetic drug, LTD Long-term diseases (a group
23 of diseases for which all medical expenses are fully reimbursed), ATC Anatomical Therapeutic
24 Chemical, CI Confidence interval, CMV Cytomegalovirus, EGB "*Echantillon Généraliste des*
25 *Bénéficiaires*", aHR Adjusted hazard ratio, HSV-1 Herpes simplex virus type 1, HSV-2 Herpes
26 simplex virus type 2, ICD International Classification of Diseases, VaD Vascular dementia, VZV
27 Varicella zoster virus.

28 **Abstract**

29 **BACKGROUND:** Considering the potential implication of herpesviruses in the development of
30 dementia, antiherpetic drugs (AHDs) may represent a new means of prevention.

31 **METHODS:** Using a medico-administrative database, we assessed the association between the intake
32 of systemic AHDs and the incidence of i) dementia, ii) Alzheimer's disease (AD) and iii) vascular
33 dementia (VaD) in 68291 subjects over 65 who were followed between 2009 and 2017.

34 **FINDINGS:** 9.7% of subjects (n=6642) had at least one intake of systemic AHDs, and 8883 incident
35 cases of dementia were identified. Intake of at least one systemic AHD was significantly associated
36 with a decreased risk of AD (aHR 0.85 [0.75-0.96], p=0.009) and, to a lesser extent, with respect to p-
37 values, to both dementia from any cause and VaD.

38 **CONCLUSIONS:** This association may reflect a protective impact of systemic AHDs on the onset of
39 dementia and highlights the urgent need for clinical trials to investigate this subject.

40

41 **Key words:** Herpesvirus, Alzheimer's disease, vascular dementia, prevention, antiherpetic drugs,
42 medico-administrative databases

43

44 **Declarations**

45 **Funding:** The present study was supported by the Fondation Plan Alzheimer (AAP 2016).

46 **Conflicts of interest/Competing interests:** none.

47 **Availability of data and material:** none.

48 **Code availability:** on demand.

49 **Authors' contributions:** All authors contributed to the study conception and design. Analysis were
50 performed by Morgane Linard and Emilie Hucteau. The first draft of the manuscript was written by
51 Morgane Linard and all authors commented on previous versions of the manuscript. All authors read
52 and approved the final manuscript.

53

54 **1. Introduction**

55 Given the limited therapeutic arsenal available for a disorder as devastating as Alzheimer's disease
56 (AD), identification of new avenues of prevention is a public health priority. While the majority of
57 therapeutic trials currently focus on the evaluation of anti-amyloid or anti-tau biotherapies, another
58 means of prevention deserves to be explored: the antiherpetic drugs (AHDs). Indeed, the recent
59 discovery of the antimicrobial role of the amyloid peptide [1–4] reinforced the hypothesis implicating
60 infectious agents in the development of AD. Among the suspected pathogens, herpes simplex virus
61 type 1 (HSV-1) is the most studied candidate [5], and numerous studies in vitro, in animals and in
62 humans provide arguments in favor of its involvement in AD. It is a neurotropic virus found in the
63 brains of elderly subjects, particularly in brain areas affected by AD (reviewed in [6]). After infection,
64 usually at a young age [7], it stays in the body in a latent state and periodically reactivates [8]. Its
65 reactivation leads to the accumulation of pathological hallmarks of AD in animals as demonstrated in
66 vitro (reviewed in [9]). The progressive immunosenescence of both adaptive immunity and microglia
67 may explain the accumulation of such hallmarks with aging [10,11]. Moreover, some genetic risk
68 factors, such as APOE4 [12–15], seem to influence the susceptibility of infected subjects to remain
69 healthy carriers or to develop the disease. Notably, other herpesviruses have also been suggested to
70 impact the onset of dementia [16–18].

71 With a goal of identifying a new means of prevention, studies [19–22] have demonstrated that adding
72 AHDs into a cellular medium inhibits the HSV-1 induced appearance of AD markers. Moreover,
73 recent results from medico-administrative databases suggest a significant reduction in the risk of
74 dementia in subjects infected with HSV or varicella-zoster virus (VZV) and treated with AHDs [23–
75 26]. However, i) the plausibility of the association found with regard to the frequency of intake and ii)
76 potential indication or reverse causality biases have rarely been discussed. Thus, with this in mind, we
77 further explored whether the protective effect of systemic AHDs on the onset of dementia was
78 replicable using another large medico-administrative database.

79

80 **2. Methods**

81

82 *2.1 Data source*

83 The “Echantillon Généraliste des Bénéficiaires” (EGB) is a 1/97th random sample of affiliates to
84 the French Health Insurance System (which covers approximately 98% of the population) [27,28]. It is
85 representative of the national population in terms of sex and age and contains in particular information
86 relating to: i) sociodemographic data including information of health insurance complementary
87 coverage for low-income people, ii) “long-term diseases” (LTDs), a group of chronic diseases for
88 which all medical expenses are fully reimbursed, iii) outpatient healthcare expenditures
89 reimbursements, iv) outpatient drug reimbursements identified by their Anatomical Therapeutic
90 Chemical (ATC) code and the prescriber specialty [29], v) information on hospitalizations with the
91 primary, related, and associate diagnoses coded according to the International Classification of
92 Diseases 10th revision (ICD10) and vi) dates of death.

93

94 *2.2 Study design and included subjects*

95 We constituted a cohort study of elderly subjects from the EGB datasource. The starting inclusion
96 date was January 1, 2009, as the dates of hospitalizations are only available from that date. In 2009,
97 only subjects affiliated with the primary health care insurance system (approximately 80% of the
98 population) were present in the EGB (n=507 251). We then excluded subjects aged under 65
99 (n=433 462), subjects with less than two years of anteriority in the database (n=2 134) to allow the
100 identification of prevalent dementias and subjects with prevalent dementia (n=3364). Finally, our
101 sample included 68291 subjects (Figure 1) who were followed until their exit from the primary health
102 care insurance system, the onset of dementia, death or the end of the study period (December 31,
103 2017), whichever occurred first.

104

105 *2.3 Exposure to antiherpetic drugs*

106 During follow-up, we identified all reimbursements for antivirals that were effective against HSV-
107 1 (whether they were usually prescribed for this indication, for cytomegalovirus (CMV) or VZV
108 infections). The ATC codes used to define the intake of AHDs are described in S1 Appendix and in

109 Table 2 for those used by the subjects in our sample. The exposure variable was the intake of systemic
110 AHDs. Nonsystemic AHDs were not considered since their systemic passage is very low (making an
111 effect on the prevention of dementia unlikely).

112
113 For systemic AHDs, we further described the frequency of intake during follow-up, aiming to identify
114 subjects with chronic intake. We assumed that, for a plausible protective effect of AHDs on dementia,
115 the treatment would need to be taken repeatedly. Indeed, it is known that i) current AHDs are not
116 curative treatments; they only prevent the virus from replicating for the treatment period, ii) the French
117 recommended durations of treatment are less than 10 days (except in some cases with an occurrence of
118 ≥ 6 herpetic recurrences per year or in some immunocompromised subjects) and iii) the frequency of
119 asymptomatic reactivations is high (according to Miller et al, 70% of subjects had HSV-1 shedding at
120 least once per month and some more than 6 times per month) [8,30].

121
122 We also described the specialty of the prescriber with the aim of partially inferring the indication for
123 treatment (as this information was not available in the EGB) and identified hospitalizations with
124 diagnoses linked to HSV, VZV or CMV infections (see S1 Appendix) to identify subjects with
125 potentially more severe infections.

126

127 *2.4 Incidence of dementia*

128 Subjects were defined as having i) dementia from any cause (including unspecified dementia), ii)
129 AD or iii) vascular dementia (VaD) if at least one of the following criteria was present (see S1
130 Appendix):

- 131 i) Hospitalization in medical or surgical wards with diagnoses linked to dementia from any
132 cause, AD or VaD.
- 133 ii) A declaration of an LTD related to dementia from any cause, AD or VaD.
- 134 iii) Anti-dementia drugs (i.e., anti-cholinesterase drugs, memantine or their association)
135 which were considered only for the identification of dementia from any cause or AD.

136 The date of dementia onset was defined as the date of hospitalization, the date of declaration of LTD
137 related to dementia or the date of dispensing anti-dementia drugs, whichever occurred first.

138

139 *2.5 Statistical analysis*

140 Cox proportional hazard regression models were used to estimate cause-specific adjusted hazard ratios
141 (aHRs) and 95% confidence intervals (95% CIs) for all types of dementia and separately for AD and
142 VaD. The use of systemic AHDs was considered time-dependent (a subject was considered exposed
143 from the first intake after inclusion). In adjusted Cox models, several variables at inclusion were
144 considered potential confounding factors: age, sex, being the beneficiary of a complementary health
145 insurance for low-income people, the presence of several comorbidities (hypertension, diabetes,
146 hypercholesterolemia, stroke, heart diseases), intake of anti-inflammatory drugs (that might impact
147 both viral reactivation and the development of dementia), number of outpatient medical consultations
148 the year before inclusion, and number of different medications the year before inclusion (see S1
149 Appendix). Finally, we verified the proportional hazards assumption by testing the existence of an
150 interaction with time.

151

152 Several sensitivity analyses were also performed. First, as an increased risk of death was found in
153 subjects treated with at least one systemic AHD (data not shown), we suspected an indication bias due
154 to the prescription of systemic AHDs in contexts with a high mortality rate (immunocompromised
155 subjects or subjects under anticancer chemotherapy). Indeed, the exclusion of immunocompromised
156 subjects or subjects with cancer (see S1 Appendix) made the association with death disappear (data
157 not shown). Thus, to avoid a potential bias if the severity of the condition of some subjects treated
158 with AHDs changes the probability of being identified as demented in the database, we performed a
159 sensitivity analysis to assess the association with dementia after exclusion of these subjects (n=15 807
160 including 14667 subjects with cancer and 2738 immunocompromised subjects). We also further
161 excluded the remaining subjects with at least one hospitalization related to herpesviruses (n=230), the
162 severity of which could be associated with an increased risk of dementia and for which we do not
163 know whether AHDs were given during hospitalization. Second, we also hypothesized that AHDs

164 might be less prescribed for subjects with cognitive decline (and not yet diagnosed as demented).
165 Thus, to avoid reverse causality bias, for all treated subjects, we postponed the date of treatment by
166 one year in order to constitute a one-year lag-time. Third, as the low frequency of subjects with a
167 regular intake did not allow us to perform analyses with a variable distinguishing between occasional
168 and regular intake of AHDs, we rather excluded the few subjects with ≥ 2 deliveries of systemic
169 AHDs per year of follow-up (n=169) to test their impact on the association with dementia.

170

171 All statistical tests were two-tailed, and the threshold for statistical significance was 5%. Analyses
172 were performed using the statistical software SAS Enterprise Guide (version 9.4 SAS Institute, NC,
173 USA).

174

175 **3. Results**

176

177 *3.1 Characteristics of the included subjects*

178 The characteristics of the included subjects are shown in Table 1. The mean age was 76 ± 8 years,
179 and there were 41% men. The proportion of subjects with at least one intake of AHDs during follow-
180 up was 14.1% (n=9650), with 9.7% (n=6642) having systemic AHDs and 7.9% (n=5375) having
181 nonsystemic AHDs (Table 2). Among subjects with at least one systemic AHD, 88.5% received at
182 least one dose of valaciclovir and 16.6% at least one dose of aciclovir. Systemic AHDs were primary
183 prescribed by general practitioners (80.4%), while ophthalmologists, dermatologists,
184 hematologists/oncologists/internists, gynecologists and neurologists prescribed only 9.1%, 3.7%,
185 3.3%, 0.9% and 0.2% of treatments, respectively. Subjects with at least one intake of systemic AHDs
186 were likely to be younger, more often women, more often consumers of lipid-lowering and anti-
187 inflammatory drugs and to have a higher number of different treatments and medical consultations
188 (Table 1).

189

190 The percentage of subjects with a regular intake was very low (Table 2). Among those with at
191 least one intake of systemic AHDs, the median number of deliveries during follow-up (mean time 7 ± 3
192 years, median 9 years) was equal to 1, the third quartile to 2 and the 90th percentile to 7, representing a
193 median number of deliveries per year of follow-up of 0.12 (interquartile range (IQR) = 0.11-0.33).
194 Even among those with ≥ 7 deliveries during follow-up (n=665), the median number of deliveries per
195 year of follow-up was limited (median 2.1, IQR = 1.2-4.1, min-max=0.8-24.1).

196

197 Notably, the number of subjects with at least one hospitalization related to herpesviruses was also
198 low: 0.22% of the subjects (n=151) had a hospitalization related to HSV (including 0.03% related to
199 herpetic meningoencephalitis (n=23)), 0.02% (n=16) to CMV infection and 0.36% (n=244) to VZV
200 infection.

201

202 *3.2 Association between the intake of antiherpetic drugs and onset of dementia*

203 During follow-up, 8883 subjects were identified as having incident dementia (5366 AD and 1784
204 VaD). The incidence rates of dementia, AD and VaD were 18.2, 11.0 and 3.7 cases per 1000 person-
205 years, respectively. The mean age at diagnosis of dementia was 84 ± 6 years. Among the 509 subjects
206 treated with systemic AHDs and subsequently diagnosed with dementia, the median time interval
207 between the first treatment and the occurrence of dementia was 2.9 years (IQR 1.2-4.8).

208

209 After adjustment for potential confounding factors, the intake of at least one systemic AHD was
210 significantly associated with a decreased risk of AD (aHR 0.85 [0.75-0.96], p=0.009) and, to a lesser
211 extent with respect to p-values, with both dementia (aHR=0.90 [0.82-0.99], p=0.03) and VaD (aHR
212 0.80 [0.65-0.995], p=0.045) (Table 3).

213

214 Results of the sensitivity analyses are shown in Table 3. First, the exclusion of subjects with cancer,
215 immunocompromised subjects or subjects with at least one hospitalization related to herpesviruses did
216 not profoundly change the results. Second, after the introduction of a lag time, the associations
217 remained significant for dementia from any cause and AD but not for VaD. Third, the observed

218 association did not seem to be solely based on a potential protective effect of a “regular” treatment in
219 the few subjects with ≥ 2 deliveries of systemic AHDs per year of follow-up because, after their
220 exclusion, the results were similar to those of the main analysis.

221

222

223 **4. Discussion**

224

225 *4.1 Main results*

226 Intake of at least one systemic AHD was significantly associated with a 15% reduction in the risk of
227 developing AD and, to a lesser extent with respect to p-values, to both all-cause dementia and VaD.

228 This association remained after exploring various potential biases.

229

230 *4.2 Strengths and limits*

231 The main strengths and limits of our study are inherent in the use of medico-administrative
232 databases. Such a data source allows analyses on a large study sample and therefore high statistical
233 power. It is also representative of the national population in terms of sex and age and benefits from a
234 relatively long follow-up with no loss to follow-up and from exhaustive data on hospitalizations, out-
235 hospital drug reimbursements and death recordings.

236

237 One of the limitations of our study is the inability to distinguish between individuals infected with
238 HSV and those who are not due to the lack of additional clinical and paraclinical information. Indeed,
239 AHDs are only a good marker of the treated infection and not of HSV infection in general. While a
240 large proportion of elderly subjects are infected with HSV-1 (approximately 80% [7]), only
241 approximately 20% exhibit symptomatic reactivations [31], and an even smaller proportion are treated
242 with AHDs. Consequently, the unexposed group includes both infected subjects and, to a lesser extent,
243 uninfected subjects, which could have underestimated the association identified. In addition, the lack
244 of information on the indication of AHDs has made it impossible to clearly distinguish between

245 orofacial herpes (primarily due to HSV-1), genital herpes (primarily due to HSV-2) or other symptoms
246 related to CMV or VZV infections. The prescriber's specialty did not allow us to distinguish these
247 different indications because the majority of systemic AHDs was prescribed by general practitioners.
248 Finally, due to a too low proportion of subjects with regular intake of AHDs, the impact of regular
249 treatment could not be evaluated.

250
251 With respect to the detection of dementia, while the number of dementia cases is underestimated due
252 to the underdiagnosis of dementia and the lack of care for some of the demented individuals, the
253 incidence of dementia is not very different from that reported in the literature (18.39 cases per 1000
254 person-years in high-income countries for persons over 60 [32]). Finally, in the absence of more
255 clinical or paraclinical data, the quality of the ICD10 codes associated with hospitalizations and LTD
256 is probably not sufficient to allow accurate determination of the etiology of dementia, but the
257 combination of 3 identification criteria (i.e., treatment, LTD and hospitalization) increases the validity
258 of the diagnosis. Thus, in our sample, 47% of AD cases were identified using at least 2 criteria.
259 Analyses by dementia subtype should nevertheless be interpreted with caution. Finally, the relatively
260 short delay between the intake of systemic AHD and onset of dementia in our sample (median 2.9
261 years) prevented us from achieving a longer lag-time (which would have been better considering the
262 long prodromal phase of AD [33,34]).

263

264 *4.3 Interpretation in light of literature*

265 *4.3.1 Previous results*

266 Using a Taiwanese medico-administrative database, Tzeng et al [23] highlighted that among subjects
267 over 50 identified as being infected with HSV, subjects treated with AHDs had a lower risk of
268 dementia (aHR 0.092 [0.079-0.108], $p < 0.001$), suggesting that 90% of dementia cases among HSV-
269 infected patients could be prevented by AHDs. The association remained significant regardless of the
270 duration of treatment considered ($<$ or \geq 30 days of treatment during the follow-up). The discrepancy
271 between Tzeng's results and ours regarding the magnitude of the association may be partially due to
272 the selection of subjects. While Tzeng et al studied subjects defined as infected if they had at least

273 three outpatient visits related to HSV-1 or HSV-2 infections (probably reflecting very specific
274 situations or more severe infections), our analyses were performed on the general population in which
275 not all, but the majority, are infected, even though a large part has no clinical symptoms. Three other
276 studies found results more consistent with ours. Additionally, in the Taiwanese database, Chen et al
277 [24] highlighted a reduced risk of dementia in subjects infected with VZV and treated with AHDs
278 (aHR = 0.55 [0.40–0.77], $p < 0.0001$). More recently, using a South Korean database, Bae et al [25]
279 highlighted that among subjects with herpes zoster, those treated with AHDs exhibited a reduced risk
280 of dementia (aHR=0.76 [0.65-0.90]). Finally, in a Swedish database, Lopatko-Lindman et al [26]
281 found that the intake of AHDs, regardless of the infectious status of the subjects, was associated with a
282 reduced risk of dementia (aHR=0.89 [0.86-0.92]).

283

284 *4.3.2 Interpretation of our results*

285 We highlighted a reduced risk of dementia in subjects taking at least one systemic AHD
286 during the follow-up period. Although a residual confounding bias cannot be ruled out, this association
287 remained after controlling for numerous confounding factors, including comorbidity measures and
288 health care use. Note that we were unable to take into account some genetic risk factors. However, as
289 the main genetic risk of AD, APOE4, is considered a risk factor for both cold sores and herpes zoster
290 [35,36] and is therefore potentially associated with more frequent use of AHDs, its absence would
291 have underestimated the protective association observed rather than overestimated the association.

292 This association also remains after exclusion of participants for whom the probability of being
293 identified as demented could be modified by the pathology that led to the prescription of AHDs.

294

295 Nevertheless, our results should be interpreted with caution given the low frequency of subjects
296 receiving regular treatment. Indeed, although it seems implausible that a single intake of systemic
297 AHDs has a protective effect on AD, the association found could nevertheless reflect the impact of a
298 more regular intake prior to the inclusion of subjects identified as being treated during the follow-up.
299 An alternative hypothesis would be that the occurrence of peripheral reactivations (and their possible
300 subsequent treatment) is negatively correlated with the occurrence of central reactivations secondary

301 to the migration of the virus into the central nervous system (and therefore to the risk of dementia).
302 This negative correlation between peripheral and central reactivations is supported by the fact that
303 some studies based on self-reported cold sores described a counterintuitive reduction in HSV
304 reactivations with age [37,38], while other studies based on serological parameters suggest the
305 opposite occurs [39,40].

306

307 *4.4 Conclusions*

308 Taking at least one systemic AHD during follow-up was significantly associated with a 15% reduced
309 risk of developing AD. Despite the low percentage of subjects with a regular intake during the follow-
310 up, this association may reflect a protective impact of systemic AHDs on the development of
311 dementia. It also underlines the limitations of using medico-administrative databases to assess the
312 efficacy of a regular intake of systemic AHDs given their current use in clinical practice (at least in
313 France). Thus, given the growing body of evidence supporting the implication of herpesviruses in the
314 onset of dementia, clinical trials with prolonged treatment with systemic AHDs are urgently needed to
315 evaluate these easily accessible, well-tolerated and inexpensive treatments as preventive measures
316 against dementia. Two phase 2 clinical trials are currently ongoing. One Swedish open pilot clinical
317 trial (NCT02997982) is testing the effect of 4 weeks of oral valaciclovir in 36 APOE4 carriers with
318 AD or with amnesic mild cognitive impairment. One American double-blind randomized trial
319 (NCT03282916) is comparing the effect of valaciclovir for 18 months in 65 treated participants and 65
320 controls, all with mild AD. Results from these first trials are eagerly awaited but will need to be
321 extended to an earlier stage of the disease in larger preventive clinical trials.

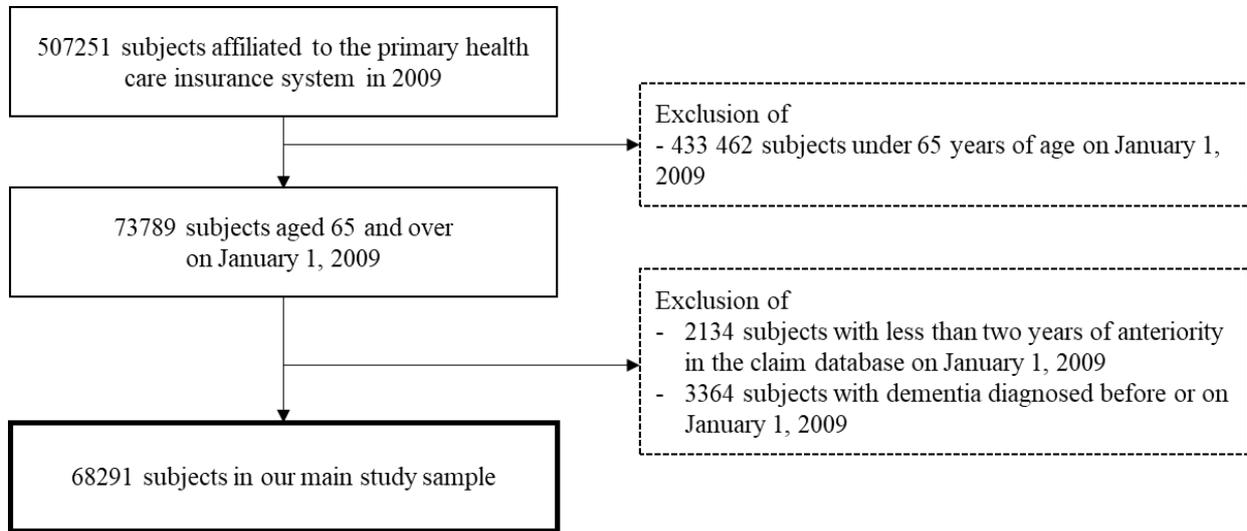
- 323 [1] Soscia SJ, Kirby JE, Washicosky KJ, Tucker SM, Ingelsson M, Hyman B, et al. The Alzheimer's
324 Disease-Associated Amyloid β -Protein Is an Antimicrobial Peptide. *PLoS ONE* 2010;5:e9505.
325 <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0009505>.
- 326 [2] Moir RD, Lathe R, Tanzi RE. The antimicrobial protection hypothesis of Alzheimer's disease.
327 *Alzheimer's & Dementia* 2018;14:1602–14. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2018.06.3040>.
- 328 [3] Bourgade K, Dupuis G, Frost EH, Fülöp T. Anti-Viral Properties of Amyloid- β Peptides. *J*
329 *Alzheimers Dis* 2016;54:859–78. <https://doi.org/10.3233/JAD-160517>.
- 330 [4] Gosztyla ML, Brothers HM, Robinson SR. Alzheimer's Amyloid-b is an Antimicrobial Peptide:
331 A Review of the Evidence. *Journal of Alzheimer's Disease* 2018. <https://doi.org/10.3233/JAD-171133>.
- 332 [5] Itzhaki RF. Corroboration of a Major Role for Herpes Simplex Virus Type 1 in Alzheimer's
333 Disease. *Front Aging Neurosci* 2018;10:324. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2018.00324>.
- 334 [6] Steel AJ, Eslick GD. Herpes Viruses Increase the Risk of Alzheimer's Disease: A Meta-
335 Analysis. *Journal of Alzheimer's Disease* 2015;47:351–64. <https://doi.org/10.3233/JAD-140822>.
- 336 [7] Looker K, Garnett G. A systematic review of the epidemiology and interaction of herpes simplex
337 virus types 1 and 2. *Sex Transm Infect* 2005;81:103–7. <https://doi.org/10.1136/sti.2004.012039>.
- 338 [8] Miller CS, Danaher RJ. Asymptomatic shedding of herpes simplex virus (HSV) in the oral
339 cavity. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*
340 2008;105:43–50. <https://doi.org/10.1016/j.tripleo.2007.06.011>.
- 341 [9] Harris SA, Harris EA. Molecular Mechanisms for Herpes Simplex Virus Type 1 Pathogenesis in
342 Alzheimer's Disease. *Frontiers in Aging Neuroscience* 2018;10.
343 <https://doi.org/10.3389/fnagi.2018.00048>.
- 344 [10] Streit WJ, Xue Q-S. Human CNS immune senescence and neurodegeneration. *Current Opinion*
345 *in Immunology* 2014;29:93–6. <https://doi.org/10.1016/j.coi.2014.05.005>.
- 346 [11] McManus RM, Heneka MT. Role of neuroinflammation in neurodegeneration: new insights. *Alz*
347 *Res Therapy* 2017;9:14. <https://doi.org/10.1186/s13195-017-0241-2>.
- 348 [12] Itzhaki RF, Lin W-R. Herpes simplex virus type I in brain and the type 4 allele of the
349 apolipoprotein E gene are a combined risk factor for Alzheimer's disease. *Biochemical Society*
350 *Transactions* 1998;26:273–7. <https://doi.org/10.1042/bst0260273>.
- 351 [13] Itzhaki R, Wozniak M. Herpes simplex virus type 1, apolipoprotein E, and cholesterol: A
352 dangerous liaison in Alzheimer's disease and other disorders. *Progress in Lipid Research*
353 2006;45:73–90. <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2005.11.003>.
- 354 [14] Urosevic N, Martins RN. Infection and Alzheimer's Disease: The APOE ϵ 4 Connection and
355 Lipid Metabolism. *Journal of Alzheimer's Disease* 2008;13:421–35.
356 <https://doi.org/10.3233/JAD-2008-13407>.
- 357 [15] Linard M, Letenneur L, Garrigue I, Doize A, Dartigues J-F, Helmer C. Interaction between
358 APOE4 and herpes simplex virus type 1 in Alzheimer's disease. *Alzheimer's Dement*
359 2020;16:200–8. <https://doi.org/10.1002/alz.12008>.
- 360 [16] Readhead B, Haure-Mirande J-V, Funk CC, Richards MA, Shannon P, Haroutunian V, et al.
361 Multiscale Analysis of Independent Alzheimer's Cohorts Finds Disruption of Molecular,
362 Genetic, and Clinical Networks by Human Herpesvirus. *Neuron* 2018;99:64-82.e7.
363 <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2018.05.023>.
- 364 [17] Tsai M-C, Cheng W-L, Sheu J-J, Huang C-C, Shia B-C, Kao L-T, et al. Increased risk of
365 dementia following herpes zoster ophthalmicus. *PLOS ONE* 2017;12:e0188490.
366 <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0188490>.
- 367 [18] Barnes LL, Capuano AW, Aiello AE, Turner AD, Yolken RH, Torrey EF, et al.
368 Cytomegalovirus Infection and Risk of Alzheimer Disease in Older Black and White
369 Individuals. *J Infect Dis* 2015;211:230–7. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiu437>.
- 370 [19] Wozniak MA, Frost AL, Preston CM, Itzhaki RF. Antivirals Reduce the Formation of Key
371 Alzheimer's Disease Molecules in Cell Cultures Acutely Infected with Herpes Simplex Virus
372 Type 1. *PLoS ONE* 2011;6:e25152. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0025152>.
- 373

- 374 [20] Lukiw WJ, Cui JG, Yuan LY, Bhattacharjee PS, Corkern M, Clement C, et al. Acyclovir or
375 A β 42 peptides attenuate HSV-1-induced miRNA-146a levels in human primary brain cells:
376 NeuroReport 2010;21:922–7. <https://doi.org/10.1097/WNR.0b013e32833da51a>.
- 377 [21] Zambrano Á, Solis L, Salvadores N, Cortés M, Lerchundi R, Otth C. Neuronal Cytoskeletal
378 Dynamic Modification and Neurodegeneration Induced by Infection with Herpes Simplex Virus
379 Type 1. Journal of Alzheimer’s Disease 2008;14:259–69. <https://doi.org/10.3233/JAD-2008-14301>.
- 380 [22] Powell-Doherty RD, Abbott ARN, Nelson LA, Bertke AS. Amyloid- β and p-Tau Anti-Threat
381 Response to Herpes Simplex Virus 1 Infection in Primary Adult Murine Hippocampal Neurons.
382 J Virol 2020;94:e01874-19, /jvi/94/9/JVI.01874-19.atom. <https://doi.org/10.1128/JVI.01874-19>.
- 383 [23] Tzeng N-S, Chung C-H, Lin F-H, Chiang C-P, Yeh C-B, Huang S-Y, et al. Anti-herpetic
384 Medications and Reduced Risk of Dementia in Patients with Herpes Simplex Virus Infections—
385 a Nationwide, Population-Based Cohort Study in Taiwan. Neurotherapeutics 2018;15:417–29.
386 <https://doi.org/10.1007/s13311-018-0611-x>.
- 387 [24] Chen VC-H, Wu S-I, Huang K-Y, Yang Y-H, Kuo T-Y, Liang H-Y, et al. Herpes Zoster and
388 Dementia: A Nationwide Population-Based Cohort Study. J Clin Psychiatry 2018;79.
389 <https://doi.org/10.4088/JCP.16m11312>.
- 390 [25] Bae S, Yun S-C, Kim M-C, Yoon W, Lim JS, Lee S-O, et al. Association of herpes zoster with
391 dementia and effect of antiviral therapy on dementia: a population-based cohort study. Eur Arch
392 Psychiatry Clin Neurosci 2020. <https://doi.org/10.1007/s00406-020-01157-4>.
- 393 [26] Lindman KL, Hemmingsson E-S, Brännström J, Josefsson M, Olsson J, Nordström P, et al.
394 Herpesvirus infections, antiviral treatment, and the risk of dementia—a registry-based cohort
395 study in Sweden. Alzheimer’s & Dementia: Translational Research & Clinical Interventions
396 2021;7.
- 397 [27] Bezin J, Duong M, Lassalle R, Droz C, Pariente A, Blin P, et al. The national healthcare system
398 claims databases in France, SNIIRAM and EGB: Powerful tools for pharmacoepidemiology.
399 Pharmacoepidemiol Drug Saf 2017;26:954–62. <https://doi.org/10.1002/pds.4233>.
- 400 [28] Tuppin P, de Roquefeuil L, Weill A, Ricordeau P, Merlière Y. French national health insurance
401 information system and the permanent beneficiaries sample. Revue d’Épidémiologie et de Santé
402 Publique 2010;58:286–90. <https://doi.org/10.1016/j.respe.2010.04.005>.
- 403 [29] Palmaro A, Moulis G, Despas F, Dupouy J, Lapeyre-Mestre M. Overview of drug data within
404 French health insurance databases and implications for pharmacoepidemiological studies.
405 Fundamental & Clinical Pharmacology 2016;30:616–24. <https://doi.org/10.1111/fcp.12214>.
- 406 [30] Kaufman HE, Azcuy AM, Varnell ED, Sloop GD, Thompson HW, Hill JM. HSV-1 DNA in
407 Tears and Saliva of Normal Adults. Investigative Ophthalmology & Visual Science 2005;46:241.
408 <https://doi.org/10.1167/iovs.04-0614>.
- 409 [31] Forbes H, Warne B, Doelken L, Brenner N, Waterboer T, Luben R, et al. Risk factors for herpes
410 simplex virus type-1 infection and reactivation: Cross-sectional studies among EPIC-Norfolk
411 participants. PLoS ONE 2019;14:e0215553. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0215553>.
- 412 [32] World Alzheimer Report 2015, The Global Impact of Dementia: An analysis of prevalence,
413 incidence, cost and trends
- 414 [33] Amieva H, Mokri H, Le Goff M, Meillon C, Jacqmin-Gadda H, Foubert-Samier A, et al.
415 Compensatory mechanisms in higher-educated subjects with Alzheimer’s disease: a study of 20
416 years of cognitive decline. Brain 2014;137:1167–75. <https://doi.org/10.1093/brain/awu035>.
- 417 [34] Bezin J, Bosco-Levy P, Pariente A. False-positive results in pharmacoepidemiology and
418 pharmacovigilance. Therapies 2017;72:415–20. <https://doi.org/10.1016/j.therap.2016.09.020>.
- 419 [35] Alzheimer Disease Genetics Consortium (ADGC), The European Alzheimer’s Disease Initiative
420 (EADI), Cohorts for Heart and Aging Research in Genomic Epidemiology Consortium
421 (CHARGE), Genetic and Environmental Risk in AD/Defining Genetic, Polygenic and
422 Environmental Risk for Alzheimer’s Disease Consortium (GERAD/PERADES), Kunkle BW,
423 Grenier-Boley B, et al. Genetic meta-analysis of diagnosed Alzheimer’s disease identifies new
424 risk loci and implicates A β , tau, immunity and lipid processing. Nature Genetics 2019;51:414–
425 30. <https://doi.org/10.1038/s41588-019-0358-2>.
- 426 [36] Itzhaki RF, Wozniak MA. Herpes Simplex Virus Type 1 in Alzheimer’s Disease: The Enemy
427 Within. Journal of Alzheimer’s Disease 2008;13.
- 428

- 429 [37] Lorette G, Crochard A, Mimaud V, Wolkenstein P, Stalder J-F, El Hasnaoui A. A survey on the
430 prevalence of orofacial herpes in France: The INSTANT Study. *Journal of the American*
431 *Academy of Dermatology* 2006;55:225–32. <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2005.10.014>.
- 432 [38] Malvy D, Ezzedine K, Lançon F, Halioua B, Rezvani A, Bertrais S, et al. Epidemiology of
433 orofacial herpes simplex virus infections in the general population in France: results of the
434 HERPIMAX study. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*
435 2007;21:1398–403. <https://doi.org/10.1111/j.1468-3083.2007.02302.x>.
- 436 [39] Stowe RP, Peek MK, Cutchin MP, Goodwin JS. Reactivation of herpes simplex virus type 1 is
437 associated with cytomegalovirus and age. *Journal of Medical Virology* 2012;84:1797–802.
438 <https://doi.org/10.1002/jmv.23397>.
- 439 [40] Stowe R, Kozlova E, Yetman D, Walling D, Goodwin J, Glaser R. Chronic herpesvirus
440 reactivation occurs in aging. *Experimental Gerontology* 2007;42:563–70.
441 <https://doi.org/10.1016/j.exger.2007.01.005>.
- 442
- 443

444 **Figure and tables**

445 *Figure 1: Flow chart of included subjects*



446
447

448 *Table 1: Characteristics of the study sample according to the intake of systemic antiherpetic drugs.*

449 *"Echantillon Généraliste des Bénéficiaires". 2009-2017.*

	Study sample (N=68291) N (%)	No systemic antiherpetics (N=61649) N (%)	Systemic antiherpetics (N=6642) N (%)
Age at inclusion, mean +/- standard deviation	76 +/- 8	76 +/- 8	74 +/- 6
Sex - Men	28286 (41.42)	25975 (42.13)	2311 (34.79)
Complementary health insurance for low-income people at inclusion	883 (1.29)	799 (1.30)	84 (1.26)
Comorbidities at inclusion			
Hypertension	40471 (59.26)	36400 (59.04)	4071 (61.29)
Diabetes	10584 (15.50)	9668 (15.68)	916 (13.79)
Heart disease	19753 (28.92)	17866 (28.98)	1887 (28.41)
Stroke	1294 (1.89)	1194 (1.94)	100 (1.51)
Hypercholesterolemia	25590 (37.47)	22737 (36.88)	2853 (42.95)
Intake of nonsteroidal anti-inflammatory drugs the year before inclusion			
0	43184 (63.24)	39695 (64.39)	3489 (52.53)
1 à 10	20246 (29.65)	17735 (28.77)	2511 (37.80)
>=10	4861 (7.12)	4219 (6.84)	642 (9.67)
Intake of systemic glucocorticoids the year before inclusion			
0	55301 (80.98)	50385 (81.73)	4916 (74.01)
1 à 10	12081 (17.69)	10465 (16.98)	1615 (24.31)
>=10	910 (1.33)	799 (1.30)	111 (1.67)
Intake of inhaled glucocorticoids the year before inclusion			
0	61175 (89.58)	55429 (89.91)	5746 (86.51)
1 à 10	5730 (8.39)	4975 (8.07)	755 (11.37)
>=10	1386 (2.03)	1245 (2.02)	141 (2.12)
Number of outpatient medical consultations the year before inclusion, median [IQR]	2 [0-6]	2 [0-6]	4 [1-8]
Number of different treatments the year before inclusion, median [IQR]	12 [6-18]	11 [5-18]	15 [9-21]

Abbreviations: IQR interquartile range

450

451

	Study sample N=68291 N (%)	Systemic antiherpetic drugs (N=6642) N (%)
Antiherpetic drugs	9650 (14.13)	
Systemic antiherpetic drugs	6642 (9.73)	6642 (100.00)
J05AB01 Aciclovir	1101 (1.61)	1101 (16.58)
J05AB09 Famciclovir	26 (0.04)	26 (0.39)
J05AB11 Valaciclovir	5879 (8.61)	5879 (88.51)
J05AB14 Valganciclovir	17 (0.02)	17 (0.26)
Number of deliveries during follow-up, median [IQR], p90 and p95		1 [1-2], 7 and 16
Number of deliveries per year of follow-up, median [IQR], p90 and p95		0.12 [0.11-0.33], 1 and 2.3
Nonsystemic antiherpetic drugs	5375 (7.87)	2367 (35.64)
Dermatological application	4903 (7.18)	2067 (31.12)
D06BB03 Aciclovir	4903 (7.18)	2067 (31.12)
Ophthalmological application	615 (0.90)	420 (6.32)
S01AD02 Trifluridine	93 (0.14)	39 (0.59)
S01AD03 Aciclovir	341 (0.50)	267 (4.02)
S01AD09 Ganciclovir	247 (0.36)	167 (2.51)

Abbreviations: IQR interquartile range, p90 90th percentile, p95 95th percentile

454 *Table 3: Association between intake of at least one systemic antiherpetic drugs and incidence of dementia - Cox models. "Echantillon Généraliste des*
 455 *Bénéficiaires". 2009-2017.*

	Events	Adjusted model*		
		aHR	95% CI	p-value
In all the subjects (n= 68291)				
All dementias	8883	0.90	0.82-0.99	0.03
Alzheimer's disease	5366	0.85	0.75-0.96	0.009
Vascular dementia	1784	0.80	0.65-0.995	0.045
After exclusion of immunocompromised subjects, subjects with cancer or with an hospitalization related to herpesviruses (n=52254)				
All dementias	7044	0.84	0.75-0.94	0.002
Alzheimer's disease	4260	0.82	0.71-0.95	0.007
Vascular dementia	1433	0.77	0.60-0.99	0.04
After carrying out a lag-time of one year (n= 68291)				
All dementias	8883	0.86	0.78-0.95	0.004
Alzheimer's disease	5366	0.78	0.68-0.90	0.001
Vascular dementia	1784	0.87	0.69-1.09	0.23
After exclusion of participants with ≥ 2 deliveries of systemic AHDs per year of follow-up (n= 67904)				
All dementias	8856	0.91	0.83-0.997	0.04
Alzheimer's disease	5351	0.85	0.75-0.97	0.01
Vascular dementia	1781	0.83	0.66-1.03	0.09

Abbreviations: aHR adjusted hazard ratios, 95% CI 95% confidence interval, AHD antiherpetic drug

Main analysis on white background and sensitivity analyses on grey background

*Adjustment for age at inclusion, sex, being beneficiary of a complementary health insurance for low-income people at inclusion, hypertension, diabetes, hypercholesterolemia, heart disease, stroke, intake of nonsteroidal anti-inflammatory drugs, systemic or inhaled glucocorticoids the year before inclusion, number of different medications the year before inclusion, number of outpatient medical consultations the year before inclusion

457 **Appendices**

458 *S1 Appendix: Definitions of exposition, incidence of dementia and other variables*

459

460 **Exposition**

461 The ATC codes used to identify the intake of antiherpetic drugs are as follows:

Antiherpetics with systemic action	Antiherpetics for ophthalmological use	Antiherpetics for dermatological use
J05AB01 Aciclovir J05AB02 Idoxuridine J05AB03 Vidarabine J05AB06 Ganciclovir J05AB09 Famciclovir J05AB11 Valaciclovir J05AB12 Cidofovir J05AB13 Penciclovir J05AB14 Valganciclovir J05AB15 Brivudine J05AC03 Tromantadine J05AD01 Foscarnet J05AD02 Fosfonet	S01AD01 Idoxuridine S01AD02 Trifluridine S01AD03 Aciclovir S01AD07 Famciclovir S01AD09 Ganciclovir	D06BB02 Tromantadine D06BB03 Aciclovir D06BB08 Ibacitabine D06BB11 Docosanol

462

463 The ICD-10 codes used to identify the occurrence of a hospitalization related to HSV, CMV or VZV
464 infections are as follows:

465 - Hospitalization related to HSV

466 ○ (B00) Infections with the herpes virus (herpes simplex)

467 ■ (B00.0) Herpetic eczema

468 ■ (B00.1) Vesicular dermatitis due to the herpes virus

469 ■ (B00.2) Gingivostomatitis and pharyngotonsillitis due to the herpes virus

470 ■ (B00.3) Meningitis due to the herpes virus

471 ■ (B00.4) Encephalitis due to the herpes virus

472 ■ (B00.5) Eye disorders caused by the herpes virus

473 ■ (B00.7) Disseminated disease caused by the herpes virus

474 ■ (B00.8) Other forms of infection due to the herpes virus

475 ■ (B00.9) Infection due to the herpes virus, unspecified

476 ○ (A60) Anogenital infection with the herpes virus (herpes simplex)

- 477 ▪ (A60.0) Infection of the genitals and genitourinary system with the herpes
478 virus
- 479 ▪ (A60.1) Infection of the cutaneous margin of the anus and rectum, by the
480 herpes virus
- 481 ▪ (A60.9) Anogenital infection with the herpes virus, unspecified
- 482 - Hospitalization in connection with other herpesviruses
- 483 ○ VZV
- 484 ▪ (B01) Chickenpox
- 485 ▪ (B02) Shingles
- 486 ○ CMV
- 487 ▪ (B20.2) HIV disease causing cytomegalovirus infections
- 488 ▪ (B25) Cytomegalovirus disease
- 489 • (B25.0) Cytomegalovirus pneumonia
- 490 • (B25.1) Cytomegalovirus hepatitis
- 491 • (B25.2) Cytomegalovirus pancreatitis
- 492 • (B25.8) Other cytomegalovirus diseases
- 493 • (B25.9) Cytomegalovirus disease, unspecified
- 494
- 495

496 **Incidence of dementia**

497 The following criteria were used for the identification of prevalent and incident dementias:

	Dementia from any cause	Alzheimer's disease	Vascular dementia
Hospitalizations with ICD10 codes	F0, G30, F01, F02, F03, G31, G32	F0 G30	F01
Long-term disease related to dementia	LTD n° 15 "Alzheimer's disease and other dementias" + ICD10 codes: F0, G30, F01, F02, F03, G31, G32	LTD n° 15 + ICD10 codes F0, G30	LTD n° 15 + ICD10 codes F01
ATC codes for anti-dementia drugs	Anti-cholinesterase drugs N06DA02 N06DA03 N06DA04 Memantine N06DX01 Their association N06DA52 N06DA53		None

498

499 With ICD10 codes corresponding to:

- 500 - (F00.0) Dementia in Alzheimer's disease, early onset
- 501 - (F00.1) Dementia in Alzheimer's disease, late onset
- 502 - (F00.2) Dementia in Alzheimer's disease, atypical or mixed form
- 503 - (F00.9) Dementia in Alzheimer's disease, unspecified
- 504 - (G30 [archive]) Alzheimer's disease
- 505 - (F01.0) Acute onset vascular dementia
- 506 - (F01.1) Vascular dementia due to multiple infarctions
- 507 - (F01.2) Subcortical vascular dementia
- 508 - (F01.3) Mixed vascular dementia, cortical and subcortical
- 509 - (F01.8) Other forms of vascular dementia
- 510 - (F01.9) Vascular dementia, unspecified
- 511 - (F02.0) Dementia in Pick's disease
- 512 - (F02.1) Dementia in Creutzfeldt-Jakob disease
- 513 - (F02.2) Dementia in Huntington's disease
- 514 - (F02.3) Dementia in Parkinson's disease
- 515 - (F02.4) Dementia due to human immunodeficiency virus (HIV) disease
- 516 - (F02.8) Dementia in other diseases classified elsewhere
- 517 - (F03) Dementia, unspecified

518 - (G31 [archive]) Other degenerative disorders of the nervous system, not elsewhere classified
 519 - (G32 [archive]) Other degenerative disorders of the nervous system in disorders classified
 520 elsewhere

521
 522 **Adjustment variables**

523 The presence of comorbidities was defined considering either the declaration of a long-term disease
 524 (LTD) before inclusion or the intake of medications the year before inclusion as following:

	Declaration of a long-term disease	Intake of medication with the following ATC codes
Hypertension	LTD N°12 “Severe hypertension”	Anti-hypertensives C02 C03 C07 C08 C09
Diabetes	LTD N°8 “Type 1 and type 2 diabetes”	Anti-diabetics A10
Stroke	LTD N°1 “Disabling stroke”	
Heart disease	LTD N°3 “Chronic arteriopathies with ischemic manifestations” ± LTD N°13 “Coronary disease” ± LTD N°5 “Severe heart failure, severe arrhythmia, severe valvular heart disease, severe congenital heart disease”	Antiplatelet drugs B01AC
Hypercholesterolemia		Lipid-lowering C10AA C10B C10AB

525
 526 The ATC codes considered for the identification of taking anti-inflammatory drugs the year before
 527 inclusion were the following: M01A MO1B for nonsteroidal anti-inflammatory drugs, H02AB H02B
 528 M01BA for systemic glucocorticoids, R03BA R03AL09 R03AK06 R03AK07 R03AK08 R03AK09
 529 R03AK10 R03AK11 R03AK12 R03AK13 for inhaled glucocorticoids. Then, categorical variables
 530 were created to differentiate i) no intake, ii) non-regular intake or iii) regular intake defined as ≥ 10
 531 deliveries in the year preceding inclusion.

532
 533 The number of different medications (defined by their ATC codes) before inclusion and the number of
 534 medical consultations before inclusion were defined as categorical variables using terciles (0, 1-3, 3-6,
 535 ≥ 6 consultations and 0, 1-9, 9-15 and ≥ 15 different medications).

536

537 **Variables used in sensitivity analyses**

538

539 The following variables (identified before inclusion or during follow-up) were used to perform

540 sensitivity analyses:

	Declaration of a long-term disease	Intake of medication with the following ATC codes
Immunocompromised subjects	- LTD N°2 “Bone marrow failure and other chronic cytopenias” with ICD10 codes associated with medullar aplasia or myelodysplastic syndromes - LTD N° 7 “Severe primary immune deficiency requiring prolonged treatment, infection with human immunodeficiency virus” - LTD N°28 “Organ transplant suite”	- HIV treatments: J05AR J05AE J05AF J05AG - Immunosuppressants or immunomodulators: L03 L04
Subjects with cancer	- LTD N° 30 “Cancer”	

541

542

3.3.2 Résultats complémentaires

3.3.2.1 Critères ayant permis l'identification des cas de démences

Lors de nos analyses, les sujets étaient considérés comme déments s'ils présentaient au moins l'un des 3 critères suivants (Tableau 14) :

- Une hospitalisation dans un service de médecine ou de chirurgie avec un diagnostic principal, relié ou associé en lien avec la démence toute cause, la maladie d'Alzheimer ou la démence vasculaire.
- Une déclaration d'ALD en lien avec la démence toute cause, la maladie d'Alzheimer ou la démence vasculaire.
- Un remboursement d'un traitement anti-déméntiel (anti-cholinestérasiques, Mémantine ou leur association), uniquement pour l'identification des cas de démence toute cause ou de maladie d'Alzheimer.

Les tableaux 26 et 27 présentent les proportions de sujets identifiés pour ces 3 critères. On constate ainsi que :

- Concernant la démence toute cause, 16,3% des déments identifiés présentaient les 3 critères, 25,5% présentaient 2 critères et 58,1% seulement un critère (43,0% une hospitalisation, 10,0% une ALD et 5,1% un traitement). Ainsi, près de la moitié des déments identifiés avaient au moins 2 sources de données en faveur du diagnostic de démence, gage d'une certaine qualité dans l'identification de cas. A noter qu'une part importante des cas identifiés reposait uniquement sur les informations issues des séjours hospitaliers (quelle que soit la cause de l'hospitalisation) permettant ainsi de « récupérer » des sujets déments sans prise en charge spécifique de leurs troubles cognitifs (traitement anti-déméntiel ou ALD en rapport).
- Concernant les sujets identifiés comme ayant une maladie d'Alzheimer, 18,1% présentaient les 3 critères, 28,9% présentaient 2 critères et 53,0% seulement un critère (25,9% une hospitalisation, 17,2% un traitement, 9,8% une ALD). Comme pour la démence toute cause, près de la moitié des sujets avaient au moins deux sources de données permettant de les identifier comme ayant une maladie d'Alzheimer. A noter que 17,2% des sujets étaient identifiés uniquement sur le remboursement d'un

traitement anti-déméntiel. Le déremboursement de ce type de traitement depuis 2018 va donc avoir un certain impact sur les futures capacités d'identification des malades dans les bases médico-administratives.

- Concernant les sujets identifiés comme ayant une démence vasculaire, seuls 5,7% présentaient 2 critères et 94,3% n'avaient qu'un seul critère (77,1% une hospitalisation, 17,2% une ald). La faible proportion de sujets sous ALD spécifiquement pour une démence vasculaire reflète probablement la tendance à ne pas déclarer plusieurs ALD si le patient bénéficie déjà d'une prise en charge à 100% des traitements nécessaires dans le cadre d'autres ALD comme par exemple l'hypertension sévère ou le diabète.

Tableau 26 : Critères ayant permis l'identification des cas de démence dans l'Echantillon Généraliste des Bénéficiaires

	Total N= 68 291 N (%)
Démences incidentes	8883 (13,01)
ALD15 associée à une démence (toute cause)	3914 (5,73)
Hospitalisation en MCOO avec un diagnostic relié à une démence (toute cause)	6960 (10,19)
Traitement anti-démenceiel	3181 (4,66)
Maladies d'Alzheimer incidentes	5366 (7,86)
ALD15 associée à la maladie d'Alzheimer	2382 (3,49)
Hospitalisation en MCOO avec un diagnostic relié à la maladie d'Alzheimer	3301 (4,83)
Traitement anti-démenceiel	3181 (4,66)
Démences vasculaires incidentes	1784 (2,61)
ALD15 associée à la démence vasculaire	409 (0,60)
Hospitalisation en MCOO avec un diagnostic relié à la démence vasculaire	1477 (2,16)

Tableau 27 : Critères ayant permis l'identification des cas de démence dans l'Echantillon Généraliste des Bénéficiaires (2)

Démences toute cause		ALD +	ALD -
Hospitalisation +	Traitement +	1452	690
	Traitement -	996	3822
Hospitalisation -	Traitement +	582	457
	Traitement -	884	59408

Maladie d'Alzheimer		ALD +	ALD -
Hospitalisation +	Traitement +	974	667
	Traitement -	268	1392
Hospitalisation -	Traitement +	615	925
	Traitement -	525	62925

Démence vasculaire		ALD +	ALD -
Hospitalisation +		102	1375
Hospitalisation -		307	66507

3.3.2.2 Autres analyses évaluant l'association entre prise de traitement anti-herpétique et incidence de la démence

Etant donné que leur passage systémique est considéré comme quasi inexistant, les traitements anti-herpétiques à application ophtalmique ou dermatologique ont été considérés uniquement dans le cadre d'analyses secondaires. Les résultats des modèles de Cox, ajustés sur les variables présentées précédemment ainsi que sur le fait de prendre un traitement anti-herpétique systémique (variable dépendante du temps) sont présentés dans le tableau 28. Dans l'échantillon principal, une association significative en faveur d'un effet protecteur du traitement n'était retrouvée que pour la démence toutes causes tandis qu'aucune association n'était retrouvée dans le cas de la maladie d'Alzheimer ou de la démence vasculaire. Cependant, après exclusion des sujets immunodéprimés, présentant un cancer ou ayant subi une hospitalisation en lien avec une infection à Herpès virus, cette association n'était plus significative (p-value limite à 0,06). Nous n'avons pas trouvé d'interprétation claire à ces résultats.

Enfin, des modèles ont également été réalisés pour tester l'impact d'un traitement plus régulier. Néanmoins, étant donné la très faible proportion de sujets avec un traitement « régulier » et la présence d'interactions avec le temps dans les modèles utilisés, ces analyses n'ont pas été jugées pertinentes pour publication. A titre d'exemple, parmi les 68 291 sujets de notre échantillon, seuls 87 cas de démence (sur 8883) et 45 cas de maladie d'Alzheimer (sur 5366) étaient retrouvés dans la catégorie de sujets ayant eu au moins 3 délivrances au cours du suivi. Les résultats de ces modèles sont néanmoins disponibles dans le tableau 29.

Tableau 28 : Association entre la prise d'au moins un traitement anti-herpétique non systémique et l'incidence de la démence - Modèles de Cox. Echantillon Généraliste des Bénéficiaires. 2009-2017.

	Nombre d'évènements	Modèle ajusté *			Nombre d'évènements	Modèle ajusté*		
		HRa	IC 95%	p-value		(après exclusion des sujets immunodéprimés, avec un cancer ou une hospitalisation en lien avec une infection à Herpès virus)		
		(n=68 291)				(n=52 257)		
		HRa	IC 95%	p-value		HRa	IC 95%	p-value
Démence toutes causes	8883	0,89	0,81-0,99	0,03	7044	0,89	0,79-1,004	0,06
Maladie d'Alzheimer	5366	0,97	0,85-1,11	0,68	4260	0,95	0,81-1,10	0,48
Démence vasculaire	1784	0,89	0,70-1,12	0,30	1433	0,90	0,69-1,18	0,45

Abréviations: HRa hazard ratios ajustés, IC 95% intervalle de confiance à 95%

*Ajustement sur la prise d'un traitement anti-herpétique systémique (variable dépendante du temps), l'âge d'inclusion, le sexe, la CMU-c, l'hypertension, le diabète, l'hypercholestérolémie, les antécédents cardiaques ou d'accident vasculaire cérébral, la prise d'anti-inflammatoires non stéroïdiens, de glucocorticoïdes systémiques ou inhalés, le nombre de consultations médicales et le nombre de traitements différents pris l'année précédent l'inclusion

Tableau 29 : Association entre la prise d'au moins 2 ou 3 délivrances d'anti-herpétiques systémiques et incidence de la démence. Modèle de Cox. Echantillon généraliste des bénéficiaires. 2009-2017.

	Modèle ajusté* (n=68291)				
	Nombre d'évènement	HRa	IC à 95%	p-value	Interaction avec le temps
Au moins 2 délivrances d'anti-herpétiques systémiques durant le suivi					
Toute démence	8883			<0,0001	<0,0001
1 délivrance durant le suivi	362	0,94	0,84-1,04	0,24	Non
≥ 2 délivrances durant le suivi	147	0,64	0,54-0,75	<0,0001	<0,0001
Alzheimer	5366			<0,0001	0,0005
1 délivrance durant le suivi	197	0,9	0,78-1,04	0,16	Non
≥ 2 délivrances durant le suivi	75	0,55	0,44-0,69	<0,0001	0,0001
Au moins 3 délivrances d'anti-herpétiques systémiques durant le suivi					
Toute démence	8883			0,08	0,04
1-2 délivrance durant le suivi	422	0,91	0,83-1,06	0,07	Non
≥ 3 délivrances durant le suivi	87	0,86	0,70-1,07	0,17	0,01
Alzheimer	5366			0,03	0,07
1-2 délivrance durant le suivi	227	0,86	0,76-0,99	0,03	Non
≥ 3 délivrances durant le suivi	45	0,78	0,58-1,05	0,10	0,03

Abréviations: HRa hazard ratios ajustés, IC 95% intervalle de confiance à 95%

*Ajustement sur l'âge d'inclusion, le sexe, la CMU-c, l'hypertension, le diabète, l'hypercholestérolémie, les antécédents cardiaques ou d'accident vasculaire cérébral, la prise d'anti-inflammatoires non stéroïdiens, de glucocorticoïdes systémiques ou inhalés, le nombre de consultations médicales et le nombre de traitements différents pris l'année précédent l'inclusion

NB : Les analyses n'ont pas été réalisées pour les démences vasculaires car seulement 26 démences vasculaires si ≥ 2 délivrances et 13 si ≥ 3 délivrances.

4. Discussion globale et perspectives

4.1 Plausibilité de l'hypothèse infectieuse ?

4.1.1 Virus HSV-1 et maladie d'Alzheimer

Comme nous l'avons discuté dans les parties précédentes, le rationnel physiopathologique impliquant le virus HSV-1 dans le développement de la maladie d'Alzheimer dispose d'un faisceau d'arguments issus de disciplines variées. Néanmoins, des lacunes sont encore à combler pour évaluer la plausibilité de cette hypothèse et - peut-être - convaincre à la fois la communauté scientifique et le grand public.

Nous ferons ici un état des lieux succinct des connaissances et lacunes en lien avec cette hypothèse (en y intégrant nos propres résultats) et proposerons des pistes de recherche en rapport.

4.1.1.1 Les études in vitro et chez l'animal

Les études in vitro et chez l'animal ont apporté de nombreux arguments en faveur de l'implication d'HSV-1 dans la maladie d'Alzheimer.

Elles ont mis en évidence la capacité d'HSV-1 à migrer au niveau du système nerveux central après une inoculation périphérique. Elles ont également montré qu'il était possible d'induire les principales lésions associées à la maladie d'Alzheimer (qu'il s'agisse des pathologies amyloïdes, tau, de neuroinflammation ou d'atteinte neuronale) suite à l'inoculation du virus in vitro et chez l'animal. Enfin - et surtout ! - elles ont proposé une explication physiopathologique quant à l'accumulation de peptides amyloïdes soulignant son potentiel rôle dans la protection face aux agressions du système nerveux central et en particulier son rôle antimicrobien.

De plus, ces études - issues de différents groupes de recherches - semblent retrouver des résultats assez cohérents (tout au moins pour un œil d'épidémiologiste). Ainsi, même si on ne peut écarter un biais de publication (les études négatives sont-elles inexistantes ou non publiées ?), elles semblent être une pierre angulaire de l'hypothèse infectieuse.

A noter néanmoins i) que les études sur modèle animal restent encore trop peu nombreuses, ii) que le rôle que joueraient les protéines Tau et ApoE dans l'hypothèse infectieuse est encore mal compris et iii) qu'il reste encore beaucoup à comprendre concernant les interactions entre le

virus, les neurones et le système immunitaire (par exemple, quels sont les effets précis de l'immunosénescence sur l'infection latente ?, quelle est la cause exacte de la mort neuronale ? ...) pour permettre d'expliquer les différentes caractéristiques de la maladie et éventuellement identifier de nouvelles cibles thérapeutiques.

4.1.1.2 **Les études sur échantillons de cerveaux post-mortem**

Quant à elles, les études sur échantillons de cerveaux ont été pionnières dans la réflexion sur l'implication du virus HSV-1 dans la maladie d'Alzheimer. Elles ont ainsi permis d'affirmer que le virus HSV-1 pouvait être retrouvé dans le cerveau des sujets âgés. Cependant, une question primordiale reste en suspens : chez quelle proportion de la population âgée?

En effet, comme nous l'avons vu précédemment, il existe une grande variabilité inter-étude concernant le pourcentage de sujets chez qui l'ADN du virus HSV-1 était retrouvé au niveau cérébral. Un premier groupe d'études retrouvait des taux de positivité élevés variant de 50 à 100%, chez les sujets atteints comme chez les contrôles, tandis qu'un deuxième groupe d'études retrouvait des taux beaucoup plus faibles variant de 2 à 10% chez les sujets atteints et de 7% à 30% chez les sujets contrôles. Si certaines discordances méthodologiques ont été identifiées et pourraient fournir une explication plausible quant aux faibles proportions retrouvées par le deuxième groupe d'études, de plus amples explorations - notamment par des groupes de chercheurs différents (6 études « fortement » positives sur 8 proviennent du même groupe de recherche) – semblent primordiales pour évaluer la plausibilité de l'hypothèse infectieuse. En effet, des taux de positivité trop faibles rendraient peu probables l'implication du virus (tout au moins comme acteur majeur) dans le processus physiopathologique de la maladie d'Alzheimer.

De nouvelles études sur échantillons de cerveaux permettraient également de tenter de répliquer l'un des résultats « phares » de l'hypothèse infectieuse : la co-localisation de l'ADN d'HSV-1 et des plaques amyloïdes, mise en évidence par Wozniak et al (178) grâce à une technique de PCR in situ. Et peut-être d'étendre ces résultats aux lésions Tau ? De plus, seule une étude (183) a pour l'instant évalué l'association entre sérologies herpétiques et présence de dépôts intracérébraux amyloïdes et tau sur échantillons de cerveaux. Répliquer cette étude en y ajoutant des données concernant notamment la présence d'ADN viral au niveau cérébral ainsi que le

type de souche virale impliquée permettrait peut-être un pas supplémentaire dans la compréhension.

Des moyens plus innovants pourraient également être utilisés. Parmi ceux-ci, on peut citer les études basées sur des données transcriptomiques – à l’image des données publiées par Readhead et al (188) – ayant pour avantage de ne pas étudier un seul virus à la fois. Enfin, il existe des techniques d’imagerie nucléaire ante-mortem permettant de détecter le virus HSV-1 lorsqu’il est en phase de réplication (391–393). Ces techniques, développées initialement dans le cadre de thérapies anti-cancéreuses, sont en cours d’évaluation chez 36 patients MA ou MCI inclus dans un essai clinique suédois (NCT02997982). Ceci permettra notamment de vérifier si le traceur TEP utilisé passe la barrière hémato-encéphalique dans ce type de population.

Deux autres questions restent également sans réponse :

- Par quelle voie de propagation le virus parvient-t-il au niveau du système nerveux central ?

L’utilisation de techniques d’imagerie pourrait-elle permettre d’apporter des arguments quant à la voie de propagation du virus en identifiant des lésions précoces sur certains faisceaux (ex : voie olfactive) ? L’exploration d’autres voies de propagation (par exemple oculaire) permettrait-elle d’expliquer des phénotypes « atypiques » de la maladie d’Alzheimer ?

- A partir de quel âge le virus est-il présent dans le système nerveux central ?

A l’heure actuelle, à notre connaissance, seules deux études de très petite taille ont été réalisées chez des sujets « jeunes ». L’une ne retrouvait pas d’ADN du virus HSV-1 dans des échantillons de cerveaux de 9 sujets de moins de 65 ans (172) et l’autre ne retrouvait pas de synthèse intrathécale d’anticorps anti-HSV dans le LCS de 4 enfants (180). De nouvelles études impliquant des sujets jeunes permettrait d’améliorer la compréhension de la séquence temporelle de la maladie et notamment i) de vérifier que le virus migre au niveau du cerveau *avant* l’apparition des lésions de la maladie et ii) de préciser à partir de quand d’éventuelles actions de prévention pourraient être mises en place.

4.1.1.3 **Les études chez l'homme en ante-mortem**

Enfin, les études réalisées chez l'homme en ante-mortem n'ont jusqu'à présent pas permis de conclure de façon formelle à une association entre l'infection HSV-1 et différents marqueurs de la maladie d'Alzheimer.

Comme nous l'avons décrit précédemment, si une vingtaine d'études épidémiologiques ont évalué l'association entre statut sérologique HSV et déclin cognitif ou survenue d'une démence, elles sont de qualité variable regroupant de nombreuses études cas-témoins sur petits effectifs et ayant peu fréquemment pris en compte l'existence de facteurs de confusion autres que les caractéristiques sociodémographiques ou l'existence de facteurs modificateurs d'effet (semblant pourtant essentiels pour que l'hypothèse infectieuse soit plausible). Enfin, si certaines études avaient analysé la corrélation entre statut sérologique et volume de matière grise chez des sujets MA, aucune étude n'avait évalué jusqu'à présent l'association entre infection HSV-1 et les marqueurs de la maladie en imagerie cérébrale.

A cet égard, nos travaux sur les cohortes 3C et AMI et sur l'essai MAPT présentent plusieurs points forts : un recueil de données prospectif, un suivi relativement long pour 3C et AMI, des données à la fois sociodémographiques, médicales et génétiques permettant un ajustement sur les principaux facteurs de confusion possibles et l'étude d'une possible modulation de l'effet du virus par le gène APOE4. Enfin, nos résultats sont les premiers ayant étudié l'association entre statut sérologique HSV et i) le volume hippocampique, ii) l'intégrité de la substance blanche au niveau du cingulum et du fornix para-hippocampiques et iii) la charge amyloïde intracérébrale mesurée par TEP amyloïde.

Certaines limites de nos travaux actuels mettent également en lumière des pistes d'amélioration pour de futures recherches :

- Malgré la mise en commun de données de deux cohortes, les analyses sur données d'imagerie sont réalisées sur des échantillons relativement petits, en particulier pour les analyses stratifiées sur le statut APOE4. La réplication de ce type d'analyses dans d'autres cohortes serait souhaitable pour permettre la réalisation d'une méta-analyse.
- Bien qu'une grande attention ait été portée au diagnostic de démence dans les cohortes 3C et AMI, il s'agit de diagnostics principalement cliniques ne permettant pas

l'utilisation des nouveaux critères diagnostiques basés sur la détermination du statut A/T/N (Amyloïde/Tau/Neurodégénération). L'obtention de ce type de biomarqueurs (dans le sang, le LCS et/ou par imagerie) permettrait d'améliorer la précision du diagnostic étiologique et également de compléter les données des rares études ayant étudié l'association entre ces biomarqueurs et l'infection HSV-1, en particulier pour les données Tau.

- Les sérologies herpétiques présentent également des limites, notamment pour l'identification des sujets réactivant de manière plus fréquente. D'une part, si les résultats obtenus chez les patients ayant eu une sérologie à deux reprises dans 3C semblent indiquer que le dosage ponctuel des IgM identifie des sujets ayant bien tendance à réactiver plus fréquemment que les autres, les réactivations ne sont pas systématiquement associées à la production d'IgM (comme en témoignent les faibles prévalences retrouvées dans nos différents échantillons) et ceux-ci ne sont donc pas un reflet idéal de la fréquence de réactivation des sujets. D'autre part, l'interprétation du taux d'IgG reste complexe car pouvant refléter à la fois l'intensité de l'infection par le virus HSV et l'intensité de la réaction immunitaire à son encontre. Des prélèvements réguliers de salive et/ou de larmes couplés à une détection de l'ADN viral permettraient de mieux déterminer la fréquence de réactivations (et les facteurs qui lui sont associés) et potentiellement d'obtenir des informations sur la charge virale et la souche virale impliquée. Enfin, les sérologies plasmatiques présentent également une autre limite : elles n'apportent pas d'information sur la présence du virus au niveau cérébral et sur sa capacité à s'y réactiver. L'utilisation de sérologies intrathécales pourrait en partie répondre à cette question. De nouveaux biomarqueurs actuellement à l'étude, les vésicules extracellulaires d'origine neuronale (394,395), pourraient-ils permettre de détecter la présence du virus au niveau du système nerveux central en ante-mortem ?
- Enfin, si nos études ont permis d'étudier spécifiquement l'effet modulateur d'APOE4 (facteur identifié a priori dans la littérature), elles n'ont pas pris en compte toute la complexité des facteurs potentiellement impliqués dans la maladie et pouvant moduler l'effet de l'infection sur le cerveau. Afin de mieux refléter l'origine multifactorielle de la maladie, il s'agirait de prendre en compte de très nombreux facteurs qu'ils soient génétiques ou environnementaux, liés aux caractéristiques intrinsèques du virus (souche

virale, charge virale) ou aux facteurs influant sur sa capacité de réactivation (génétique, statut immunitaire, nutrition...). L'implication d'autres pathogènes (de façon indépendante ou combinée à celle d'HSV-1) semble également importante à explorer.

Face à ces défis, différents projets de recherche sont prévus dans la suite de cette thèse.

A court terme, certaines données préexistantes ou récemment dosées seront utilisées dans les cohortes 3C et AMI. Nous sommes par exemple en train de travailler sur un score génétique incluant des facteurs de risque impliqués dans la maladie d'Alzheimer et l'infection HSV-1 grâce aux données GWAS de la cohorte 3C. Son objectif sera d'affiner les analyses précédemment réalisées afin de tenter d'identifier d'autres facteurs de susceptibilité génétiques notamment chez les sujets non porteurs de l'APOE4. Nous projetons également de tenter d'utiliser les données des fréquentiels alimentaires disponibles à plusieurs temps dans 3C pour tenter d'étudier certains aliments identifiés dans la littérature comme « anti-herpétiques ». Enfin, certains marqueurs inflammatoires récemment dosés dans la cohorte 3C et des données sur la longueur des télomères des leucocytes (potentiel reflet de l'immunosénescence) dans la cohorte AMI nous permettront peut-être de mieux prendre en compte le statut immunitaire des participants dans de futures analyses.

A noter qu'une collaboration naissante avec une équipe finlandaise (disposant de sérologies herpétiques et de données d'incidence de la maladie d'Alzheimer) devrait également nous permettre de répliquer les analyses précédemment publiées sur l'interaction avec APOE4 mais également celles à venir sur le score génétique et l'analyse de la longueur des télomères. De plus, dans cette même cohorte, l'accès à des sérologies concernant le virus CMV nous permettrait de tester l'interaction retrouvée par Lövheim et al (343) entre les virus HSV et CMV concernant l'incidence de la maladie d'Alzheimer.

A moyen terme, un financement ANR, obtenu par Catherine Helmer, va permettre la mise en place d'une technologie innovante, le VirScan (396), au centre hospitalo-universitaire de Bordeaux. Le VirScan permet la détection d'anticorps dirigés contre 206 espèces virales et plus de 1000 souches différentes. Celui-ci sera réalisé sur des échantillons sanguins d'environ 1300 participants de la cohorte 3C et 500 participants de la future cohorte B³ (Biobank and Brain

health in Bordeaux). Il nous permettra ainsi d'évaluer l'impact potentiel de différents virus ou souches virales (y compris différentes souches d'HSV-1) sur le développement de la maladie d'Alzheimer et également d'étudier de possibles interactions entre virus.

La mise en place de la nouvelle cohorte B³ qui prévoit d'inclure, à partir de mi-2021, un échantillon de 2000 seniors de 55 à 80 ans de la population générale, pourrait également être l'occasion de pallier certaines des limites évoquées ci-dessus concernant notamment la fréquence des réactivations et la réaction immunitaire (incluant à la fois l'étude de marqueurs d'immunosénescence et de neuroinflammation), en enrichissant dès l'inclusion le recueil de ces données sur des sous-échantillons de cette cohorte. De plus, certains examens d'imagerie permettant d'étudier la neuroinflammation sont d'ores et déjà prévus pour un sous-échantillon des participants.

Enfin, nous espérons également étendre notre travail sur l'hypothèse infectieuse à d'autres pathologies....

4.1.2 Vers une vision plus globale ?

En effet, les futurs arguments concernant l'hypothèse infectieuse pourraient-ils venir « d'ailleurs » ? Pas de planètes éloignées... mais de pathologies apparentées (ex : démence fronto-temporale, démence à corps de Lewy, maladie de Parkinson...) ! Une hypothèse idéale ne serait-elle pas celle capable d'intégrer dans une même vision des pathologies présentant de telles similarités (perte neuronale, dépôts anormaux, début à un âge avancé, neuroinflammation...) ? Différents types de pathogènes pourraient-ils être responsables de l'existence de dépôts protéiques de différentes natures et de leur cooccurrence chez un même sujet ? Différentes portes d'entrée pourraient-elles expliquer la diversité des symptomatologies retrouvées (et donc la topographie des atteintes sous-jacentes) ?

Plusieurs arguments semblent en faveur de l'implication d'agents infectieux dans d'autres maladies neurodégénératives. Nous en citerons ici deux exemples :

- D'autres types de dépôts protéiques impliqués dans les maladies neurodégénératives semblent eux aussi avoir un rôle antimicrobien et antioxydant. Ainsi, les peptides antimicrobiens et l'alpha-synucléine (protéine impliquée notamment dans la maladie de Parkinson ou la démence à corps de Lewy) présentent de nombreuses similarités aussi bien sur le plan structurel (397–399) que fonctionnel. Comme le peptide $\alpha\beta$, son expression peut être induite – in vitro comme chez l'homme - par différents types d'infections (400–404). Des études in vitro et chez l'animal ont mis en évidence qu'elle possédait un rôle antimicrobien à l'encontre de différents virus, bactéries et champignons (401,405,406) et un rôle immunomodulateur (402–404,407–410). A noter également que, de manière intéressante, il semble que la protéine prion, PRNP, possède aussi de fortes similarités avec les peptides antimicrobiens (revu dans (411)).
- Différents symptômes d'apparition précoce pourraient orienter vers une porte d'entrée potentielle de pathogènes. On peut notamment citer la perte d'odorat ou la constipation dans la démence à corps de Lewy ou la maladie de Parkinson ou les symptômes urinaires dans l'atrophie multi-systématisée (autre pathologie impliquant l'alpha-synucléine).

Afin d'investiguer cette hypothèse, une revue de littérature est en cours de rédaction sur le lien entre infections et alpha-synucléinopathies³⁵ et nous avons déposé une demande de financement pour permettre la réalisation du VirScan dans une cohorte de sujets atteints de démence à corps de Lewy, la cohorte AlphaLewyMA (412).

4.2 Qu'en est-il enfin des potentielles implications thérapeutiques ?

Il n'existe actuellement pas de vaccin commercialisé contre le virus HSV-1 mais différents essais chez l'animal ou chez l'homme sont en cours (413,414). On peut notamment noter qu'un vaccin à l'étude a permis de diminuer la proportion de souris chez qui l'ADN d'HSV-1 était retrouvé au niveau du cerveau (versus souris contrôles) (415,416).

³⁵ Revue de littérature réalisée dans le cadre de ma participation au DIU Diagnostic et prise en charge de la maladie d'Alzheimer et des maladies apparentées à l'université de Lille.

Ainsi, en attendant le développement d'un vaccin, la prévention est donc basée uniquement sur la prise de traitements antiviraux qui, s'ils ne permettent pas d'éliminer le virus, empêchent la réactivation de celui-ci.

Quelles seraient les risques relatifs à leur utilisation dans le cadre de la maladie d'Alzheimer ?

Le Valaciclovir est le plus étudié étant donné son profil d'efficacité et de biodisponibilité. Celui-ci a l'avantage d'être peu cher (ex : moins d'un euro pour un comprimé de 500 mg de Valaciclovir) et bien toléré du fait de sa capacité à « cibler » les cellules infectées³⁶. Des études de pharmacovigilance ainsi que différents essais cliniques ont de plus permis de s'assurer de sa bonne tolérance, y compris lors d'une prise prolongée (417–420). Actuellement, il n'existe pas de contre-indication formelle à son utilisation mais des précautions doivent être prises en cas d'insuffisance rénale ou de risque de déshydratation. En effet, rarement, des complications à type de neurotoxicité sont observées chez les sujets présentant une insuffisance rénale (419).

Que sait-on de leur efficacité présumée sur la maladie d'Alzheimer ?

Premièrement, le Valaciclovir est capable de franchir la barrière hémato-encéphalique, y compris chez des sujets ne présentant pas d'anomalies de cette dernière (421).

Deuxièmement, comme nous l'avons discuté précédemment, différentes études in vitro ont mis en évidence une diminution de l'apparition des lésions amyloïdes et tau induites par le virus HSV-1 lors de l'ajout d'un traitement antiviral (différentes molécules testées) (238,244,276,290,422). Néanmoins, si l'inhibition de la réactivation virale semble ainsi pouvoir limiter la propagation du virus et prévenir en partie la formation des marqueurs de la maladie d'Alzheimer, les traitements pourraient ne pas avoir une efficacité complète si la présence du virus à l'état latent et/ou l'inflammation à son encontre suffisent à l'apparition des lésions de la maladie (423). Enfin, à ma connaissance, aucune étude n'a été réalisée à ce jour chez l'animal. Chez l'homme, plusieurs études basées sur des données médico-administratives (389,390) (incluant nos résultats sur l'Echantillon Généraliste des Bénéficiaires) ont suggéré une diminution du risque de démence chez les sujets traités par anti-herpétiques systémiques. Néanmoins, si ces sources de données bénéficient d'une taille d'échantillon et d'un suivi

³⁶ Comme vu précédemment, afin d'être efficaces, l'aciclovir et le valaciclovir ont besoin d'être préalablement phosphorylés par une enzyme d'origine virale retrouvée uniquement au niveau des cellules infectées.

intéressants, elles présentent de nombreuses limites précédemment discutées dans l'article 3. Parmi celles-ci, nous avons en particulier fait face à l'impossibilité de tester l'impact d'un traitement régulier par anti-herpétiques systémiques étant donné la faible proportion de sujets ayant plusieurs délivrances au cours du suivi. Ainsi, ce type d'études, si elles peuvent suggérer l'existence d'un potentiel effet protecteur des traitements, ne peuvent en aucun cas se substituer à la réalisation d'essais cliniques.

Sur ce plan, seuls deux essais de phase 2 testent actuellement l'efficacité du Valaciclovir dans le cadre de la maladie d'Alzheimer (pas d'autre molécule efficace sur HSV testée à ma connaissance).

- Le premier essai clinique (NCT02997982, réalisé en Suède et dont le recrutement est terminé) est un essai en ouvert non contrôlé qui va évaluer l'effet de 4 semaines de traitement oral par Valaciclovir (500 mg 3 fois par jour la première semaine puis 1000 mg 3 fois par jour) chez 36 sujets APOE4+ de 65 ans et plus présentant une maladie d'Alzheimer ou un MCI amnésique et infectés par HSV-1 ou HSV-2. Le diagnostic de la maladie d'Alzheimer devait ici être supporté par des critères cliniques associés à au moins l'un des critères paracliniques suivants : perfusion ou métabolisme diminué au niveau temporal de façon bilatérale, atrophie hippocampique ou présence de marqueurs intrathécaux de la MA. Dans cet essai, il est prévu de monitorer l'évolution de différents marqueurs au niveau du liquide cérébro-spinal (T-Tau, P-Tau, a β 1-42, neurofilament à chaîne légère), du score au MMSE et de tester la possibilité d'utiliser un nouveau marqueur TEP pour détecter la réactivation virale au niveau du système nerveux central en ante-mortem.
- Un deuxième essai clinique (424) (NCT03282916 – en cours de recrutement aux Etats-Unis) - cette fois randomisé, contrôlé et en double aveugle - va permettre d'évaluer l'effet d'un traitement oral de Valaciclovir (dose variant entre 2 et 4 grammes par jour) sur 18 mois chez 65 sujets traités et 65 contrôles présentant une maladie d'Alzheimer au stade modéré et infectés par HSV-1 ou HSV-2 (âge minimum de 18 ans et pas de critères génétiques dans cet essai). Le diagnostic de la maladie d'Alzheimer était ici basé sur des critères cliniques et le dosage de biomarqueurs n'était pas systématiquement réalisé pour l'inclusion dans l'étude. Dans cet essai, il est prévu d'évaluer principalement l'évolution des patients sur le plan cognitif et fonctionnel (via

les échelles ADAS-COG, ADCS-ADL) et l'évolution des dépôts intracérébraux mesurés par TEP amyloïde et tau.

Bien sûr, les résultats de ces deux essais cliniques sont très attendus par les personnes intéressées par l'hypothèse infectieuse. D'autant plus que certains résultats dans une autre population de patients semble montrer des résultats intéressants (425) : chez 24 patients schizophrènes infectés par HSV-1, un essai contrôlé randomisé en double aveugle a mis en évidence qu'un traitement oral par Valaciclovir (1,5 gramme 2 fois par jour pendant 18 semaines) améliorait les performances cognitives des sujets traités (la sévérité des troubles psychotiques n'était, elle, pas améliorée).

Sachant cela, faut-il attendre les premiers résultats de ces essais pour en implémenter de nouveaux ? Ne serait-ce pas important d'étudier l'effet du Valaciclovir à un stade plus précoce de la maladie avant d'atteindre un certain niveau de dépôts et/ou d'activation du système immunitaire ? Et en combinant les avantages des essais existants : d'un côté, une identification des malades à partir de critères à la fois clinique et paraclinique et la prise en compte de certains facteurs de susceptibilité génétique (ici APOE4) puis d'un autre côté, la réalisation d'un essai randomisé contrôlé en double aveugle sur une plus longue durée ? La question reste ouverte...

A noter que, plus globalement, d'autres types de traitement influant notamment sur l'inflammation ou l'immunosénescence sont envisagés (426). On peut par exemple citer le cas des anti-inflammatoires non stéroïdiens dont l'effet protecteur, suggéré par certaines études observationnelles (427), ne semble pas avoir été retrouvé dans les essais cliniques sur le sujet (428,429). D'autres ont suggéré un effet protecteur de perfusions intraveineuses d'immunoglobulines (discuté dans (430,431)). De plus, dans l'optique d'une origine polymicrobienne, une combinaison de différents traitements anti-infectieux a également été proposée (426).

Enfin, la primo-infection par le virus HSV-1 ayant lieu tôt dans la vie, des recommandations nutritionnelles pourraient également voir le jour pour limiter la réactivation du virus dès la contamination et sur le très long terme. Pour autant, si certains nutriments et aliments possédant

une activité anti-herpétique semblent avoir un effet protecteur sur la survenue de la maladie d'Alzheimer (discutés dans la partie 1.3.4.3), leur efficacité en relation avec l'infection HSV a rarement été évaluée. Seul Wozniak et al (432) ont mis en évidence que divers extraits d'algues brunes réduisaient l'accumulation de lésions amyloïdes et tau induites après inoculation d'HSV-1 in vitro et aucune étude chez l'animal ou chez l'homme n'existe à ma connaissance.

Au total, ces différentes perspectives risquent de nous confronter à une partie des grands défis de la recherche actuelle :

- Des défis logistiques et méthodologiques inhérents à la production et la prise en compte d'une grande quantité de données.
- Des défis en termes de collaboration également. Dans un contexte de surspécialisation et devant la complexité des domaines de recherche impliqués (neurologie, immunologie, virologie, radiologie, anatomopathologie, génétique...), la collaboration entre experts semble indispensable pour permettre une compréhension fine des mécanismes en jeu, l'identification des lacunes restant à combler et l'émergence de questions et de méthodes de recherche pertinentes.
- Enfin, concernant plus particulièrement l'hypothèse infectieuse, un autre défi sera d'arriver à convaincre de l'intérêt de tester plus avant l'implication des agents infectieux dans les maladies neurodégénératives face à la dominance actuelle de l'hypothèse de la « cascade amyloïde » et de proposer un possible changement de prisme concernant l'interprétation de certains résultats (par exemple le rôle uniquement toxique d' $\alpha\beta$).

A nous de les relever !

Références bibliographiques

1. American Psychiatric Association. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders: DSM-IV. Washington DC: American Psychiatric Association. 1994.
2. American Psychiatric Association. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders: DSM-V. Washington DC: American Psychiatric Association. 2013.
3. Petersen RC, Morris JC. Mild Cognitive Impairment as a Clinical Entity and Treatment Target. *Arch Neurol*. 1 juill 2005;62(7):1160.
4. World Alzheimer Report 2015, The Global Impact of Dementia: An analysis of prevalence, incidence, cost and trends.
5. Mura T, Dartigues J-F, Berr C. How many dementia cases in France and Europe? Alternative projections and scenarios 2010-2050: Future numbers of dementia cases. *European Journal of Neurology*. févr 2010;17(2):252-9.
6. Helmer C, Grasset L, Pérès K, Dartigues J-F. Évolution temporelle des démences : état des lieux en France et à l'international. *Bull Epidémiol Hebd*. 2016;(28-29):467-73.
7. 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. *Alzheimer's & Dementia*. 2016;12(3):272-80.
8. Wolters FJ, Chibnik LB, Waziry R, Anderson R, Berr C, Beiser A, et al. Twenty-seven-year time trends in dementia incidence in Europe and the United States: The Alzheimer Cohorts Consortium. *Neurology*. 4 août 2020;95(5):e519-31.
9. Nichols E, Szeoke CEI, Vollset SE, Abbasi N, Abd-Allah F, Abdela J, et al. 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. *The Lancet Neurology*. janv 2019;18(1):88-106.
10. Helmer C, Pérès K, Letenneur L, Gutiérrez-Robledo LM, Ramarosan H, Barberger-Gateau P, et al. Dementia in Subjects Aged 75 Years or Over within the PAQUID Cohort: Prevalence and Burden by Severity. *Dement Geriatr Cogn Disord*. 2006;22(1):87-94.
11. Helmer C, Joly P, Letenneur L, Commenges D, Dartigues J-F. Mortality with Dementia: Results from a French Prospective Community-based Cohort. *American Journal of Epidemiology*. 1 oct 2001;154(7):642-8.
12. Schulz R, Beach SR. Caregiving as a Risk Factor for Mortality: The Caregiver Health Effects Study. *JAMA*. 15 déc 1999;282(23):2215.
13. Joling KJ, van Marwijk HWJ, Veldhuijzen AE, van der Horst HE, Scheltens P, Smit F, et al. The two-year incidence of depression and anxiety disorders in spousal caregivers of persons with dementia: who is at the greatest risk? *Am J Geriatr Psychiatry*. mars 2015;23(3):293-303.

14. Cooper C, Balamurali TBS, Livingston G. A systematic review of the prevalence and covariates of anxiety in caregivers of people with dementia. *Int Psychogeriatr.* avr 2007;19(2):175-95.
15. 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. *Alzheimer's & Dementia.* janv 2017;13(1):1-7.
16. Fiest KM, Roberts JI, Maxwell CJ, Hogan DB, Smith EE, Frolkis A, et al. The Prevalence and Incidence of Dementia Due to Alzheimer's Disease: a Systematic Review and Meta-Analysis. *Can J Neurol Sci.* avr 2016;43(S1):S51-82.
17. Nebel RA, Aggarwal NT, Barnes LL, Gallagher A, Goldstein JM, Kantarci K, et al. Understanding the impact of sex and gender in Alzheimer's disease: A call to action. *Alzheimer's & Dementia.* sept 2018;14(9):1171-83.
18. Livingston G, Huntley J, Sommerlad A, Ames D, Ballard C, Banerjee S, et al. Dementia prevention, intervention, and care: 2020 report of the Lancet Commission. *The Lancet.* août 2020;396(10248):413-46.
19. Livingston G, Sommerlad A, Orgeta V, Costafreda SG, Huntley J, Ames D, et al. Dementia prevention, intervention, and care. *The Lancet.* déc 2017;390(10113):2673-734.
20. Scarmeas N, Anastasiou CA, Yannakoulia M. Nutrition and prevention of cognitive impairment. *The Lancet Neurology.* nov 2018;17(11):1006-15.
21. Lefèvre-Arbogast S, Wagner M, Proust-Lima C, Samieri C. Nutrition and Metabolic Profiles in the Natural History of Dementia: Recent Insights from Systems Biology and Life Course Epidemiology. *Current Nutrition Reports.* 2019;8(3):256-69.
22. Stern Y, Arenaza-Urquijo EM, Bartrés-Faz D, Belleville S, Cantilon M, Chetelat G, et al. Whitepaper: Defining and investigating cognitive reserve, brain reserve, and brain maintenance. *Alzheimer's & Dementia.* sept 2018;S1552526018334915.
23. Dugger BN, Dickson DW. Pathology of Neurodegenerative Diseases. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* juill 2017;9(7):a028035.
24. Lobo A, Launer L, Fratiglioni L, Andersen K, Di Carlo A, Breteler M, et al. Prevalence of dementia and major subtypes in Europe A collaborative study of population-based cohorts. *Neurology.* 2000;54 (11)(5).
25. Jellinger KA. Clinicopathological analysis of dementia disorders in the elderly--an update. *J Alzheimers Dis.* 2006;9(3 Suppl):61-70.
26. James BD, Wilson RS, Boyle PA, Trojanowski JQ, Bennett DA, Schneider JA. TDP-43 stage, mixed pathologies, and clinical Alzheimer's-type dementia. *Brain.* nov 2016;139(11):2983-93.
27. Möller H-J, Graeber MB. The case described by Alois Alzheimer in 1911. *European Archives of Psychiatry and Clinical Neurosciences.* 1 juill 1998;248(3):111-22.
28. Stelzmann RA, Schnitzlein HN, Murtagh FR. An english translation of alzheimer's 1907 paper, "über eine eigenartige erkankung der hirnrinde". *Clinical Anatomy.* 1995;8(6):429-31.

29. Querfurth HW, LaFerla FM. Alzheimer's Disease. *New England Journal of Medicine*. 28 janv 2010;362(4):329-44.
30. Blennow, K, de Leon M, Zetterberg H. Alzheimer's disease. *The Lancet*. 2006;368.
31. Duyckaerts C, Delatour B, Potier M-C. Classification and basic pathology of Alzheimer disease. *Acta Neuropathol*. 1 juill 2009;118(1):5-36.
32. Robinson SR, Bishop GM. Ab as a bioflocculant: implications for the amyloid hypothesis of Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging*. 2002;22.
33. Bourgade K, Dupuis G, Frost EH, Fülöp T. Anti-Viral Properties of Amyloid- β Peptides. *J Alzheimers Dis*. 04 2016;54(3):859-78.
34. Kent SA, Spires-Jones TL, Durrant CS. The physiological roles of tau and A β : implications for Alzheimer's disease pathology and therapeutics. *Acta Neuropathol*. 2020;140(4):417-47.
35. 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*. févr 2013;12(2):207-16.
36. Calsolaro V, Edison P. Neuroinflammation in Alzheimer's disease: Current evidence and future directions. *Alzheimers Dement*. 2016;12(6):719-32.
37. Nixon RA. Amyloid precursor protein and endosomal-lysosomal dysfunction in Alzheimer's disease: inseparable partners in a multifactorial disease. *FASEB j*. juill 2017;31(7):2729-43.
38. Harris SA, Harris EA. Molecular Mechanisms for Herpes Simplex Virus Type 1 Pathogenesis in Alzheimer's Disease. *Frontiers in Aging Neuroscience*. 6 mars 2018;10.
39. Braak H, Braak E. Frequency of Stages of Alzheimer-Related Lesions in Different Age Categories. *Neurobiology of Aging*. 1 juill 1997;18(4):351-7.
40. Braak H, Braak EVA. Staging of Alzheimer's disease-related neurofibrillary changes. *Neurobiology of aging*. 1995;16(3):271-8.
41. Braak H, Del Tredici K. Alzheimer's pathogenesis: is there neuron-to-neuron propagation? *Acta Neuropathologica*. mai 2011;121(5):589-95.
42. Brundin P, Melki R, Kopito R. Prion-like transmission of protein aggregates in neurodegenerative diseases. *Nat Rev Mol Cell Biol*. avr 2010;11(4):301-7.
43. Liu L, Drouet V, Wu JW, Witter MP, Small SA, Clelland C, et al. Trans-synaptic spread of tau pathology in vivo. *PloS one*. 2012;7(2):e31302.
44. Sassin I, Schultz C, Thal DR, Rüb U, Arai K, Braak E, et al. Evolution of Alzheimer's disease-related cytoskeletal changes in the basal nucleus of Meynert. *Acta Neuropathol*. sept 2000;100(3):259-69.
45. Attems J, Walker L, Jellinger KA. Olfactory bulb involvement in neurodegenerative diseases. *Acta Neuropathologica*. 2014;127(4):459-75.

46. Tsuboi Y, Wszolek ZK, Graff-Radford NR, Cookson N, Dickson DW. Tau pathology in the olfactory bulb correlates with Braak stage, Lewy body pathology and apolipoprotein $\epsilon 4$. *Neuropathology and Applied Neurobiology*. 2003;29(5):503-10.
47. Whitwell JL, Graff-Radford J, Tosakulwong N, Weigand SD, Machulda MM, Senjem ML, et al. Imaging correlations of tau, amyloid, metabolism, and atrophy in typical and atypical Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia*. août 2018;14(8):1005-14.
48. Dubois B, Feldman HH, Jacova C, Hampel H, Molinuevo JL, Blennow K, et al. Advancing research diagnostic criteria for Alzheimer's disease: the IWG-2 criteria. *The Lancet Neurology*. juin 2014;13(6):614-29.
49. Masters CL, Bateman R, Blennow K, Rowe CC, Sperling RA, Cummings JL. Alzheimer's disease. *Nature Reviews Disease Primers*. 15 oct 2015;1(1):1-18.
50. Thal DR, Rüb U, Orantes M, Braak H. Phases of A β -deposition in the human brain and its relevance for the development of AD. 2002;11.
51. Amieva H, Le Goff M, Millet X, Orgogozo JM, Pérès K, Barberger-Gateau P, et al. Prodromal Alzheimer's disease: successive emergence of the clinical symptoms. *Ann Neurol*. nov 2008;64(5):492-8.
52. Amieva H, Mokri H, Le Goff M, Meillon C, Jacqmin-Gadda H, Foubert-Samier A, et al. Compensatory mechanisms in higher-educated subjects with Alzheimer's disease: a study of 20 years of cognitive decline. *Brain*. 1 avr 2014;137(4):1167-75.
53. Ferris S, Farlow M. Language impairment in Alzheimer's disease and benefits of acetylcholinesterase inhibitors. *CIA*. août 2013;1007.
54. Cacace R, Slegers K, Van Broeckhoven C. Molecular genetics of early-onset Alzheimer's disease revisited. *Alzheimer's & Dementia*. 1 juin 2016;12(6):733-48.
55. Hardy. Alzheimer's Disease: The Amyloid Cascade Hypothesis. *SCIENCE*. 1992;256.
56. Hardy J. The Amyloid Hypothesis of Alzheimer's Disease: Progress and Problems on the Road to Therapeutics. *Science*. 19 juill 2002;297(5580):353-6.
57. Jonsson T, Atwal JK, Steinberg S, Snaedal J, Jonsson PV, Bjornsson S, et al. A mutation in APP protects against Alzheimer's disease and age-related cognitive decline. *Nature*. 2 août 2012;488(7409):96-9.
58. Hutton M, Lendon CL, Rizzu P, Baker M, Froelich S, Houlden H, et al. Association of missense and 5'-splice-site mutations in tau with the inherited dementia FTDP-17. *Nature*. 18 juin 1998;393(6686):702-5.
59. Morris GP, Clark IA, Vissel B. Inconsistencies and Controversies Surrounding the Amyloid Hypothesis of Alzheimer's Disease. 2014;21.
60. Braak H, Del Tredici K. The pathological process underlying Alzheimer's disease in individuals under thirty. *Acta Neuropathologica*. févr 2011;121(2):171-81.

61. Small SA, Duff K. Linking A β and Tau in Late-Onset Alzheimer's Disease: A Dual Pathway Hypothesis. *Neuron*. 26 nov 2008;60(4):534-42.
62. Zigman WB, Devenny DA, Krinsky-McHale SJ, Jenkins EC, Urv TK, Wegiel J, et al. Alzheimer's Disease in Adults with Down Syndrome. *Int Rev Res Ment Retard*. 1 janv 2008;36:103-45.
63. Jansen IE, Savage JE, Watanabe K, Bryois J, Williams DM, Steinberg S, et al. Genome-wide meta-analysis identifies new loci and functional pathways influencing Alzheimer's disease risk. *Nature Genetics*. mars 2019;51(3):404-13.
64. Alzheimer Disease Genetics Consortium (ADGC), The European Alzheimer's Disease Initiative (EADI), Cohorts for Heart and Aging Research in Genomic Epidemiology Consortium (CHARGE), Genetic and Environmental Risk in AD/Defining Genetic, Polygenic and Environmental Risk for Alzheimer's Disease Consortium (GERAD/PERADES), Kunkle BW, Grenier-Boley B, et al. Genetic meta-analysis of diagnosed Alzheimer's disease identifies new risk loci and implicates A β , tau, immunity and lipid processing. *Nature Genetics*. mars 2019;51(3):414-30.
65. 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*. déc 2013;45(12):1452-8.
66. Karch CM, Goate AM. Alzheimer's Disease Risk Genes and Mechanisms of Disease Pathogenesis. *Biological Psychiatry*. janv 2015;77(1):43-51.
67. Mahley RW, Rall SC. Apolipoprotein E: Far More Than a Lipid Transport Protein. *Annu Rev Genomics Hum Genet*. 2000;01.
68. Verghese PB, Castellano JM, Holtzman DM. Apolipoprotein E in Alzheimer's disease and other neurological disorders. *The Lancet Neurology*. mars 2011;10(3):241-52.
69. Farrer LA. Effects of Age, Sex, and Ethnicity on the Association Between Apolipoprotein E Genotype and Alzheimer Disease: A Meta-analysis. *JAMA*. 22 oct 1997;278(16):1349.
70. Corder E, Saunders A, Strittmatter W, Schmechel D, Gaskell P, Small G, et al. Gene dose of apolipoprotein E type 4 allele and the risk of Alzheimer's disease in late onset families. *Science*. 13 août 1993;261(5123):921-3.
71. Fan J, Tao W, Li X, Li H, Zhang J, Wei D, et al. The Contribution of Genetic Factors to Cognitive Impairment and Dementia: Apolipoprotein E Gene, Gene Interactions, and Polygenic Risk. *IJMS*. 7 mars 2019;20(5):1177.
72. Liu C-C, Kanekiyo T, Xu H, Bu G. Apolipoprotein E and Alzheimer disease: risk, mechanisms, and therapy. *Nat Rev Neurol*. févr 2013;9(2):106-18.
73. Haute Autorité de Santé. Maladie d'Alzheimer et maladies apparentées : diagnostic et prise en charge. 2011.
74. 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*. juill 1984;34(7):939-44.
75. Jack CR, Bennett DA, Blennow K, Carrillo MC, Feldman HH, Frisoni GB, et al. A/T/N: An unbiased descriptive classification scheme for Alzheimer disease biomarkers. *Neurology*. 2 août 2016;87(5):539-47.
 76. <https://clinicaltrials.gov>.
 77. Haute Autorité de Santé. Place des médicaments du traitement symptomatique de la maladie d'Alzheimer. 2012.
 78. Médicaments de la maladie d'Alzheimer : un intérêt médical insuffisant pour justifier leur prise en charge par la solidarité nationale [Internet]. Haute Autorité de Santé. Disponible sur: https://www.has-sante.fr/jcms/c_2679466/fr/medicaments-de-la-maladie-d-alzheimer-un-interet-medical-insuffisant-pour-justifier-leur-prise-en-charge-par-la-solidarite-nationale
 79. Birks JS, Chong L-Y, Grimley Evans J. Rivastigmine for Alzheimer's disease. Cochrane Dementia and Cognitive Improvement Group, éditeur. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 22 sept 2015;
 80. Birks JS, Harvey RJ. Donepezil for dementia due to Alzheimer's disease. Cochrane Dementia and Cognitive Improvement Group, éditeur. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 18 juin 2018;
 81. Loy C, Schneider L. Galantamine for Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. Cochrane Dementia and Cognitive Improvement Group, éditeur. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 25 janv 2006;
 82. McShane R, Westby MJ, Roberts E, Minakaran N, Schneider L, Farrimond LE, et al. Memantine for dementia. Cochrane Dementia and Cognitive Improvement Group, éditeur. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 20 mars 2019;
 83. Itzhaki RF, Lathe R, Balin BJ, Ball MJ, Bearer EL, Braak H, et al. Microbes and Alzheimer's Disease. *Journal of Alzheimer's Disease*. 12 avr 2016;51(4):979-84.
 84. Fülöp T, Itzhaki RF, Balin BJ, Miklossy J, Barron AE. Role of Microbes in the Development of Alzheimer's Disease: State of the Art - An International Symposium Presented at the 2017 IAGG Congress in San Francisco. *Front Genet*. 2018;9:362.
 85. Davis LE, Johnson RT. An explanation for the localization of herpes simplex encephalitis? *Annals of neurology*. 1979;5(1):2-5.
 86. Soscia SJ, Kirby JE, Washicosky KJ, Tucker SM, Ingelsson M, Hyman B, et al. The Alzheimer's Disease-Associated Amyloid β -Protein Is an Antimicrobial Peptide. Bush AI, éditeur. *PLoS ONE*. 3 mars 2010;5(3):e9505.
 87. Itzhaki RF. Corroboration of a Major Role for Herpes Simplex Virus Type 1 in Alzheimer's Disease. *Front Aging Neurosci*. 2018;10:324.

88. International Committee on Taxonomy of Viruses [Internet]. Disponible sur: <https://talk.ictvonline.org/taxonomy/>
89. Subak-Sharpe JH, Dargan DJ. Hsv Molecular Biology: General Aspects of Herpes Simplex Virus Molecular Biology. *Virus Genes*. 1998;16(3):239-51.
90. Looker K, Garnett G. A systematic review of the epidemiology and interaction of herpes simplex virus types 1 and 2. *Sex Transm Infect*. avr 2005;81(2):103-7.
91. Item 84—Infections à herpès virus de l'enfant et de l'adulte immunocompétents: herpès cutané et muqueux. In: *Annales de dermatologie et de vénéréologie*. 2008. p. F18-24.
92. Pilly. Infections à Herpès virus du sujet immunocompétent.
93. Bünzli D, Wietlisbach V, Barazzoni F, Sahli R, Meylan PR. Seroepidemiology of Herpes Simplex virus type 1 and 2 in Western and Southern Switzerland in adults aged 25–74 in 1992–93 : a population-based study. *BMC Infect Dis*. 17 mars 2004;4:10.
94. Société Française de Dermatologie et ANAES. Conférence de consensus Prise en charge de l'herpès cutanéomuqueux chez le sujet immunocompétent (manifestations oculaires exclues). 2001.
95. Steiner I, Kennedy PG, Pachner AR. The neurotropic herpes viruses: herpes simplex and varicella-zoster. *The Lancet Neurology*. nov 2007;6(11):1015-28.
96. Rozenberg F, Deback C, Agut H. Herpes Simplex Encephalitis: From Virus to Therapy. *IDDT*. 1 juin 2011;11(3):235-50.
97. Kleinschmidt-DeMasters BK, Gilden DH. The Expanding Spectrum of Herpesvirus Infections of the Nervous System. *Brain Pathology*. oct 2001;11(4):440-51.
98. Steiner I, Benninger F. Update on Herpes Virus Infections of the Nervous System. *Curr Neurol Neurosci Rep*. déc 2013;13(12):414.
99. Abel L, Plancoulaine S, Jouanguy E, Zhang S-Y, Mahfoufi N, Nicolas N, et al. Age-Dependent Mendelian Predisposition to Herpes Simplex Virus Type 1 Encephalitis in Childhood. *The Journal of Pediatrics*. oct 2010;157(4):623-629.e1.
100. Aranda AM, Epstein AL. Latence et réactivation du virus de l'herpès simplex de type 1 (HSV-1): Une mise à jour. *médecine/sciences*. mai 2015;31(5):506-14.
101. Roizman B, Whitley RJ. An Inquiry into the Molecular Basis of HSV Latency and Reactivation. *Annual Review of Microbiology*. 8 sept 2013;67(1):355-74.
102. Koujah L, Suryawanshi RK, Shukla D. Pathological processes activated by herpes simplex virus-1 (HSV-1) infection in the cornea. *Cell Mol Life Sci*. 16 oct 2018;
103. Hill JM, Steiner I, Matthews KE, Trahan SG, Foster TP, Ball MJ. Statins lower the risk of developing Alzheimer's disease by limiting lipid raft endocytosis and decreasing the neuronal spread of Herpes simplex virus type 1. *Medical Hypotheses*. janv 2005;64(1):53-8.

104. Liu T, Khanna KM, Chen X, Fink DJ, Hendricks RL. CD8² T Cells Can Block Herpes Simplex Virus Type 1 (HSV-1) Reactivation from Latency in Sensory Neurons. *J Exp Med*. 2000;191(9):8.
105. Yu W, Geng S, Suo Y, Wei X, Cai Q, Wu B, et al. Critical Role of Regulatory T Cells in the Latency and Stress-Induced Reactivation of HSV-1. *Cell Rep*. 27 nov 2018;25(9):2379-2389.e3.
106. St Leger AJ, Hendricks RL. CD8⁺ T cells patrol HSV-1-infected trigeminal ganglia and prevent viral reactivation. *J Neurovirol*. déc 2011;17(6):528-34.
107. Looker KJ, Magaret AS, May MT, Turner KME, Vickerman P, Gottlieb SL, et al. Global and Regional Estimates of Prevalent and Incident Herpes Simplex Virus Type 1 Infections in 2012. DeLuca NA, éditeur. *PLOS ONE*. 28 oct 2015;10(10):e0140765.
108. Malkin J-E. Seroprevalence of HSV-1 and HSV-2 infection in the general French population. *Sexually Transmitted Infections*. 1 juin 2002;78(3):201-3.
109. Letenneur L, Pérès K, Fleury H, Garrigue I, Barberger-Gateau P, Helmer C, et al. Seropositivity to Herpes Simplex Virus Antibodies and Risk of Alzheimer's Disease: A Population-Based Cohort Study. Hornung R, éditeur. *PLoS ONE*. 4 nov 2008;3(11):e3637.
110. Smith JS, Robinson NJ. Age-Specific Prevalence of Infection with Herpes Simplex Virus Types 2 and 1: A Global Review. *J Infect Dis*. 15 oct 2002;186(Supplement_1):S3-28.
111. Woestenberg PJ, Tjhe JHT, de Melker HE, van der Klis FRM, van Bergen JEAM, van der Sande MAB, et al. Herpes simplex virus type 1 and type 2 in the Netherlands: seroprevalence, risk factors and changes during a 12-year period. *BMC Infectious Diseases*. déc 2016;16(1).
112. Torniaainen-Holm M, Suvisaari J, Lindgren M, Härkänen T, Dickerson F, Yolken RH. The lack of association between herpes simplex virus 1 or *Toxoplasma gondii* infection and cognitive decline in the general population: An 11-year follow-up study. *Brain, Behavior, and Immunity*. nov 2018;
113. Forbes H, Warne B, Doelken L, Brenner N, Waterboer T, Luben R, et al. Risk factors for herpes simplex virus type-1 infection and reactivation: Cross-sectional studies among EPIC-Norfolk participants. *PLoS ONE*. 2019;14(5):e0215553.
114. Kwok MK, Schooling CM. Herpes simplex virus and Alzheimer's disease: a Mendelian randomization study. *Neurobiology of Aging*. oct 2020;S0197458020303092.
115. Cowan FM, Johnson AM, Ashley R, Corey L, Mindel A. Relationship between Antibodies to Herpes Simplex Virus (HSV) and Symptoms of HSV Infection. *Journal of Infectious Diseases*. 1 sept 1996;174(3):470-5.
116. Malvy D, Ezzedine K, Lançon F, Halioua B, Rezvani A, Bertrais S, et al. Epidemiology of orofacial herpes simplex virus infections in the general population in France: results of the HERPIMAX study. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*. nov 2007;21(10):1398-403.

117. Miller CS, Danaher RJ. Asymptomatic shedding of herpes simplex virus (HSV) in the oral cavity. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*. janv 2008;105(1):43-50.
118. Kaufman HE, Azcuy AM, Varnell ED, Sloop GD, Thompson HW, Hill JM. HSV-1 DNA in Tears and Saliva of Normal Adults. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 1 janv 2005;46(1):241.
119. Ramchandani MS, Jing L, Russell RM, Tran T, Laing KJ, Magaret AS, et al. Viral genetics modulate orolabial HSV-1 shedding in humans. *J Infect Dis*. 1 nov 2018;
120. Hoshino Y, Qin J, Follmann D, Cohen JI, Straus SE. The number of herpes simplex virus-infected neurons and the number of viral genome copies per neuron correlate with the latent viral load in ganglia. *Virology*. 1 mars 2008;372(1):56-63.
121. Sawtell NM, Poon DK, Tansky CS, Thompson RL. The Latent Herpes Simplex Virus Type 1 Genome Copy Number in Individual Neurons Is Virus Strain Specific and Correlates with Reactivation. *J VIROL*. 1998;72:8.
122. Mangold CA, Szpara ML. Persistent Infection with Herpes Simplex Virus 1 and Alzheimer's Disease—A Call to Study How Variability in Both Virus and Host may Impact Disease. *Viruses*. 20 oct 2019;11(10).
123. Suzich JB, Cliffe AR. Strength in diversity: Understanding the pathways to herpes simplex virus reactivation. *Virology*. sept 2018;522:81-91.
124. Chida Y, Mao X. Does psychosocial stress predict symptomatic herpes simplex virus recurrence? A meta-analytic investigation on prospective studies. *Brain, Behavior, and Immunity*. 1 oct 2009;23(7):917-25.
125. Vicetti Miguel RD, Sheridan BS, Harvey SAK, Schreiner RS, Hendricks RL, Cherpes TL. 17-beta estradiol promotion of herpes simplex virus type 1 reactivation is estrogen receptor dependent. *J Virol*. janv 2010;84(1):565-72.
126. Held K, Derfuss T. Control of HSV-1 latency in human trigeminal ganglia—current overview. *Journal of NeuroVirology*. déc 2011;17(6):518-27.
127. Stowe RP, Peek MK, Perez NA, Yetman DL, Cutchin MP, Goodwin JS. Herpesvirus reactivation and socioeconomic position: a community-based study. *Journal of Epidemiology & Community Health*. 1 août 2010;64(8):666-71.
128. Stowe R, Kozlova E, Yetman D, Walling D, Goodwin J, Glaser R. Chronic herpesvirus reactivation occurs in aging. *Experimental Gerontology*. juin 2007;42(6):563-70.
129. Stowe RP, Peek MK, Cutchin MP, Goodwin JS. Reactivation of herpes simplex virus type 1 is associated with cytomegalovirus and age. *Journal of Medical Virology*. nov 2012;84(11):1797-802.
130. Hill JM, Bhattacharjee PS, Neumann DM. Apolipoprotein E alleles can contribute to the pathogenesis of numerous clinical conditions including HSV-1 corneal disease. *Exp Eye Res*. mai 2007;84(5):801-11.

131. Freeman ML, Sheridan BS, Bonneau RH, Hendricks RL. Psychological stress compromises CD8+ T cell control of latent herpes simplex virus type 1 infections. *Journal of Immunology* (Baltimore, Md: 1950). 1 juill 2007;179(1):322-8.
132. Bonneau RH. Stress-induced effects on integral immune components involved in herpes simplex virus (HSV)-specific memory cytotoxic T lymphocyte activation. *Brain, Behavior, and Immunity*. juin 1996;10(2):139-63.
133. Adcock IM. Molecular Mechanisms of Glucocorticosteroid Actions. *Pulmonary Pharmacology & Therapeutics*. juin 2000;13(3):115-26.
134. Du T, Zhou G, Roizman B. Induction of apoptosis accelerates reactivation of latent HSV-1 in ganglionic organ cultures and replication in cell cultures. *PNAS*. 4 sept 2012;109(36):14616-21.
135. Sinani D, Cordes E, Workman A, Thunuguntia P, Jones C. Stress-Induced Cellular Transcription Factors Expressed in Trigeminal Ganglionic Neurons Stimulate the Herpes Simplex Virus 1 ICP0 Promoter. *Journal of Virology*. 1 déc 2013;87(23):13042-7.
136. Scepanovic P, Alanio C, Hammer C, Hodel F, Bergstedt J, Patin E, et al. Human genetic variants and age are the strongest predictors of humoral immune responses to common pathogens and vaccines. *Genome Medicine*. déc 2018;10(1).
137. Kriesel JD, Jones BB, Matsunami N, Patel MK, St Pierre CA, Kurt-Jones EA, et al. C21orf91 genotypes correlate with herpes simplex labialis (cold sore) frequency: description of a cold sore susceptibility gene. *The Journal of Infectious Diseases*. 1 déc 2011;204(11):1654-62.
138. Moraru M, Cisneros E, Gomez-Lozano N, de Pablo R, Portero F, Canizares M, et al. Host Genetic Factors in Susceptibility to Herpes Simplex Type 1 Virus Infection: Contribution of Polymorphic Genes at the Interface of Innate and Adaptive Immunity. *The Journal of Immunology*. 1 mai 2012;188(9):4412-20.
139. Benassi-Zanqueta É, Marques CF, Nocchi SR, Dias Filho BP, Nakamura CV, Ueda-Nakamura T. Parthenolide Influences Herpes simplex virus 1 Replication in vitro. *Intervirology*. 2018;61(1):14-22.
140. Benassi-Zanqueta É, Marques CF, Valone LM, Pellegrini BL, Bauermeister A, Ferreira ICP, et al. Evaluation of anti-HSV-1 activity and toxicity of hydroethanolic extract of *Tanacetum parthenium* (L.) Sch.Bip. (Asteraceae). *Phytomedicine*. 13 août 2018;55:249-54.
141. Langland J, Jacobs B, Wagner C, Ruiz G, Cahill TM. Antiviral activity of metal chelates of caffeic acid and similar compounds towards herpes simplex, VSV-Ebola pseudotyped and vaccinia viruses. *Antiviral Res*. 27 oct 2018;
142. Di Sotto A, Di Giacomo S, Amatore D, Locatelli M, Vitalone A, Toniolo C, et al. A Polyphenol Rich Extract from *Solanum melongena* L. DR2 Peel Exhibits Antioxidant Properties and Anti-Herpes Simplex Virus Type 1 Activity In Vitro. *Molecules*. 17 août 2018;23(8).

143. Bisignano C, Mandalari G, Smeriglio A, Trombetta D, Pizzo MM, Pennisi R, et al. Almond Skin Extracts Abrogate HSV-1 Replication by Blocking Virus Binding to the Cell. *Viruses*. 10 2017;9(7).
144. Zhang QG, Wei F, Liu Q, Chen LJ, Liu YY, Luo F, et al. The flavonoid from *Polygonum perfoliatum* L. inhibits herpes simplex virus 1 infection. *Acta Virol*. 2014;58(4):368-73.
145. Zhang X-L, Guo Y-S, Wang C-H, Li G-Q, Xu J-J, Chung HY, et al. Phenolic compounds from *Origanum vulgare* and their antioxidant and antiviral activities. *Food Chem*. 2014;152:300-6.
146. Pradhan P, Nguyen ML. Herpes simplex virus virucidal activity of MST-312 and epigallocatechin gallate. *Virus Res*. 02 2018;249:93-8.
147. Colpitts CC, Schang LM. A small molecule inhibits virion attachment to heparan sulfate- or sialic acid-containing glycans. *J Virol*. juill 2014;88(14):7806-17.
148. Tsujimoto K, Sakuma C, Uozaki M, Yamasaki H, Utsunomiya H, Oka K, et al. Antiviral effect of pyridinium formate, a novel component of coffee extracts. *Int J Mol Med*. mars 2010;25(3):459-63.
149. Leyton L, Hott M, Acuña F, Caroca J, Nuñez M, Martin C, et al. Nutraceutical activators of AMPK/Sirt1 axis inhibit viral production and protect neurons from neurodegenerative events triggered during HSV-1 infection. *Virus Res*. 2 juill 2015;205:63-72.
150. Houston DMJ, Bugert JJ, Denyer SP, Heard CM. Potentiated virucidal activity of pomegranate rind extract (PRE) and punicalagin against Herpes simplex virus (HSV) when co-administered with zinc (II) ions, and antiviral activity of PRE against HSV and aciclovir-resistant HSV. *PLoS ONE*. 2017;12(6):e0179291.
151. Vilhelmova-Ilieva N, Jacquet R, Deffieux D, Pouységu L, Sylla T, Chassaing S, et al. Anti-Herpes Simplex Virus Type 1 Activity of Specially Selected Groups of Tannins. *Drug Res (Stuttg)*. 22 août 2018;
152. Cagno V, Civra A, Rossin D, Calfapietra S, Caccia C, Leoni V, et al. Inhibition of herpes simplex-1 virus replication by 25-hydroxycholesterol and 27-hydroxycholesterol. *Redox Biol*. 2017;12:522-7.
153. Kumar A, Singh MP, Kumar RS, Ratho RK. 25-Hydroxyvitamin D3 and 1,25 Dihydroxyvitamin D3 as an Antiviral and Immunomodulator Against Herpes Simplex Virus-1 Infection in HeLa Cells. *Viral Immunol*. 2018;31(8):589-93.
154. Wang K, Hoshino Y, Dowdell K, Bosch-Marce M, Myers TG, Sarmiento M, et al. Glutamine supplementation suppresses herpes simplex virus reactivation. *Journal of Clinical Investigation*. 5 juin 2017;127(7):2626-30.
155. Naito T, Irie H, Tsujimoto K, Ikeda K, Arakawa T, Koyama AH. Antiviral effect of arginine against herpes simplex virus type 1. *Int J Mol Med*. avr 2009;23(4):495-9.
156. Middleton P, Petric M, Kozak M, Rewcastle NB, McLachlan DRC. Herpes-simplex viral genome and senile and presenile dementias of alzheimer and pick. *The Lancet*. 10 mai 1980;315(8176):1038.

157. Fraser NW, Lawrence WC, Wroblewska Z, Gilden DH, Koprowski H. Herpes simplex type 1 DNA in human brain tissue. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1981;78(10):6461-5.
158. Mann. *Neurological Disease and Herpes Simplex Virus*. *Acta Neuropathologica*. 1983;
159. Taylor GR, Crow TJ, Markakis DA, Lofthouse R, Neeley S, Carter GI. Herpes simplex virus and Alzheimer's disease: a search for virus DNA by spot hybridisation. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*. 1984;47(10):1061-5.
160. Taylor GR, Crow TJ. Viruses in human brains: a search for cytomegalovirus and herpes virus 1 DNA in necropsy tissue from normal and neuropsychiatric cases. *Psychological Medicine*. mai 1986;16(02):289.
161. Roberts GW, Taylor GR, Carter GI, Johnson JA, Bloxham C, Brown R, et al. Herpes simplex virus: a role in the aetiology of Alzheimer's disease? *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry*. 1986;49(2):216.
162. Pogo BG. A study of viral genomes and antigens in brains of patients with Alzheimer's disease. *Brain*. 1987;110(4):907-15.
163. Walker DG, O'Kusky JR, McGeer PL. In situ hybridization analysis for herpes simplex virus nucleic acids in Alzheimer disease. *Alzheimer Dis Assoc Disord*. 1989;3(3):123-31.
164. Deatly AM, Haase AT, Fewster PH, Lewis E, Ball MJ. Human herpes virus infections and Alzheimer's disease. *Neuropathology and applied neurobiology*. 1990;16(3):213-23.
165. Sequiera LW, Jennings LC, Carrasco LH, Lord MA, Curry A, Sutton RN. Detection of herpes-simplex viral genome in brain tissue. *Lancet*. 22 sept 1979;2(8143):609-12.
166. Pyles RB. The association of herpes simplex virus and Alzheimer's disease: a potential synthesis of genetic and environmental factors. *Herpes: the journal of the IHMF*. 2001;8(3):64-8.
167. Steel AJ, Eslick GD. Herpes Viruses Increase the Risk of Alzheimer's Disease: A Meta-Analysis. *Journal of Alzheimer's Disease*. 24 juill 2015;47(2):351-64.
168. Mawanda F, Wallace R. Can Infections Cause Alzheimer's Disease? *Epidemiologic Reviews*. 1 janv 2013;35(1):161-80.
169. Hill JM, Gebhardt BM, Azcuy AM, Matthews KE, Lukiw WJ, Steiner I, et al. Can a herpes simplex virus type 1 neuroinvasive score be correlated to other risk factors in Alzheimer's disease? *Medical Hypotheses*. janv 2005;64(2):320-7.
170. Mori I, Kimura Y, Naiki H, Matsubara R, Takeuchi T, Yokochi T, et al. Reactivation of HSV-1 in the brain of patients with familial Alzheimer's disease. *Journal of Medical Virology*. 1 août 2004;73(4):605-11.
171. Cheon MS, Bajo M, Gulesserian T, Cairns N, Lubec G. Evidence for the relation of herpes simplex virus type 1 to Down syndrome and Alzheimer's disease. *Electrophoresis*. 2001;

172. Jamieson GA, Maitland NJ, Wilcock GK, Yates CM, Itzhaki RF. Herpes simplex virus type 1 DNA is present in specific regions of brain from aged people with and without senile dementia of the Alzheimer type. *The Journal of pathology*. 1992;167(4):365-8.
173. Marques A, Straus S. Lack of association between HSV-1 DNA in the brain, Alzheimer's disease and apolipoprotein E4. *Journal of NeuroVirology*. 2001;
174. Mori I, Yokochi T, Koide N, Sugiyama T, Yoshida T, Kimura Y, et al. PCR Search for the Herpes Simplex Virus Type 1 Genome in Brain Sections of Patients with Familial Alzheimer's Disease. *Journal of Clinical Microbiology*. 1 févr 2004;42(2):936-7.
175. Jamieson GA, Maitland NJ, Wilcock GK, Craske J, Itzhaki RF. Latent Herpes Simplex Virus Type 1 in Normal and Alzheimer's Disease Brains. *Journal of Medical Virology*. 1991;
176. Lin W-R, Shang D, Itzhaki RF. Neurotropic viruses and Alzheimer disease. *Molecular and chemical neuropathology*. 1996;28(1-3):135-41.
177. Itzhaki RF, Lin W-R, Shang D, Wilcock GK, Faragher B, Jamieson GA. Herpes simplex virus type 1 in brain and risk of Alzheimer's disease. *The Lancet*. 1997;349(9047):241-4.
178. Wozniak M, Mee A, Itzhaki R. Herpes simplex virus type 1 DNA is located within Alzheimer's disease amyloid plaques. *The Journal of Pathology*. janv 2009;217(1):131-8.
179. Beffert U. HSV-1 in brain and risk of Alzheimer's disease. *The Lancet*. 1998;351.
180. Wozniak MA, Shipley SJ, Combrinck M, Wilcock GK, Itzhaki RF. Productive herpes simplex virus in brain of elderly normal subjects and Alzheimer's disease patients. *Journal of medical virology*. 2005;75(2):300-6.
181. Hemling N. Herpesviruses in Brains in Alzheimer's and Parkinson's Diseases. *Annals of neurology*. 2003;
182. Pisa D, Alonso R, Fernández-Fernández AM, Rábano A, Carrasco L. Polymicrobial Infections In Brain Tissue From Alzheimer's Disease Patients. *Scientific Reports*. déc 2017;7(1).
183. Olsson J, Lövheim H, Honkala E, Karhunen PJ, Elgh F, Kok EH. HSV presence in brains of individuals without dementia: the TASTY brain series. *Disease Models & Mechanisms*. 1 nov 2016;9(11):1349-55.
184. Dobson CB, Wozniak MA, Itzhaki RF. Do infectious agents play a role in dementia? *Trends in Microbiology*. juill 2003;11(7):312-7.
185. Bearer EL. HSV, axonal transport and Alzheimer's disease: in vitro and in vivo evidence for causal relationships. *Future Virology*. sept 2012;7(9):885-99.
186. Itzhaki RF, Dobson CB, Lin W-R, Wozniak MA. Association of HSV1 and apolipoprotein E-4 in Alzheimer's disease. *Journal of NeuroVirology*. 2001;2.
187. Rodriguez JD, Royall D, Daum LT, Kagan-Hallet K, Chambers JP. Amplification of Herpes simplex type 1 and Human Herpes type 5 viral DNA from formalin-fixed Alzheimer brain tissue. *Neuroscience Letters*. déc 2005;390(1):37-41.

188. Readhead B, Haure-Mirande J-V, Funk CC, Richards MA, Shannon P, Haroutunian V, et al. Multiscale Analysis of Independent Alzheimer's Cohorts Finds Disruption of Molecular, Genetic, and Clinical Networks by Human Herpesvirus. *Neuron*. juill 2018;99(1):64-82.e7.
189. Epstein AL. Maladie d'Alzheimer, neuro-inflammation et virus herpétiques: Une piste qui trace son chemin. *Med Sci (Paris)*. mai 2020;36(5):479-86.
190. Allnutt MA, Johnson K, Bennett DA, Connor SM, Troncoso JC, Pletnikova O, et al. Human Herpesvirus 6 Detection in Alzheimer's Disease Cases and Controls across Multiple Cohorts. *Neuron*. 18 mars 2020;105(6):1027-1035.e2.
191. Libíková H, Pogády J, Wiedermann V, Breier S. Search for herpetic antibodies in the cerebrospinal fluid in senile dementia and mental retardation. *Acta Virol*. nov 1975;19(6):493-5.
192. Baringer JR, Pisani P. Herpes simplex virus genomes in human nervous system tissue analyzed by polymerase chain reaction. *Annals of neurology*. 1994;36(6):823-9.
193. Liedtke W, Opalka B, Zimmermann CW, Lignitz E. Age distribution of latent herpes simplex virus 1 and varicella-zoster virus genome in human nervous tissue. *J Neurol Sci*. mai 1993;116(1):6-11.
194. Itabashi S, Arai H, Matsui T, Higuchi S, Sasaki H. Herpes simplex virus and risk of Alzheimer's disease. *The lancet*. 1997;349(9058):1102.
195. Gordon L, McQuaid S, Cosby SL. Detection of herpes simplex virus (types 1 and 2) and human herpesvirus 6 DNA in human brain tissue by polymerase chain reaction. *Clinical and Diagnostic Virology*. juin 1996;6(1):33-40.
196. Hall GF, Patuto BA. Is tau ready for admission to the prion club? *Prion*. 1 juill 2012;6(3):223-33.
197. Epstein A. Les vecteurs herpétiques pour le transfert de gènes. *Med Sci (Paris)*. 1992;8(9):902.
198. Jerusalinsky D, Baez MV, Epstein AL. Herpes simplex virus type 1-based amplicon vectors for fundamental research in neurosciences and gene therapy of neurological diseases. *Journal of Physiology-Paris*. 1 janv 2012;106(1):2-11.
199. Ball MJ. Limbic predilection in Alzheimer dementia: is reactivated herpesvirus involved? *Can J Neurol Sci*. août 1982;9(3):303-6.
200. Takahashi T, Shirasu M, Shirasu M, Kubo K-Y, Onozuka M, Sato S, et al. The locus coeruleus projects to the mesencephalic trigeminal nucleus in rats. *Neuroscience Research*. oct 2010;68(2):103-6.
201. Sharma Y, Xu T, Graf WM, Fobbs A, Sherwood CC, Hof PR, et al. Comparative anatomy of the locus coeruleus in humans and nonhuman primates. *The Journal of Comparative Neurology*. 1 avr 2010;518(7):963-71.
202. Calderón-Garcidueñas L, González-Maciel A, Reynoso-Robles R, Delgado-Chávez R, Mukherjee PS, Kulesza RJ, et al. Hallmarks of Alzheimer disease are evolving relentlessly in

- Metropolitan Mexico City infants, children and young adults. APOE4 carriers have higher suicide risk and higher odds of reaching NFT stage V at ≤ 40 years of age. *Environmental Research*. 1 juill 2018;164:475-87.
203. Mori I, Nishiyama Y, Yokochi T, Kimura Y. Olfactory transmission of neurotropic viruses. *Journal of Neurovirology*. janv 2005;11(2):129-37.
 204. Velayudhan L, Gasper A, Pritchard M, Baillon S, Messer C, Proitsi P. Pattern of Smell Identification Impairment in Alzheimer's Disease. *JAD*. 30 mai 2015;46(2):381-7.
 205. De Chiara G, Piacentini R, Fabiani M, Mastrodonato A, Marcocci ME, Limongi D, et al. Recurrent herpes simplex virus-1 infection induces hallmarks of neurodegeneration and cognitive deficits in mice. *Kalejta RF, éditeur. PLOS Pathogens*. 14 mars 2019;15(3):e1007617.
 206. Hill JM, Clement C. Herpes Simplex Virus Type 1 DNA in Human Corneas: What Are the Virological and Clinical Implications? *The Journal of Infectious Diseases*. juill 2009;200(1):1-4.
 207. Gajdusek DC. Unconventional Viruses and the Origin and Disappearance of Kuru. *Science*. 1977;197:19.
 208. Peter JB, Sevall JS. Review of 3200 serially received CSF samples submitted for type-specific HSV detection by PCR in the reference laboratory setting. *Molecular and Cellular Probes*. juin 2001;15(3):177-82.
 209. del C Cárdenas-Aguayo M del, del C Silva-Lucero M del, Cortes-Ortiz M, Jimnez-Ramos B, Gmez-Virgilio L, Ramirez-Rodriguez G, et al. Physiological Role of Amyloid Beta in Neural Cells: The Cellular Trophic Activity. In: *Heinbockel T, éditeur. Neurochemistry. InTech*; 2014.
 210. Kunicki S, Richardson J, Mehta PD, Kim KS, Zorychta E. The Effects of Age, Apolipoprotein E Phenotype and Gender on the Concentration of Amyloid-b (Ab) 40, Ab 42, Apolipoprotein E and Transthyretin in Human Cerebrospinal Fluid. *CLINICAL BIOCHEMISTRY*. 1998;31:7.
 211. Luna S, Cameron DJ, Ethell DW. Amyloid- β and APP Deficiencies Cause Severe Cerebrovascular Defects: Important Work for an Old Villain. *Matsui JI, éditeur. PLoS ONE*. 5 sept 2013;8(9):e75052.
 212. Tharp WG, Sarkar IN. Origins of amyloid- β . *BMC Genomics*. 30 avr 2013;14(1):290.
 213. Moir RD, Lathe R, Tanzi RE. The antimicrobial protection hypothesis of Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia*. déc 2018;14(12):1602-14.
 214. Eimer WA, Vijaya Kumar DK, Shanmugam NKN, Rodriguez AS, Mitchell T, Washicosky KJ, et al. Alzheimer's Disease-Associated β -Amyloid Is Rapidly Seeded by Herpesviridae to Protect against Brain Infection. *Neuron*. 11 juill 2018;99(1):56-63.e3.
 215. Krut JJ, Zetterberg H, Blennow K, Cinque P, Hagberg L, Price RW, et al. Cerebrospinal fluid Alzheimer's biomarker profiles in CNS infections. *Journal of Neurology*. févr 2013;260(2):620-6.

216. Féart C, Helmer C, Fleury H, BÉjot Y, Ritchie K, Amouyel P, et al. Association between IgM Anti-Herpes Simplex Virus and Plasma Amyloid-Beta Levels. *Tetteh KKA, éditeur. PLoS ONE*. 28 déc 2011;6(12):e29480.
217. Stanley LC, Mrak RE, Woody RC, Perrot LJ, Zhang S, Marshak DR, et al. Glial cytokines as neuropathogenic factors in HIV infection: pathogenic similarities to Alzheimer's disease. *J Neuropathol Exp Neurol*. mai 1994;53(3):231-8.
218. Esiri MM, Biddolph SC, Morris CS. Prevalence of Alzheimer plaques in AIDS. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. juill 1998;65(1):29-33.
219. Green DA, Masliah E, Vinters HV, Beizai P, Moore DJ, Achim CL. Brain deposition of beta-amyloid is a common pathologic feature in HIV positive patients. *AIDS*. 4 mars 2005;19(4):407-11.
220. Smith DB, Simmonds P, Bell JE. Brain viral burden, neuroinflammation and neurodegeneration in HAART-treated HIV positive injecting drug users. *J Neurovirol*. févr 2014;20(1):28-38.
221. Gosztyla ML, Brothers HM, Robinson SR. Alzheimer's Amyloid-b is an Antimicrobial Peptide: A Review of the Evidence. *Journal of Alzheimer's Disease*. 2018;
222. Miklossy J. Historic evidence to support a causal relationship between spirochetal infections and Alzheimer's disease. *Front Aging Neurosci*. 2015;7:46.
223. Edwards G, Moreno-Gonzalez I, Soto C. Amyloid-beta and tau pathology following repetitive mild traumatic brain injury. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. févr 2017;483(4):1137-42.
224. Mielke MM, Savica R, Wiste HJ, Weigand SD, Vemuri P, Knopman DS, et al. Head trauma and in vivo measures of amyloid and neurodegeneration in a population-based study. *Neurology*. 7 janv 2014;82(1):70-6.
225. Pluta R, Ułamek-Kozioł M, Januszewski S, Czuczwar S. Amyloid pathology in the brain after ischemia. *Folia Neuropathol*. 2019;57(3):220-6.
226. Miklossy J. Chronic inflammation and amyloidogenesis in Alzheimer's disease -- role of Spirochetes. *J Alzheimers Dis*. mai 2008;13(4):381-91.
227. Boelen E, Stassen FRM, van der Ven AJAM, Lemmens MAM, Steinbusch HPJ, Bruggeman CA, et al. Detection of amyloid beta aggregates in the brain of BALB/c mice after Chlamydia pneumoniae infection. *Acta Neuropathol*. sept 2007;114(3):255-61.
228. Little CS, Hammond CJ, MacIntyre A, Balin BJ, Appelt DM. Chlamydia pneumoniae induces Alzheimer-like amyloid plaques in brains of BALB/c mice. *Neurobiol Aging*. avr 2004;25(4):419-29.
229. Shipley SJ, Parkin ET, Itzhaki RF, Dobson CB. Herpes simplex virus interferes with amyloid precursor protein processing. *BMC Microbiology*. 2005;8.

230. Wozniak MA, Itzhaki RF, Shipley SJ, Dobson CB. Herpes simplex virus infection causes cellular β -amyloid accumulation and secretase upregulation. *Neuroscience Letters*. déc 2007;429(2-3):95-100.
231. De Chiara G, Marcocci ME, Civitelli L, Argnani R, Piacentini R, Ripoli C, et al. APP Processing Induced by Herpes Simplex Virus Type 1 (HSV-1) Yields Several APP Fragments in Human and Rat Neuronal Cells. Blaho JA, éditeur. *PLoS ONE*. 15 nov 2010;5(11):e13989.
232. Piacentini R, Civitelli L, Ripoli C, Marcocci ME, De Chiara G, Garaci E, et al. HSV-1 promotes Ca^{2+} -mediated APP phosphorylation and $\text{A}\beta$ accumulation in rat cortical neurons. *Neurobiology of Aging*. déc 2011;32(12):2323.e13-2323.e26.
233. Santana S, Recuero M, Bullido MJ, Valdivieso F, Aldudo J. Herpes simplex virus type I induces the accumulation of intracellular β -amyloid in autophagic compartments and the inhibition of the non-amyloidogenic pathway in human neuroblastoma cells. *Neurobiology of Aging*. févr 2012;33(2):430.e19-430.e33.
234. Civitelli L, Marcocci ME, Celestino I, Piacentini R, Garaci E, Grassi C, et al. Herpes simplex virus type 1 infection in neurons leads to production and nuclear localization of APP intracellular domain (AICD): implications for Alzheimer's disease pathogenesis. *Journal of NeuroVirology*. oct 2015;21(5):480-90.
235. Piacentini R, Li Puma DD, Ripoli C, Elena Marcocci M, De Chiara G, Garaci E, et al. Herpes Simplex Virus type-1 infection induces synaptic dysfunction in cultured cortical neurons via GSK-3 activation and intraneuronal amyloid- β protein accumulation. *Sci Rep*. déc 2015;5(1):15444.
236. Kristen H, Santana S, Sastre I, Recuero M, Bullido MJ, Aldudo J. Herpes simplex virus type 2 infection induces AD-like neurodegeneration markers in human neuroblastoma cells. *Neurobiology of Aging*. oct 2015;36(10):2737-47.
237. Bourgade K, Le Page A, Bocti C, Witkowski JM, Dupuis G, Frost EH, et al. Protective Effect of Amyloid- β Peptides Against Herpes Simplex Virus-1 Infection in a Neuronal Cell Culture Model. Otth C, éditeur. *JAD*. 22 févr 2016;50(4):1227-41.
238. Powell-Doherty RD, Abbott ARN, Nelson LA, Bertke AS. Amyloid- β and p-Tau Anti-Threat Response to Herpes Simplex Virus 1 Infection in Primary Adult Murine Hippocampal Neurons. Longnecker RM, éditeur. *J Virol*. 19 févr 2020;94(9):e01874-19, /jvi/94/9/JVI.01874-19.atom.
239. Cairns DM, Rouleau N, Parker RN, Walsh KG, Gehrke L, Kaplan DL. A 3D human brain-like tissue model of herpes-induced Alzheimer's disease. *Sci Adv*. mai 2020;6(19):eaay8828.
240. Lau P, Joly é. Le contexte immunologique très particulier du système nerveux central. *médecine/sciences*. 2001;17(3):395.
241. Streit WJ, Xue Q-S. Human CNS immune senescence and neurodegeneration. *Current Opinion in Immunology*. août 2014;29:93-6.
242. Wiesner J, Vilcinskis A. Antimicrobial peptides: The ancient arm of the human immune system. *Virulence*. 2010;1(5):440-64.

243. Williams WM, Torres S, Siedlak SL, Castellani RJ, Perry G, Smith MA, et al. Antimicrobial peptide β -defensin-1 expression is upregulated in Alzheimer's brain. *J Neuroinflammation*. 18 oct 2013;10:127.
244. Lukiw WJ, Cui JG, Yuan LY, Bhattacharjee PS, Corkern M, Clement C, et al. Acyclovir or A β 42 peptides attenuate HSV-1-induced miRNA-146a levels in human primary brain cells: *NeuroReport*. oct 2010;21(14):922-7.
245. Bourgade K, Garneau H, Giroux G, Le Page AY, Bocti C, Dupuis G, et al. β -Amyloid peptides display protective activity against the human Alzheimer's disease-associated herpes simplex virus-1. *Biogerontology*. févr 2015;16(1):85-98.
246. White MR, Kandel R, Tripathi S, Condon D, Qi L, Taubenberger J, et al. Alzheimer's Associated β -Amyloid Protein Inhibits Influenza A Virus and Modulates Viral Interactions with Phagocytes. Palaniyar N, éditeur. *PLoS ONE*. 2 juill 2014;9(7):e101364.
247. Kumar DKV, Choi SH, Washicosky KJ, Eimer WA, Tucker S, Ghofrani J, et al. Amyloid- β peptide protects against microbial infection in mouse and worm models of Alzheimer's disease. *Science Translational Medicine*. 2016;16.
248. Spitzer P, Condic M, Herrmann M, Oberstein TJ, Scharin-Mehlmann M, Gilbert DF, et al. Amyloidogenic amyloid- β -peptide variants induce microbial agglutination and exert antimicrobial activity. *Sci Rep*. 14 sept 2016;6.
249. Papareddy P, Mörgelin M, Walse B, Schmidtchen A, Malmsten M. Antimicrobial activity of peptides derived from human β -amyloid precursor protein. *Journal of Peptide Science*. 2012;18(3):183-91.
250. Cribbs DH, Azizeh BY, Cotman CW, LaFerla FM. Fibril Formation and Neurotoxicity by a Herpes Simplex Virus Glycoprotein B Fragment with Homology to the Alzheimer's A β Peptide \dagger . *Biochemistry*. mai 2000;39(20):5988-94.
251. Westwell-Roper C, Verchere CB. Modulation of Innate Immunity by Amyloidogenic Peptides. *Trends in Immunology*. 2019;40(8):762-80.
252. Carter C. Alzheimer's Disease: APP, Gamma Secretase, APOE, CLU, CR1, PICALM, ABCA7, BIN1, CD2AP, CD33, EPHA1, and MS4A2, and Their Relationships with Herpes Simplex, C. Pneumoniae, Other Suspect Pathogens, and the Immune System. *International Journal of Alzheimer's Disease*. 2011;
253. Carter CJ. Interactions between the products of the Herpes simplex genome and Alzheimer's disease susceptibility genes: Relevance to pathological-signalling cascades. *Neurochemistry International*. mai 2008;52(6):920-34.
254. Bearer EL. Perspectives on herpes-APP interactions. *Aging Cell*. avr 2004;3(2):81-4.
255. Cheng S-B, Ferland P, Webster P, Bearer EL. Herpes Simplex Virus Dances with Amyloid Precursor Protein while Exiting the Cell. Schulz T, éditeur. *PLoS ONE*. 31 mars 2011;6(3):e17966.

256. Satpute-Krishnan P, DeGiorgis JA, Bearer EL. Fast anterograde transport of Herpes Simplex Virus: Role for the amyloid precursor protein of Alzheimer's disease. *Aging Cell*. 2013;25.
257. Albaret M-A, Textoris J, Dalzon B, Lambert J, Linard M, Helmer C, et al. Caspase 3 sequestration in aggresome: the missing link between HSV-1 and Alzheimer Disease. *Soumis*.
258. Nixon RA. Autophagy, amyloidogenesis and Alzheimer disease. *Journal of Cell Science*. 1 déc 2007;120(23):4081-91.
259. Wileman T. Aggresomes and Autophagy Generate Sites for Virus Replication. *Science*. 12 mai 2006;312(5775):875-8.
260. Tallóczy Z, Virgin HW, Levine B. PKR-dependent autophagic degradation of herpes simplex virus type 1. *Autophagy*. mars 2006;2(1):24-9.
261. Dominguez D, Tournoy J, Hartmann D, Huth T, Cryns K, Deforce S, et al. Phenotypic and biochemical analyses of BACE1- and BACE2-deficient mice. *J Biol Chem*. 2 sept 2005;280(35):30797-806.
262. Carter CJ. Alzheimer's disease plaques and tangles: Cemeteries of a Pyrrhic victory of the immune defence network against herpes simplex infection at the expense of complement and inflammation-mediated neuronal destruction. *Neurochemistry International*. févr 2011;58(3):301-20.
263. Green RC. Effect of Tarenflurbil on Cognitive Decline and Activities of Daily Living in Patients With Mild Alzheimer Disease A Randomized Controlled Trial. *JAMA*. 16 déc 2009;302(23):2557.
264. Bradbury J. First autopsy results from Alzheimer vaccine trial released. Elsevier; 2003.
265. Itzhaki RF, Dobson CB. Alzheimer's disease and herpes. *Canadian Medical Association Journal*. 2002;167(1):13-13.
266. Orgogozo J-M, Gilman S, Dartigues J-F, Laurent B, Puel M, Kirby LC, et al. Subacute meningoencephalitis in a subset of patients with AD after Abeta42 immunization. *Neurology*. 8 juill 2003;61(1):46-54.
267. Wozniak MA, Frost AL, Itzhaki RF. Alzheimer's Disease-Specific Tau Phosphorylation is Induced by Herpes Simplex Virus Type 1. *Journal of Alzheimer's Disease*. 2009;16(2):341-50.
268. Álvarez G, Aldudo J, Alonso M, Santana S, Valdivieso F. Herpes simplex virus type 1 induces nuclear accumulation of hyperphosphorylated tau in neuronal cells. *Journal of Neuroscience Research*. mai 2012;90(5):1020-9.
269. Ball MJ, Lukiw WJ, Kammerman EM, Hill JM. Intracerebral propagation of Alzheimer's disease: Strengthening evidence of a herpes simplex virus etiology. *Alzheimer's & Dementia*. mars 2013;9(2):169-75.
270. McQuaid S, Allen IV, McMahon J, Kirk J. Association of measles virus with neurofibrillary tangles in subacute sclerosing panencephalitis: a combined in situ hybridization and immunocytochemical investigation. *Neuropathol Appl Neurobiol*. avr 1994;20(2):103-10.

271. Ikeda K, Akiyama H, Kondo H, Arai T, Arai N, Yagishita S. Numerous glial fibrillary tangles in oligodendroglia in cases of subacute sclerosing panencephalitis with neurofibrillary tangles. *Neurosci Lett*. 14 juill 1995;194(1-2):133-5.
272. Mandybur TI. The distribution of Alzheimer's neurofibrillary tangles and gliosis in chronic subacute sclerosing panencephalitis. *Acta Neuropathol*. 1990;80(3):307-10.
273. Anthony IC, Ramage SN, Carnie FW, Simmonds P, Bell JE. Accelerated Tau deposition in the brains of individuals infected with human immunodeficiency virus-1 before and after the advent of highly active anti-retroviral therapy. *Acta Neuropathol*. juin 2006;111(6):529-38.
274. Brown LAM, Scarola J, Smith AJ, Sanberg PR, Tan J, Giunta B. The role of tau protein in HIV-associated neurocognitive disorders. *Mol Neurodegener*. 10 oct 2014;9:40.
275. Miklossy J. Alzheimer's disease - a neurospirochetosis. Analysis of the evidence following Koch's and Hill's criteria. *J Neuroinflammation*. 4 août 2011;8:90.
276. Zambrano Á, Solis L, Salvadores N, Cortés M, Lerchundi R, Otth C. Neuronal Cytoskeletal Dynamic Modification and Neurodegeneration Induced by Infection with Herpes Simplex Virus Type 1. *Journal of Alzheimer's Disease*. 11 juin 2008;14(3):259-69.
277. Lerchundi R. Tau Cleavage at D421 by Caspase-3 is Induced in Neurons and Astrocytes Infected with Herpes Simplex Virus Type 1. *Journal of Alzheimer's Disease*. 2011;(3):513-20.
278. Martin C. Inflammatory and Neurodegeneration Markers during Asymptomatic HSV-1 Reactivation. *Journal of Alzheimer's Disease*. 2014;(4):849-59.
279. Padeloup D. Le transport intracellulaire des herpèsvirus. *Virologie*. 2016;20:9.
280. Diwaker D, Wilson D. Microtubule-Dependent Trafficking of Alphaherpesviruses in the Nervous System: The Ins and Outs. *Viruses*. 17 déc 2019;11(12).
281. Takakuwa H, Goshima F, Koshizuka T, Murata T, Daikoku T, Nishiyama Y. Herpes simplex virus encodes a virion-associated protein which promotes long cellular processes in over-expressing cells: Promotion of process formation by HSV UL21 protein. *Genes to Cells*. nov 2001;6(11):955-66.
282. Yedowitz JC, Kotsakis A, Schlegel EFM, Blaho JA. Nuclear Localizations of the Herpes Simplex Virus Type 1 Tegument Proteins VP13/14, vhs, and VP16 Precede VP22-Dependent Microtubule Reorganization and VP22 Nuclear Import. *JVI*. 15 avr 2005;79(8):4730-43.
283. Elliott G, O'reilly D, O'hare P. Phosphorylation of the Herpes Simplex Virus Type 1 Tegument Protein VP22. *Virology*. déc 1996;226(1):140-5.
284. Baum L, Masliah E, Iimoto DS, Hansen LA, Halliday WC, Saitoh T. Casein kinase II is associated with neurofibrillary tangles but is not an intrinsic component of paired helical filaments. *Brain Research*. 21 févr 1992;573(1):126-32.
285. Vincent I. Mitotic mechanisms in Alzheimer's disease? *The Journal of Cell Biology*. 1 févr 1996;132(3):413-25.

286. Nagy Z, Esiri MM, Smith AD. The cell division cycle and the pathophysiology of Alzheimer's disease. *Cell cycle*. :9.
287. Advani SJ, Weichselbaum RR, Roizman B. The role of cdc2 in the expression of herpes simplex virus genes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 26 sept 2000;97(20):10996-1001.
288. Zhao RY, Elder RT. Viral infections and cell cycle G2/M regulation. *Cell Research*. mars 2005;15(3):143-9.
289. Vincent I, Jicha G, Rosado M, Dickson DW. Aberrant expression of mitotic cdc2/cyclin B1 kinase in degenerating neurons of Alzheimer's disease brain. *J Neurosci*. 15 mai 1997;17(10):3588-98.
290. Wozniak MA, Frost AL, Preston CM, Itzhaki RF. Antivirals Reduce the Formation of Key Alzheimer's Disease Molecules in Cell Cultures Acutely Infected with Herpes Simplex Virus Type 1. *Efstathiou S, éditeur. PLoS ONE*. 7 oct 2011;6(10):e25152.
291. Kobayashi N, Masuda J, Kudoh J, Shimizu N, Yoshida T. Binding sites on tau proteins as components for antimicrobial peptides. *Biocontrol Sci*. juin 2008;13(2):49-56.
292. Saffran HA, Pare JM, Corcoran JA, Weller SK, Smiley JR. Herpes simplex virus eliminates host mitochondrial DNA. *EMBO reports*. févr 2007;8(2):188-93.
293. Itzhaki R, Wozniak M. Herpes simplex virus type 1, apolipoprotein E, and cholesterol: A dangerous liaison in Alzheimer's disease and other disorders. *Progress in Lipid Research*. janv 2006;45(1):73-90.
294. Tarter KD, Simanek AM, Dowd JB, Aiello AE. Persistent Viral Pathogens and Cognitive Impairment Across the Life Course in the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *The Journal of Infectious Diseases*. 15 mars 2014;209(6):837-44.
295. Fruchter E, Goldberg S, Fenchel D, Grotto I, Ginat K, Weiser M. The impact of Herpes simplex virus type 1 on cognitive impairments in young, healthy individuals — A historical prospective study. *Schizophrenia Research*. 2015;5.
296. Fulop T, Larbi A, Dupuis G, Le Page A, Frost EH, Cohen AA, et al. Immunosenescence and Inflamm-Aging As Two Sides of the Same Coin: Friends or Foes? *Frontiers in Immunology*. 10 janv 2018;8.
297. Pawelec G. Age and immunity: What is "immunosenescence"? *Experimental Gerontology*. mai 2018;105:4-9.
298. Lang PO, Govind S, Aspinall R. L'immunosénescence. *NPG Neurologie - Psychiatrie - Gériatrie*. août 2012;12(70):171-81.
299. McManus RM, Heneka MT. Role of neuroinflammation in neurodegeneration: new insights. *Alz Res Therapy*. déc 2017;9(1):14.
300. Fülöp T, Larbi A, Pawelec G. Human T Cell Aging and the Impact of Persistent Viral Infections. *Frontiers in Immunology*. 2013;4.

301. Almanzar G, Schwaiger S, Jenewein B, Keller M, Herndler-Brandstetter D, Wurzner R, et al. Long-Term Cytomegalovirus Infection Leads to Significant Changes in the Composition of the CD8+ T-Cell Repertoire, Which May Be the Basis for an Imbalance in the Cytokine Production Profile in Elderly Persons. *Journal of Virology*. 15 mars 2005;79(6):3675-83.
302. Lorette G, Crochard A, Mimaud V, Wolkenstein P, Stalder J-F, El Hasnaoui A. A survey on the prevalence of orofacial herpes in France: The INSTANT Study. *Journal of the American Academy of Dermatology*. août 2006;55(2):225-32.
303. Ciornei CD, Tapper H, Bjartell A, Sternby NH, Bodelsson M. Human antimicrobial peptide LL-37 is present in atherosclerotic plaques and induces death of vascular smooth muscle cells: a laboratory study. *BMC Cardiovasc Disord*. 20 déc 2006;6:49.
304. Kahlenberg JM, Kaplan MJ. Little peptide, big effects: the role of LL-37 in inflammation and autoimmune disease. *J Immunol*. 15 nov 2013;191(10).
305. Fiala M, Lin J, Ringman J, Kermani-Arab V, Tsao G, Patel A, et al. Ineffective phagocytosis of amyloid- β by macrophages of Alzheimer's disease patients. *Journal of Alzheimer's Disease*. 1 janv 2005;7(3):221-32.
306. Krabbe G, Halle A, Matyash V, Rinnenthal JL, Eom GD, Bernhardt U, et al. Functional impairment of microglia coincides with Beta-amyloid deposition in mice with Alzheimer-like pathology. *PLoS One*. 2013;8(4):e60921.
307. ElAli A, Rivest S. Microglia in Alzheimer's disease: A multifaceted relationship. *Brain, Behavior, and Immunity*. 1 juill 2016;55:138-50.
308. Perez-Nievas BG, Stein TD, Tai H-C, Dols-Icardo O, Scotton TC, Barroeta-Espar I, et al. Dissecting phenotypic traits linked to human resilience to Alzheimer's pathology. *Brain*. août 2013;136(8):2510-26.
309. Hickman SE, Allison EK, El Khoury J. Microglial dysfunction and defective beta-amyloid clearance pathways in aging Alzheimer's disease mice. *J Neurosci*. 13 août 2008;28(33):8354-60.
310. Njie EG, Boelen E, Stassen FR, Steinbusch HWM, Borchelt DR, Streit WJ. Ex vivo cultures of microglia from young and aged rodent brain reveal age-related changes in microglial function. *Neurobiol Aging*. janv 2012;33(1):195.e1-12.
311. Mukhin VN, Pavlov KI, Klimenko VM. Mechanisms of Neuron Loss in Alzheimer's Disease. *Neurosci Behav Physiol*. juin 2017;47(5):508-16.
312. Abel L, Fellay J, Haas DW, Schurr E, Srikrishna G, Urbanowski M, et al. Genetics of human susceptibility to active and latent tuberculosis: present knowledge and future perspectives. *The Lancet Infectious Diseases*. mars 2018;18(3):e64-75.
313. Abel L, Alcaïa A, Schurr E. The dissection of complex susceptibility to infectious disease: bacterial, viral and parasitic infections. *Current Opinion in Immunology*. oct 2014;30:72-8.

314. Liu C, Chyr J, Zhao W, Xu Y, Ji Z, Tan H, et al. Genome-Wide Association and Mechanistic Studies Indicate That Immune Response Contributes to Alzheimer's Disease Development. *Front Genet.* 24 sept 2018;9.
315. Porcellini E, Carbone I, Ianni M, Licastro F. Alzheimer's disease gene signature says: beware of brain viral infections. *Immunity & Ageing.* 2010;7(1):16.
316. Costa AS, Agostini S, Guerini FR, Mancuso R, Zanzottera M, Ripamonti E, et al. Modulation of Immune Responses to Herpes Simplex Virus Type 1 by IFNL3 and IRF7 Polymorphisms: A Study in Alzheimer's Disease. *J Alzheimers Dis.* 2017;60(3):1055-63.
317. Licastro F, Raschi E, Carbone I, Porcellini E. Variants in Antiviral Genes are Risk Factors for Cognitive Decline and Dementia. *J Alzheimers Dis.* 2015;46(3):655-63.
318. Licastro F, Carbone I, Ianni M, Porcellini E. Gene signature in Alzheimer's disease and environmental factors: the virus chronicle. *J Alzheimers Dis.* 2011;27(4):809-17.
319. Lin W-R, Shang D, Wilcock GK, Itzhaki RF. Alzheimer's disease, herpes simplex virus type 1, cold sores and apolipoprotein E4. Portland Press Limited; 1995.
320. Koelle DM, Magaret A, Warren T, Schellenberg GD, Wald A. APOE genotype is associated with oral herpetic lesions but not genital or oral herpes simplex virus shedding. *Sexually Transmitted Infections.* 1 juin 2010;86(3):202-6.
321. Lin WR, Wozniak MA, Esiri MM, Klenerman P, Itzhaki RF. Herpes simplex encephalitis: involvement of apolipoprotein E genotype. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* janv 2001;70(1):117-9.
322. Nicoll JA, Martin L, Stewart J, Murray LS, Love S, Kennedy PG. Involvement of apolipoprotein E in herpes simplex encephalitis. *Neuroreport.* 26 mars 2001;12(4):695-8.
323. Lin WR, Tullo AB, Itzhaki RF. Apolipoprotein E and herpes virus diseases: herpes simplex keratitis. *Eur J Hum Genet.* avr 1999;7(3):401-3.
324. Bhattacharjee PS, Neumann DM, Foster TP, Bouhanik S, Clement C, Vinay D, et al. Effect of human apolipoprotein E genotype on the pathogenesis of experimental ocular HSV-1. *Exp Eye Res.* août 2008;87(2):122-30.
325. Itzhaki RF, Wozniak MA. Herpes Simplex Virus Type 1 in Alzheimer's Disease: The Enemy Within. *Journal of Alzheimer's Disease.* 2008;13.
326. Itzhaki RF, Lin W-R. Herpes simplex virus type I in brain and the type 4 allele of the apolipoprotein E gene are a combined risk factor for Alzheimer's disease. *Biochemical Society Transactions.* mai 1998;26(2):273-7.
327. Latchman. Herpes simplex virus and risk of Alzheimer's disease. *The Lancet.* 1997;
328. Corder E, Lannfelt L, Mulder M. Apolipoprotein E and herpes simplex virus 1 in Alzheimer's disease. *The Lancet.* oct 1998;352(9136):1312-3.

329. Dobson CB, Itzhaki RF. Herpes simplex virus type 1 and Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging*. 1999;9.
330. Esiri MM. Potential for HSV-1 vaccination to reduce risk of HSV-1 encephalitis and/or Alzheimer's disease? *Neurobiology of Aging*. sept 2001;22(5):711-3.
331. Federoff H. An infectious conspiracy: the case for HSV-1 and APOE ϵ 4 in Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging* [Internet]. 1999 [cité 21 nov 2018]; Disponible sur: https://ac-els-cdn-com.gate2.inist.fr/S0197458099000706/1-s2.0-S0197458099000706-main.pdf?_tid=029e4536-9804-41bb-9c14-708f32bceabb&acdnat=1542824081_3c73b8e3778ac49e017e45b9e263a
332. Lopatko Lindman K, Weidung B, Olsson J, Josefsson M, Kok E, Johansson A, et al. A genetic signature including apolipoprotein E ϵ 4 potentiates the risk of herpes simplex-associated Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia: Translational Research & Clinical Interventions*. 2019;5:697-704.
333. Lövheim H, Norman T, Weidung B, Olsson J, Josefsson M, Adolfsson R, et al. Herpes Simplex Virus, APOE ϵ 4, and Cognitive Decline in Old Age: Results from the Betula Cohort Study. *Journal of Alzheimer's Disease*. 8 janv 2019;67(1):211-20.
334. Burgos JS, Ramirez C, Sastre I, Bullido MJ, Valdivieso F. ApoE4 is more efficient than E3 in brain access by herpes simplex virus type. *Genetics of nervous system disease*. 2003;14(14):3.
335. Burgos JS, Ramirez C, Sastre I, Valdivieso F. Effect of Apolipoprotein E on the Cerebral Load of Latent Herpes Simplex Virus Type 1 DNA. *Journal of Virology*. 1 juin 2006;80(11):5383-7.
336. Urosevic N, Martins RN. Infection and Alzheimer's Disease: The APOE ϵ 4 Connection and Lipid Metabolism. Miklossy J, Martins RN, éditeurs. *Journal of Alzheimer's Disease*. 28 avr 2008;13(4):421-35.
337. Miller RM, Federoff HJ. Isoform-specific effects of ApoE on HSV immediate early gene expression and establishment of latency. *Neurobiology of Aging*. 1 janv 2008;29(1):71-7.
338. Miyata M, Smith JD. Apolipoprotein E allele-specific antioxidant activity and effects on cytotoxicity by oxidative insults and b-amyloid peptides. *Nature Genetics*. 1996;14:7.
339. 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. *European Journal of Neurology*. 2015;22(12):1519-25.
340. Katan M, Moon YP, Paik MC, Sacco RL, Wright CB, Elkind MSV. Infectious burden and cognitive function: The Northern Manhattan Study. *Neurology*. 26 mars 2013;80(13):1209-15.
341. Strandberg TE, Pitkala KH, Linnavuori KH, Tilvis RS. Impact of Viral and Bacterial Burden on Cognitive Impairment in Elderly Persons With Cardiovascular Diseases. *Stroke*. sept 2003;34(9):2126-31.
342. George KM, Folsom AR, Norby FL, Lutsey PL. No Association Found Between Midlife Seropositivity for Infection and Subsequent Cognitive Decline: The Atherosclerosis Risk in Communities Neurocognitive Study (ARIC-NCS). *J Geriatr Psychiatry Neurol*. 16 juin 2019;891988719856692.

343. Lövheim H, Olsson J, Weidung B, Johansson A, Eriksson S, Hallmans G, et al. Interaction between Cytomegalovirus and Herpes Simplex Virus Type 1 Associated with the Risk of Alzheimer's Disease Development. *Journal of Alzheimer's Disease*. 9 janv 2018;61(3):939-45.
344. Siscovick DS, Schwartz SM, Corey L, Grayston JT, Ashley R, Wang S-P, et al. *Chlamydia pneumoniae* , Herpes Simplex Virus Type 1, and Cytomegalovirus and Incident Myocardial Infarction and Coronary Heart Disease Death in Older Adults: The Cardiovascular Health Study. *Circulation*. 7 nov 2000;102(19):2335-40.
345. Roivainen M, Viik-Kajander M, Palosuo T, Toivanen P, Leinonen M, Saikku P, et al. Infections, Inflammation, and the Risk of Coronary Heart Disease. *Circulation*. 25 janv 2000;101(3):252-7.
346. Benditt EP, Barrett T, McDougall JK. Viruses in the etiology of atherosclerosis. *PNAS*. 1 oct 1983;80(20):6386-9.
347. Agostini S, Mancuso R, Baglio F, Cabinio M, Hernis A, Costa AS, et al. High avidity HSV-1 antibodies correlate with absence of amnesic Mild Cognitive Impairment conversion to Alzheimer's disease. *Brain, Behavior, and Immunity*. nov 2016;58:254-60.
348. Mancuso R, Baglio F, Cabinio M, Calabrese E, Hernis A, Nemni R, et al. Titers of Herpes Simplex Virus Type 1 Antibodies Positively Correlate with Grey Matter Volumes in Alzheimer's Disease. *Journal of Alzheimer's Disease*. 2014;38:5.
349. Mancuso R, Baglio F, Agostini S, Agostini MC, Laganã MM, Hernis A, et al. Relationship between herpes simplex virus-1-specific antibody titers and cortical brain damage in Alzheimer's disease and amnesic mild cognitive impairment. *Frontiers in Aging Neuroscience*. 15 oct 2014;6.
350. Hashido M, Inouye S, Kawana T. Differentiation of primary from nonprimary genital herpes infections by a herpes simplex virus-specific immunoglobulin G avidity assay. *J Clin Microbiol*. juill 1997;35(7):1766-8.
351. Gutiérrez J, Rodríguez M, Maroto MC, Piédrola G, Peirón J. Behaviour of IgG antibody avidity for the antigen and of IgA antibody in active cytomegalovirus, Epstein-Barr virus, herpes simplex virus and human herpes virus 6 infections. Adaptation of a commercial test. *Journal of Infection*. juill 1997;35(1):25-30.
352. Brown EL, Morrow R, Krantz EM, Arvin AM, Prober CG, Yasukawa LL, et al. Maternal herpes simplex virus antibody avidity and risk of neonatal herpes. *American Journal of Obstetrics & Gynecology*. 1 juill 2006;195(1):115-20.
353. Odièvre M-H, Cointe D, Thébaud B, Zupan V, Ingrand D, Lacaze-Masmonteil T, et al. The Assessment of IgG Avidity in the Evaluation of Perinatal Herpes Simplex Virus Infection. *Journal of Perinatology*. déc 2002;22(8):669-71.
354. Herrera-Ortiz A, Conde-Glez CJ, Vergara-Ortega DN, García-Cisneros S, Olamendi-Portugal ML, Sánchez-Alemán MA. Avidity of antibodies against HSV-2 and risk to neonatal transmission among Mexican pregnant women. *Infect Dis Obstet Gynecol*. 2013;2013:140142.

355. Eisen HN. Affinity Enhancement of Antibodies: How Low-Affinity Antibodies Produced Early in Immune Responses Are Followed by High-Affinity Antibodies Later and in Memory B-Cell Responses. *Cancer Immunology Research*. 1 mai 2014;2(5):381-92.
356. Grydeland H, Walhovd KB, Westlye LT, Due-Tønnessen P, Ormaasen V, Sundseth Ø, et al. Amnesia following herpes simplex encephalitis: diffusion-tensor imaging uncovers reduced integrity of normal-appearing white matter. *Radiology*. déc 2010;257(3):774-81.
357. Prasad KM, Watson AMM, Dickerson FB, Yolken RH, Nimgaonkar VL. Exposure to herpes simplex virus type 1 and cognitive impairments in individuals with schizophrenia. *Schizophr Bull*. nov 2012;38(6):1137-48.
358. Prasad KM, Eack SM, Goradia D, Pancholi KM, Keshavan MS, Yolken RH, et al. Progressive gray matter loss and changes in cognitive functioning associated with exposure to herpes simplex virus 1 in schizophrenia: a longitudinal study. *Am J Psychiatry*. août 2011;168(8):822-30.
359. Whitford TJ, Wood SJ, Yung A, Cocchi L, Berger G, Shenton ME, et al. Structural abnormalities in the cuneus associated with Herpes Simplex Virus (type 1) infection in people at ultra high risk of developing psychosis. *Schizophr Res*. mars 2012;135(1-3):175-80.
360. Warren-Gash C, Forbes HJ, Williamson E, Breuer J, Hayward AC, Mavrodaris A, et al. Human herpesvirus infections and dementia or mild cognitive impairment: a systematic review and meta-analysis. *Sci Rep*. 18 mars 2019;9.
361. Wu D, Wang C, Pang P, Kong H, Lin Z, Wang H, et al. The association between herpes simplex virus type 1 infection and Alzheimer's disease. *Journal of Clinical Neuroscience*. déc 2020;82:63-70.
362. Agostini S, Mancuso R, Hernis A, Costa AS, Nemni R, Clerici M. HSV-1-Specific IgG Subclasses Distribution and Serum Neutralizing Activity in Alzheimer's Disease and in Mild Cognitive Impairment. *J Alzheimers Dis*. 2018;63(1):131-8.
363. Whalley LJ, Urbaniak SJ, Darg C, Peutherer JF, Christie JE. Histocompatibility antigens and antibodies to viral and other antigens in Alzheimer pre-senile dementia. *Acta Psychiatrica Scandinavica*. 1 janv 1980;61(1):1-7.
364. Renvoize EB, Awad LO, Hambling MH. A sero-epidemiological study of conventional infectious agents in Alzheimer's disease. *Age and Ageing*. 1987;16(5):311-4.
365. Ounanian A, Seigneurin J-M, Guilbert B, Avrameas S, Renvez J-C. Antibodies to viral antigens, xenoantigens, and autoantigens in alzheimer's disease. *J Clin Lab Anal*. 1 janv 1990;4(5):367-75.
366. Kobayashi N, Nagata T, Shinagawa S, Oka N, Shimada K, Shimizu A, et al. Increase in the IgG avidity index due to herpes simplex virus type 1 reactivation and its relationship with cognitive function in amnesic mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. janv 2013;430(3):907-11.

367. Lycke E, Norrby R, Roos B-E. A Serological Study on Mentally Ill Patients: With Particular Reference to the Prevalence of Herpes Virus Infections. *The British Journal of Psychiatry*. mars 1974;124(580):273-9.
368. Lord A, Sutton RNP, Baker AA, Hussein SAM. Serological studies in the elderly. *Age and Ageing*. 1978;7(2):116-22.
369. Aiello AE, Haan MN, Blythe L, Moore K, Gonzalez JM, Jagust W. The Influence of Latent Viral Infection on Rate of Cognitive Decline over 4 Years: Latent infection predicts cognitive decline. *Journal of the American Geriatrics Society*. juill 2006;54(7):1046-54.
370. Lövheim H, Gilthorpe J, Adolfsson R, Nilsson L-G, Elgh F. Reactivated herpes simplex infection increases the risk of Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia*. juin 2015;11(6):593-9.
371. Lövheim H, Gilthorpe J, Johansson A, Eriksson S, Hallmans G, Elgh F. Herpes simplex infection and the risk of Alzheimer's disease: A nested case-control study. *Alzheimer's & Dementia*. juin 2015;11(6):587-92.
372. Barnes LL, Capuano AW, Aiello AE, Turner AD, Yolken RH, Torrey EF, et al. Cytomegalovirus Infection and Risk of Alzheimer Disease in Older Black and White Individuals. *J Infect Dis*. 15 janv 2015;211(2):230-7.
373. The 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(6):316-25.
374. Pérès K, Matharan F, Allard M, Amieva H, Baldi I, Barberger-Gateau P, et al. Health and aging in elderly farmers: the AMI cohort. *BMC Public Health*. déc 2012;12(1):558.
375. Oppenheim C, Ducreux D, Rodrigo S, Hodel J, Tourdias T, Charbonneau F, et al. Imagerie en tenseur de diffusion et tractographie de l'encéphale et de la moelle. *Journal de Radiologie*. mars 2007;88(3):510-20.
376. Vellas B, Carrie I, Gillette-Guyonnet S, Touchon J, Dantoine T, Cuffi MN, et al. MAPT study : a multidomain approach for preventing Alzheimer's disease: design and baseline data. 2015;23.
377. Andrieu S, Guyonnet S, Coley N, Cantet C, Bonnefoy M, Bordes S, et al. Effect of long-term omega 3 polyunsaturated fatty acid supplementation with or without multidomain intervention on cognitive function in elderly adults with memory complaints (MAPT): a randomised, placebo-controlled trial. *The Lancet Neurology*. mai 2017;16(5):377-89.
378. Payoux P, Delrieu J, Gallini A, Adel D, Salabert AS, Hitzel A, et al. Cognitive and functional patterns of nondemented subjects with equivocal visual amyloid PET findings. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. août 2015;42(9):1459-68.
379. Grober E, Sanders AE, Hall C, Lipton RB. Free and Cued Selective Reminding Identifies Very Mild Dementia in Primary Care. *Alzheimer Dis Assoc Disord*. 2010;24(3):284-90.
380. Lilamand M, Cesari M, del Campo N, Cantet C, Soto M, Ousset P-J, et al. Brain Amyloid Deposition Is Associated With Lower Instrumental Activities of Daily Living Abilities in Older Adults. Results From the MAPT Study. *GERONA*. mars 2016;71(3):391-7.

381. Fleisher AS. Using Positron Emission Tomography and Florbetapir F 18 to Image Cortical Amyloid in Patients With Mild Cognitive Impairment or Dementia Due to Alzheimer Disease. *Arch Neurol*. 1 nov 2011;68(11):1404.
382. Bezin J, Duong M, Lassalle R, Droz C, Pariente A, Blin P, et al. The national healthcare system claims databases in France, SNIIRAM and EGB: Powerful tools for pharmacoepidemiology. *Pharmacoepidemiol Drug Saf*. août 2017;26(8):954-62.
383. Tuppin P, de Roquefeuil L, Weill A, Ricordeau P, Merlière Y. French national health insurance information system and the permanent beneficiaries sample. *Revue d'Épidémiologie et de Santé Publique*. août 2010;58(4):286-90.
384. Marshall SW. Power for tests of interaction: effect of raising the Type I error rate. *Epidemiol Perspect Innov*. 19 juin 2007;4:4.
385. Durand CP. Does Raising Type 1 Error Rate Improve Power to Detect Interactions in Linear Regression Models? A Simulation Study. Biondi-Zoccai G, éditeur. *PLoS ONE*. 16 août 2013;8(8):e71079.
386. Villemagne VL, Burnham S, Bourgeat P, Brown B, Ellis KA, Salvado O, et al. Amyloid β deposition, neurodegeneration, and cognitive decline in sporadic Alzheimer's disease: a prospective cohort study. *The Lancet Neurology*. avr 2013;12(4):357-67.
387. Rowe CC, Ellis KA, Rimajova M, Bourgeat P, Pike KE, Jones G, et al. Amyloid imaging results from the Australian Imaging, Biomarkers and Lifestyle (AIBL) study of aging. *Neurobiology of Aging*. août 2010;31(8):1275-83.
388. Arenaza-Urquijo EM, Bejanin A, Gonneaud J, Wirth M, La Joie R, Mutlu J, et al. Association between educational attainment and amyloid deposition across the spectrum from normal cognition to dementia: neuroimaging evidence for protection and compensation. *Neurobiology of Aging*. 1 nov 2017;59:72-9.
389. Tzeng N-S, Chung C-H, Lin F-H, Chiang C-P, Yeh C-B, Huang S-Y, et al. Anti-herpetic Medications and Reduced Risk of Dementia in Patients with Herpes Simplex Virus Infections—a Nationwide, Population-Based Cohort Study in Taiwan. *Neurotherapeutics*. avr 2018;15(2):417-29.
390. Chen VC-H, Wu S-I, Huang K-Y, Yang Y-H, Kuo T-Y, Liang H-Y, et al. Herpes Zoster and Dementia: A Nationwide Population-Based Cohort Study. *J Clin Psychiatry*. févr 2018;79(1).
391. Yaghoubi S, Barrio JR, Dahlbom M, Iyer M, Namavari M, Satyamurthy N, et al. Human pharmacokinetic and dosimetry studies of [18F] FHBG: a reporter probe for imaging herpes simplex virus type-1 thymidine kinase reporter gene expression. *Journal of Nuclear Medicine*. 2001;42(8):1225-34.
392. Yaghoubi SS, Couto MA, Chen C-C, Polavaram L, Cui G, Sen L, et al. Preclinical safety evaluation of 18F-FHBG: a PET reporter probe for imaging herpes simplex virus type 1 thymidine kinase (HSV1-tk) or mutant HSV1-sr39tk's expression. *Journal of Nuclear Medicine*. 2006;47(4):706-15.

393. Yaghoubi SS, Jensen MC, Satyamurthy N, Budhiraja S, Paik D, Czernin J, et al. Noninvasive detection of therapeutic cytolytic T cells with ^{18}F -FHBG PET in a patient with glioma. *Nature Clinical Practice Oncology*. janv 2009;6(1):53-8.
394. Bellingham SA, Guo B, Coleman B, Hill AF. Exosomes: Vehicles for the Transfer of Toxic Proteins Associated with Neurodegenerative Diseases? *Front Physiol*. 2012;3.
395. Kapogiannis D, Mustapic M, Shardell MD, Berkowitz ST, Diehl TC, Spangler RD, et al. Association of Extracellular Vesicle Biomarkers With Alzheimer Disease in the Baltimore Longitudinal Study of Aging. *JAMA Neurology*. 2019;12.
396. Xu GJ, Kula T, Xu Q, Li MZ, Vernon SD, Ndung'u T, et al. Comprehensive serological profiling of human populations using a synthetic human virome. *Science*. 5 juin 2015;348(6239):aaa0698-aaa0698.
397. Barbut D, E S, M Z. Gastrointestinal Immunity and Alpha-Synuclein. *Journal of Parkinson's disease*. 2019;9(s2).
398. Burré J, Sharma M, Südhof TC. Cell Biology and Pathophysiology of α -Synuclein. *Cold Spring Harb Perspect Med*. mars 2018;8(3).
399. Surguchov A. Intracellular Dynamics of Synucleins: "Here, There and Everywhere". *International Review of Cell and Molecular Biology*. 2015;69.
400. Bantle CM, Phillips AT, Smeyne RJ, Rocha SM, Olson KE, Tjalkens RB. Infection with mosquito-borne alphavirus induces selective loss of dopaminergic neurons, neuroinflammation and widespread protein aggregation. *NPJ Parkinsons Dis*. 2019;5:20.
401. Beatman EL, Massey A, Shives KD, Burrack KS, Chamanian M, Morrison TE, et al. Alpha-Synuclein Expression Restricts RNA Viral Infections in the Brain. *J Virol*. 30 déc 2015;90(6):2767-82.
402. Chen SG, Stribinskis V, Rane MJ, Demuth DR, Gozal E, Roberts AM, et al. Exposure to the Functional Bacterial Amyloid Protein Curli Enhances Alpha-Synuclein Aggregation in Aged Fischer 344 Rats and *Caenorhabditis elegans*. *Sci Rep*. 6 oct 2016;6.
403. Jang H, Boltz D, Sturm-Ramirez K, Shepherd KR, Jiao Y, Webster R, et al. Highly pathogenic H5N1 influenza virus can enter the central nervous system and induce neuroinflammation and neurodegeneration. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 18 août 2009;106(33):14063-8.
404. Stolzenberg E, Berry D, Yang D, Lee EY, Kroemer A, Kaufman S, et al. A Role for Neuronal Alpha-Synuclein in Gastrointestinal Immunity. *J Innate Immun*. 2017;9(5):456-63.
405. Park S-C, Moon JC, Shin SY, Son H, Jung YJ, Kim N-H, et al. Functional characterization of alpha-synuclein protein with antimicrobial activity. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. sept 2016;478(2):924-8.
406. Tomlinson JJ, Shutinoski B, Dong L, Meng F, Elleithy D, Lengacher NA, et al. Holocranohistochemistry enables the visualization of α -synuclein expression in the murine olfactory system and discovery of its systemic anti-microbial effects. *J Neural Transm (Vienna)*. 2017;124(6):721-38.

407. Allen Reish HE, Standaert DG. Role of alpha-synuclein in inducing innate and adaptive immunity in Parkinson disease. *J Parkinsons Dis.* 2015;5(1):1-19.
408. Shameli A, Xiao W, Zheng Y, Shyu S, Sumodi J, Meyerson HJ, et al. A critical role for alpha-synuclein in development and function of T lymphocytes. *Immunobiology.* févr 2016;221(2):333-40.
409. Sulzer D, Alcalay RN, Garretti F, Cote L, Kanter E, Agin-Liebes J, et al. T cells from patients with Parkinson's disease recognize α -synuclein peptides. *Nature.* 29 juin 2017;546(7660):656-61.
410. Wang S, Chu C-H, Stewart T, Gingham C, Wang Y, Nie H, et al. α -Synuclein, a chemoattractant, directs microglial migration via H₂O₂-dependent Lyn phosphorylation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 14 avr 2015;112(15):E1926-1935.
411. Lathe R, Darlix J-L. Prion Protein PRNP: A New Player in Innate Immunity? The A β Connection. *Journal of Alzheimer's Disease Reports.* 16 déc 2017;1(1):263-75.
412. Bousiges O, Philippi N, Lavaux T, Perret-Liaudet A, Lachmann I, Schaeffer-Agalède C, et al. Differential diagnostic value of total alpha-synuclein assay in the cerebrospinal fluid between Alzheimer's disease and dementia with Lewy bodies from the prodromal stage. *Alzheimer's Research & Therapy.* 29 sept 2020;12(1):120.
413. Bernstein DI, Cardin RD, Smith GA, Pickard GE, Sollars PJ, Dixon DA, et al. The R2 non-neuroinvasive HSV-1 vaccine affords protection from genital HSV-2 infections in a guinea pig model. *npj Vaccines.* 6 nov 2020;5(1):1-8.
414. Belshe RB, Leone PA, Bernstein DI, Wald A, Levin MJ, Stapleton JT, et al. Efficacy Results of a Trial of a Herpes Simplex Vaccine. *New England Journal of Medicine.* 5 janv 2012;366(1):34-43.
415. Lin W-R, Jennings R, Smith TL, Wozniak MA, Itzhaki RF. Vaccination prevents latent HSV1 infection of mouse brain. *Neurobiology of Aging.* 2001;5.
416. Deatly AM. Vaccines to protect against HSV diseases. *Neurobiology of Aging.* sept 2001;22(5):715-6.
417. Friedman JE, Zabriskie JB, Plank C, Ablashi D, Whitman J, Shahan B, et al. A randomized clinical trial of valacyclovir in multiple sclerosis. *Mult Scler.* juin 2005;11(3):286-95.
418. Bech E, Lycke J, Gadeberg P, Hansen HJ, Malmstrom C, Andersen O, et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled MRI study of anti-herpes virus therapy in MS. *Neurology.* 8 janv 2002;58(1):31-6.
419. Asahi T, Tsutsui M, Wakasugi M, Tange D, Takahashi C, Tokui K, et al. Valacyclovir neurotoxicity: clinical experience and review of the literature. *European Journal of Neurology.* 2009;16(4):457-60.
420. Tying SK, Baker D, Snowden W. Valacyclovir for Herpes Simplex Virus Infection: Long-Term Safety and Sustained Efficacy after 20 Years' Experience with Acyclovir. *The Journal of Infectious Diseases.* 15 oct 2002;186(Supplement_1):S40-6.

421. Lycke J, Malmeström C, Ståhle L. Acyclovir Levels in Serum and Cerebrospinal Fluid after Oral Administration of Valacyclovir. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 1 août 2003;47(8):2438-41.
422. Wozniak MA, Frost AL, Itzhaki RF. The helicase-primase inhibitor BAY 57-1293 reduces the Alzheimer's disease-related molecules induced by herpes simplex virus type 1. *Antiviral Res.* sept 2013;99(3):401-4.
423. Itzhaki RF, Wozniak MA. Could antivirals be used to treat Alzheimer's disease? *Future Microbiol.* mars 2012;7(3):307-9.
424. Devanand DP, Andrews H, Kreisl WC, Razlighi Q, Gershon A, Stern Y, et al. Antiviral therapy: Valacyclovir Treatment of Alzheimer's Disease (VALAD) Trial: protocol for a randomised, double-blind, placebo-controlled, treatment trial. *BMJ Open*. 6 févr 2020;10(2).
425. Prasad KM, Eack SM, Keshavan MS, Yolken RH, Iyengar S, Nimgaonkar VL. Antiherpes virus-specific treatment and cognition in schizophrenia: a test-of-concept randomized double-blind placebo-controlled trial. *Schizophr Bull.* juill 2013;39(4):857-66.
426. Fulop T, Munawara U, Larbi A, Desroches M, Rodrigues S, Michele C, et al. Targeting Infectious Agents as a Therapeutic Strategy in Alzheimer's Disease. *CNS Drugs*. 26 mai 2020;34.
427. Zhang C, Wang Y, Wang D, Zhang J, Zhang F. NSAID Exposure and Risk of Alzheimer's Disease: An Updated Meta-Analysis From Cohort Studies. *Frontiers in Aging Neuroscience*. 28 mars 2018;10.
428. Jaturapatporn D, Isaac MGEKN, McCleery J, Tabet N. Aspirin, steroidal and non-steroidal anti-inflammatory drugs for the treatment of Alzheimer's disease. *Cochrane Dementia and Cognitive Improvement Group, éditeur. Cochrane Database of Systematic Reviews*. 15 févr 2012;
429. Miguel-Álvarez M, Santos-Lozano A, Sanchis-Gomar F, Fiuza-Luces C, Pareja-Galeano H, Garatachea N, et al. Non-steroidal anti-inflammatory drugs as a treatment for Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis of treatment effect. *Drugs Aging*. févr 2015;32(2):139-47.
430. Wozniak MA, Itzhaki RF. Antiviral agents in Alzheimer's disease: hope for the future? *Therapeutic Advances in Neurological Disorders*. mai 2010;3(3):141-52.
431. Wozniak MA, Itzhaki RF. Intravenous immunoglobulin reduces beta amyloid and abnormal tau formation caused by herpes simplex virus type 1. *Journal of Neuroimmunology*. avr 2013;257(1-2):7-12.
432. Wozniak M, Bell T, Dénes Á, Falshaw R, Itzhaki R. Anti-HSV1 activity of brown algal polysaccharides and possible relevance to the treatment of Alzheimer's disease. *Int J Biol Macromol.* mars 2015;74:530-40.

Annexes

Annexe 1 : Mini-Mental State Examination

- 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 ?

L'examineur doit prononcer les mots suivants au rythme d'un par seconde. En cas de difficultés, recommencer jusqu'à 5 fois

Répétez les mots suivants : citron, clé, ballon

- 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

Score total sur 30 : /_/_/_/

Annexe 2 : Echelles ADL – IADL

Echelle ADL

1. Hygiène Corporelle

Autonomie 1

Aide Partielle 0.5

Dépendant 0

2. Habillage

Autonomie pour le choix des vêtements et de l'habillage 1

Autonomie pour le choix des vêtements et de l'habillage, mais besoin d'aide pour se chausser 0.5

Dépendant 0

3. Toilettes

Autonomie pour aller aux toilettes, se déshabiller et se rhabiller ensuite 1

Doit être accompagné ou a besoin d'aide pour s'habiller ou se déshabiller 0.5

Ne peut aller aux toilettes seul 0

4. Locomotion

Autonomie 1

A besoin d'aide 0.5

Grabataire 0

5. Continence

Continent 1

Incontinence occasionnelle 0.5

Incontinent 0

6. Repas

Mange seul 1

Aide pour couper la viande, peler les fruits 0.5

Dépendant 0

Echelle IADL

1. Aptitude à utiliser le téléphone

Se sert normalement du téléphone 1

Compose quelques numéros très connus 2

Répond au téléphone mais ne l'utilise pas spontanément 3

N'utilise pas du tout le téléphone spontanément 4

Incapable d'utiliser le téléphone 5

2. Courses

Fait les courses 1

Fait quelques courses normalement (nombre limité d'achats, trois au moins) 2

Doit être accompagné(e) pour faire ses courses 3

Complètement incapable de faire ses courses 4

3. Préparation des aliments

Non applicable, n'a jamais préparé de repas 0

Prévoit, prépare et sert normalement les repas 1

Prépare normalement les repas si les ingrédients lui sont fournis 2

Réchauffe ou sert des repas qui sont préparés, ou prépare de façon inadéquate les repas 3
Il est nécessaire de lui préparer les repas et de les lui servir 4

4. Entretien Ménager

Non applicable, n'a jamais eu d'activités ménagères 0
Entretient sa maison seul(e) ou avec une aide occasionnelle 1
Effectue quelques tâches quotidiennes légères telles que faire les lits, laver la vaisselle 2
Effectue quelques tâches quotidiennes, mais ne peut maintenir un état de propreté normal 3
A besoin d'aide pour tous les travaux d'entretien ménager 4
Est incapable de participer à quelque tâche ménagère que ce soit 5

5. Blanchisserie

Non applicable, n'a jamais effectué de blanchisserie 0
Effectue totalement sa blanchisserie personnelle 1
Lave des petits articles (chaussettes, bas) 2
Toute la blanchisserie doit être faite par d'autres

6. Moyens de transport

Utilise les moyens de transports de façon indépendante ou conduit sa propre voiture 1
Organise ses déplacements en taxi ou n'utilise aucun moyen de transport public 2
Utilise les transports publics avec l'aide de quelqu'un 3
Déplacement limité en taxi ou en voiture avec l'aide de quelqu'un 4

7. Responsabilité à l'égard de son traitement

Est responsable de la prise de ses médicaments (doses et rythmes corrects) 1
Est responsable de la prise de ses médicaments si les doses ont été préparées à l'avance 2
Est incapable de prendre seul ses médicaments même si ceux-ci ont été préparés à l'avance 3

8. Aptitude à manipuler l'argent

Non applicable, n'a jamais manipulé d'argent 0
Gère ses finances de façon autonome 1
Se débrouille pour les achats quotidiens, mais a besoin d'aide pour les opérations à la banque et les achats importants 2
Incapable de manipuler l'argent 3

Annexe 3 : Echelle CDR

MÉMOIRE

0 = Normal – Aucun trouble de la mémoire ou légers oublis non significatifs

0.5 = Déficit très léger – Oublis discrets mais significatifs et fréquents ; souvenir partiel des événements ; « oubli bénin »

1 = Déficit léger – Perte de mémoire modérée ; plus marquée pour les événements récents ; le déficit retentit sur les activités de la vie quotidienne

2 = Déficit modéré – Perte de mémoire sévère ; seul le matériel sur appris est retenu ; tout nouveau matériel est rapidement oublié

3 = Déficit sévère – Perte de mémoire sévère ; seuls persistent des fragments de souvenirs

ORIENTATION

0 = Normal – Parfaitement orienté

0.5 = Déficit très léger – Bien orienté en dehors de légères difficultés pour les relations temporelles

1 = Déficit léger – Difficultés modérées pour les relations temporelles ; orienté dans l'espace lors de l'examen ; possibilité de désorientation spatiale par ailleurs

2 = Déficit modéré – Difficulté sévère pour les relations temporelles ; habituellement désorienté dans le temps ; souvent désorienté dans l'espace

3 = Déficit sévère – Seule l'orientation interpersonnelle persiste

JUGEMENT ET RÉOLUTION DES PROBLÈMES

0 = Normal – Résout correctement les problèmes de la vie quotidienne, les questions commerciales ou financières ; le jugement est correct par rapport au niveau antérieur

0.5 = Déficit très léger – Altération légère de la capacité à résoudre les problèmes, à établir des similitudes ou des différences

1 = Déficit léger – Difficulté modérée dans la résolution de problèmes, l'établissement de similitudes et différences ; le jugement social est habituellement préservé

2 = Déficit modéré – Difficulté sévère dans la résolution de problèmes, l'établissement de similitudes et différences ; le jugement social est habituellement altéré

3 = Déficit sévère – Incapable d'exercer un jugement ou de résoudre des problèmes

ACTIVITÉS HORS DU DOMICILE

0 = Normal – Fonctionnement autonome, au niveau habituel, au travail, lors des courses, dans les activités bénévoles ou les relations sociales

0.5 = Déficit très léger – Altération légère de ces activités

1 = Déficit léger – Incapable de fonctionner de manière autonome dans ces activités bien que certaines d'entre elles soient encore pratiquées ; semble normal pour un observateur non averti

2 = Déficit modéré – Incapable d'un fonctionnement indépendant hors du domicile. Semble suffisamment en bonne santé pour être accompagné dans des activités hors du domicile

3 = Déficit sévère – Incapable d'un fonctionnement indépendant hors du domicile. Paraît trop malade pour être accompagné dans des activités hors du domicile familial

ACTIVITÉS DOMESTIQUES ET LOISIRS

0 = Normal – La vie domestique, les loisirs, les centres d'intérêt intellectuels sont bien préservés

0.5 = Déficit très léger – La vie domestique, les loisirs, les centres d'intérêt intellectuels sont légèrement altérés

1 = Déficit léger – Difficultés modérées mais réelles pour les activités domestiques ; les activités les plus difficiles sont abandonnées ; les loisirs et les centres d'intérêt les plus complexes sont abandonnés

2 = Déficit modéré – Les tâches ménagères simples sont seules préservées ; centres d'intérêt réduits et peu pratiqués

3 = Déficit sévère – Aucune activité significative au domicile

SOINS PERSONNELS

0 = Normal – Indépendance totale pour les soins personnels

1 = Déficit léger – Doit être stimulé

2 = Déficit modéré – Nécessite une assistance pour l'habillement, l'hygiène, le soin des effets personnels

3 = Déficit sévère – Nécessite une aide importante pour les soins personnels ; incontinence fréquente